



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOĞAL KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN VE
TANIMLANAN MAYALARIN PROBİYOTİK
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ**

SERMET AYMAN

DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2025

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞAL KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN VE
TANIMLANAN MAYALARIN PROBİYOTİK
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ

SERMET AYMAN

DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2025

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sermet AYMAN



Bu çalışma KSÜ Bilimsel Araştırma Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir. BAP Proje No: 2020/6-15D

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

DOĞAL KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN VE TANIMLANAN MAYALARIN PROBİYOTİK POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ

(DOKTORA TEZİ)

SERMET AYMAN

ÖZET

Bu tez çalışmasında farklı izolasyon kaynaklarından izole edilmiş olan maya kültürlerinin probiyotik potansiyeli araştırılmış ve yürütülen testler sonucunda denemeye alınan suşlar arasında probiyotik özellikler yönünden öne çıkan izolatlar seçilerek tanımlanmıştır. Çeşitli fermente gıdalardan izole edilen maya suşları öncelikle vücut sıcaklığı (37 °C) ve düşük pH (2,5) koşullarında gelişim durumlarına göre incelenmiş ve sonrasında sindirim yolu dayanımı, agregasyon, hidrofobisite, enzim aktivitesi, antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite yönünden incelenmiştir. İzolasyon aşamasında elde edilen 484 adet maya izolatından 50 adet suş 37 °C sıcaklıkta ve pH 2,5 ortamında iyi gelişim ($OD_{620} > 1,000$) göstermiştir. Söz konusu 50 suş sonraki denemeler için seçilmiş ve izolatlar sindirim yolu dayanımı denemelerinde %50-%101 arası canlılık, %74-%95 otoagregasyon kapasitesi, %1-%66 hidrofobisite, %15-%31 antioksidan aktivite göstermişlerdir. Suşların tümünde lipolitik aktivite gözlenirken proteolitik, hemolitik aktivite tespit edilmemiştir. Seçili patojenlere karşı izolatlar antimikrobiyal aktivite göstermemiş ancak izolat hücrelerinin patojenleri bağlayabildiği ve ürettikleri metabolitlerle patojenleri baskılayabildikleri belirlenmiştir. Denemeler neticesinde araştırılan özellikler yönünden öne çıkan suşlar seçilerek tanımlanmıştır. Sonuç olarak *Debaryomyces hansenii* ZE20, *Meyerozyma guilliermondii* Ü17, *Kluyveromyces marxianus* YO45 suşlarının probiyotik potansiyeline sahip olduğu bazı özellikler bakımından kontrol olarak kullanılan *S. boulardii*'den daha üstün oldukları belirlenmiştir. Söz konusu suşların gıda üretiminde multifonksiyonel kültür olarak kullanım potansiyeli taşıdığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, maya, tanımlama, fermente gıda

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Ocak /2025

Danışman: Prof. Dr. Yekta GEZGİNÇ
Sayfa sayısı: 93

DETERMINATION OF PROBIOTIC POTENTIAL OF YEASTS ISOLATED FROM NATURAL SOURCES

(Ph.D. THESIS)

SERMET AYMAN

ABSTRACT

In this thesis study, the probiotic potential of yeast cultures isolated from different isolation sources was investigated and as a result of the tests carried out, the promising isolates in terms of probiotic properties among the strains were selected and identified. Yeast strains isolated from various fermented foods were first examined according to their growth rate under body temperature (37 °C) and low pH (2.5) conditions and then examined in terms of digestive tract resistance, aggregation, hydrophobicity, enzyme activity, antioxidant activity and antimicrobial activity. 50 strains out of 484 yeast isolates obtained during the isolation phase showed good growth ($OD_{620} > 1.000$) at 37 °C and pH 2.5. These 50 strains were selected for subsequent trials and the isolates showed 50%-101% viability in simulated digestive tract conditions, 74%-95% autoaggregation capacity, 1%-66% hydrophobicity and 15%-31% antioxidant activity. Lipolytic activity was observed in all strains, but no proteolytic or hemolytic activity was detected. Isolates did not show antimicrobial activity against selected pathogens, but it was determined that isolate cells could bind pathogens and suppress pathogens with the metabolites they produced. As a result of the experiments, promising strains in terms of the investigated properties were selected and identified. As a result, it was determined that *Debaryomyces hansenii* ZE20, *Meyerozyma guilliermondii* Ü17, *Kluyveromyces marxianus* YO45 strains have probiotic potential and are superior to *Saccharomyces boulardii* used as control in terms of some properties. It is thought that these strains have the potential to be used as multifunctional cultures in food production.

Keywords: Probiotic, yeast, identification, fermented food

KahramanmaraşSütcüİmamUniversity
Institute in Science
Department of Food Engineering, January / 2025

Supervisor: Prof. Dr. Yekta GEZGİNÇ
Pagenumber: 93

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında değerli bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, çalışma boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Yekta GEZGİNÇ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında verdikleri destek, sağladıkları imkan ve yardımlardan dolayı sayın hocalarım ve çalışma arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında bana destek olan, bu günlere gelmemde büyük emekleri olan çok değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sermet AYMAN



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
EKLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Mayalar	1
1.2. Probiyotikler	2
1.3. Probiyotiklerin Sahip Olması Gereken Özellikler	3
1.4. Probiyotiklerin Konakçı ile Etkileşimi	4
1.5. Probiyotik Mikroorganizma Türleri	6
1.6. Çalışmanın Amacı	8
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
3. MATERYAL VE METOT	24
3.1. Materyal.....	24
3.2. Metot.....	24
3.2.1. Mayaların izolasyonu	24
3.2.2. Farklı sıcaklıklarda gelişme.....	25
3.2.3. Farklı pH değerlerinde gelişme	25
3.2.4. Mide koşullarına dayanım	25
3.2.5. Safra tuzları ve pankreas enzimlerine dayanım	26
3.2.6. Otoagregasyon yeteneği	26
3.2.7. Hidrofobisite.....	27
3.2.8. Proteolitik ve lipolitik aktivite.....	27
3.2.9. Antioksidan aktivite.....	27
3.2.10. Hemolitik aktivite	28
3.2.11. Antimikrobiyel aktivite, koagregasyon, hücresiz supernatant denemeleri..	28
3.2.12. Mayaların tanımlanması	29
3.2.13. İstatistiksel analiz	30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	31
4.1. Mayaların İzolasyonu	31
4.2. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme	32
4.3. Farklı pH Değerlerinde Gelişme.....	36
4.4. Mide Koşullarına Dayanım.....	39
4.5. Safra Tuzları ve Pankreas Enzimlerine Dayanım	41
4.6. Otoagregasyon Yeteneği.....	45
4.7. Hidrofobisite	47
4.8. Proteolitik ve Lipolitik Aktivite.....	49
4.9. Antioksidan Aktivite.....	52
4.10. Hemolitik Aktivite	54

4.11. Antimikrobiyal Aktivite, Koagregasyon, Hücresiz Supernatant Denemeleri.....	55
4.12. Mayaların Tanımlanması	61
4.12.1. MALDI-TOF MS	61
4.12.2. Moleküler tanımlama.....	61
5. SONUÇLAR.....	67
KAYNAKÇA	70
EKLER	78
ÖZGEÇMİŞ.....	93



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. 37 °C sıcaklıkta daha iyi gelişim gösteren izolatlar	32
Tablo 4.2. İzolatların proteolitik ve lipolitik aktivite testi sonuçları	51
Tablo 4.3. İzolatların seçili patojenler ile gösterdikleri koagregasyon durumları.....	58
Tablo 4.4. İzolat CFS' lerinin seçili patojenleri baskılama durumları	60
Tablo 4.5. MALDI-TOF sistemi ile elde edilen tanımlama sonuçları.....	61
Tablo 4.6 İzolatların D1/D2 bölgeleri nükleotid dizilerinin NCBI/GenBank veri tabanında kayıtlı referanslarla benzerliklerine göre tanımlanma sonuçları	63



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. İzolatların koloni şekilleri ve mikroskop görüntüleri, (a) Z26, (b) P5, (c) Z26, (d) P5.....	32
Şekil 4.2. Üzüm izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklardaki gelişim durumları.....	34
Şekil 4.3. Yoğurt izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklardaki gelişim durumları	35
Şekil 4.4. İzolatların pH 6,5, pH 8,0 ve pH 2,5 değerlerine sahip besiyerlerinde gelişim durumları	38
Şekil 4.5. İzolatların pH 6,5, pH 8,0 ve pH 2,5 değerlerine sahip besiyerlerinde gelişim durumları	38
Şekil 4.6. İzolatların mide sıvısı denemelerinde gösterdikleri % canlılık oranları.....	40
Şekil 4.7. İzolatların safra sıvısı ve pankreatin denemelerinde gösterdikleri % canlılık oranları.....	42
Şekil 4.8. İzolatların genel olarak mide, safra sıvısı ve pankreatin denemelerinde gösterdikleri % canlılık oranları	44
Şekil 4.9. İzolatların 2, 4 ve 24 saat sonunda gösterdikleri % otoagregasyon oranları	46
Şekil 4.10. İzolatların ksilen ile muamele sonrasında gösterdikleri % hidrofobisite oranları	48
Şekil 4.11. Ü17 ve YO4 izolatlarının lipolitik aktivite testinde oluşturdıkları şeffaf zonlar	51
Şekil 4.12. İzolatların DPPH radikalini % indirgeme değerleri	53
Şekil 4.13. Hemolitik aktivite testi sonuçları, a) <i>S. aureus</i> (β-hemoliz) b) P34, Ü15, Ü17, YO25 (γ-hemoliz).....	54
Şekil 4.14. Koagregasyon denemesi görseli. Tüpler; (a)P7, (b)P7+ <i>E.coli</i> , (c) <i>E.coli</i> , (d)Ü17, (e)Ü17+ <i>E.coli</i> , (f) <i>E.coli</i>	56
Şekil 4.15. Koagregasyon denemesi mikroskop görüntüleri. (a)P17+ <i>E.coli</i> , (b) <i>Saccharomyces boulardii</i> + <i>S. aureus</i>	56
Şekil 4.16. İzolat CFS' lerinin patojenleri baskılaması sonucu oluşan şeffaf zonlar. (a) <i>S. boulardii</i> - <i>B. cereus</i> , (b) YO33- <i>E. coli</i>	59
Şekil 4.17. İzolatların NL1-NL4 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüleri.....	62

EKLER DİZİNİ

Ek 1. Gilaburu izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları	78
Ek 2. Üzüm izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları.....	78
Ek 3. Zeytin izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları	79
Ek 4. Zeytin (karasu) izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları	79
Ek 5. Kefir izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları	80
Ek 6. Kefir izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları	80
Ek 7. Sucuk izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları.....	81
Ek 8. Sirke izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları	81
Ek 9. Besiyeri/bulaşı izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları.....	82
Ek 10. Yoğurt izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları	82
Ek 11. Peynir izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları	83
Ek 12. 37 °C sıcaklıkta iyi gelişim gösteren (OD > 1,000) izolatlar	83
Ek 13. 30 °C ve 37 °C sıcaklıklardaki gelişim durumları istatistiksel olarak farklı olan izolatlar	84
Ek 14. İzolatların farklı pH değerlerine sahip besiyerlerinde gelişim durumları	85
Ek 15. pH 2,5 ortamında iyi gelişim gösteren izolatlar	87
Ek 16. İzolatların yapay mide sıvısında % canlı kalma oranları	87
Ek 17. İzolatların yapay safra sıvısında % canlı kalma oranları	88
Ek 18. İzolatların mide ve safra sıvısı denemelerinde gösterdikleri genel % canlılık oranları	88
Ek 19. İzolatların % agregasyon oranları	89
Ek 20. İzolatların % hidrofobisite oranları	89
Ek 21. İzolatların antioksidan aktivite değerleri (%).....	90
Ek 22. İzolatların CFS'lerinin patojenleri baskılama seviyeleri (mm).....	90
Ek 23. İzolatların D1/D2 bölgesi nükleotid dizileri	91

1. GİRİŞ

1.1. Mayalar

Mantarlar aleminin Ascomycota ve Basidiomycota şubelerine ait, büyük ve heterojen bir ökaryotik mikroorganizma grubunu oluşturan, doğada geniş yayılım alanına sahip olan ve çoğu gıdanın yapısında doğal olarak bulunabilen mayalar gıdaların hem üretilmelerinde hem de bozulmalarında önemli role sahip mikroorganizmalardır (Yalçın ve ark., 2010). Mayalar, Ascomycetes ya da Basidiomycetes, genellikle vejetatif üremenin birincil yolu olarak tomurcuklanmayı kullanan, seksüel durumda sporlar için ayrı sporocarp oluşturmeyen, hücreleri uzunluk olarak 10-30 µm, genişlik olarak 2-6 µm boyutlarında, oval, yuvarlak, silindir şekilli, aerobik ve anaerobik enerji üretim yollarına sahip, kemotrof, tek hücreli mantarlar olarak karakterize edilirler (Kurtzman ve ark., 2011; Aran, 2014). Mayalar, doğada geniş dağılım gösterirler, karalar, sular, atmosfer, bazı ekstrem ortam şartlarına sahip habitatlardan izole edilmişlerdir. Ayrıca mayalar besin zincirlerinde, karbon, azot ve kükürt döngülerinde önemli rol oynarlar. Maya toplulukları, bitkiler, hayvanlar ve böceklerle ilişkili olarak bulunurlar. Bu sebeplerle mayalar doğaları gereği gıdaların yerleşik bir üyesidirler (Satyanarayana, 2009).

Mayalar tek hücreli ökaryotlar olmaları, kültüre alınmalarının kolay olması, besin ihtiyaçlarının basitliği, çok çeşitli metabolitleri üretebiliyor olmaları, genetik müdahale kolaylığı gibi sebeplerle endüstri açısından büyük önem arz ederler. Mayalardan endüstride başlıca ekmek mayası, alkollü içecekler, etanol, maya ekstraktı, pigmentler, aroma maddeleri, rekombinant proteinler, vitaminler ve çeşitli biyokimyasalların elde edilmesinde faydalanılmaktadır (Aran, 2014; Gil-rodríguez ve ark., 2015). Gıda üretiminde mayalar, ekmek ve alkollü fermente içeceklerin üretiminde, birincil fermentasyonu yürüten mikroorganizmalardır. Bunun yanında çeşitli bitkisel, süt bazlı, et bazlı fermente gıdaların (zeytin, turşu, sucuk, peynir, kefir gibi) üretiminde bakterilerin yanında fermentasyona ikincil flora olarak katılırlar, ürettikleri enzimler sayesinde kompleks molekülleri parçalayarak ve çeşitli metabolitler açığa çıkararak ürünün lezzeti, besleyici değeri, duyuşal özellikleri ve genel olarak kalitesi üzerine önemli katkı yaparlar. Gıda üretiminin yanında mayalar, ortam koşullarının uygun olması halinde, çeşitli gıdalarda gelişebilmekte ve önlem alınmazsa, toksik maddeler oluşturmaları da, gıdaları tüketilemez hale getirip önemli ekonomik kayıplara sebep olabilmektedirler (Deak, 2008; Pitt ve Hocking, 2009; Ogunremi ve ark., 2015). Mayalar gıda endüstrisi açısından ekmek, şarap, bira, kefir, sofralık zeytin,

fermente et ürünleri gibi çeşitli yiyecek ve içeceklerin üretiminde starter kültür olarak kullanılabildiklerinden dolayı önem arz ederler (Gil-rodríguez ve ark., 2015).

Starter kültür, bir ham maddeye eklenerek fermantasyonu gerçekleştiren, gıda güvenliği, raf ömrü, teknolojik ve ekonomik beklentileri karşılayan, en az bir mikroorganizma türünün saf hücrelerinden oluşan mikrobiyal preparasyon olarak tanımlanmaktadır (Champagne ve Møllgaard, 2008). Starter kültürler üretimde standartlaşmayı sağladıkları için gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır ve son zamanlarda, istenen temel dönüşümler haricinde, toksik bileşikleri indirgeme, vitamin sentezleme, probiyotik özellik gösterme gibi başka işlevleri de yerine getirebilecek, çok işlevli (multifonksiyonel) mikroorganizmaların starter kültür olarak kullanılması (örneğin *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* ile fermente edilmiş sosler, *Saccharomyces boulardii* ile üretilen bira) yeni bir trend olarak ortaya çıkmaktadır (Bevilacqua ve ark., 2012; de Paula ve ark., 2021). Multifonksiyonel mikroorganizmaların gıda üretiminde kullanımının gelecek vadetmesi ve popülerlik kazanması ile konu ile ilgili çalışmalarda artış olmuş, probiyotik özellikler gösteren mikroorganizmaların tespiti ve kullanılabilirlikleri üzerine yapılan araştırmalarla yeni suşlar tanımlanmış ve sürecin sonucu olarak probiyotik aktiviteye sahip olduğu iddia edilen canlı mikroorganizmaları içeren yeni probiyotik gıdaların geliştirilmesi ve çeşitlendirilmesinin önü açılmıştır (Romanin ve ark., 2010).

1.2. Probiyotikler

'Probiyotik', Latince/Yunanca, pro/bios'tan türetilmiş, 'yaşam için' anlamına gelen bir kelimedir. İlk olarak Lilley ve Stillwell (1965) tarafından bir mikroorganizma tarafından salgılanan (başka bir mikroorganima için) gelişim faktörlerini belirtmek için 'antibiyotik' kelimesinin tersi anlamında kullanılmıştır. Ancak bu kullanım zamanla değişikliğe uğramıştır. 1971'de Sperti, mikrobiyal büyümeyi uyarıcı doku özütlerini belirtmek için, 1974'te Parker bağırsak mikrobiyal dengesine katkıda bulunan organizmalar ve maddeleri belirtmek için kullanmıştır. Daha sonra 1989'da Fuller probiyotikleri 'konakçı hayvanın bağırsak mikrobiyal dengesini iyileştirerek onu faydalı bir şekilde etkileyen canlı bir mikrobiyal takviye' olarak yeniden tanımlamıştır (Fuller, 1992; Al-Hakeem, 2023; Yiğit, 2023). Probiyotik kelimesi günümüzde kullanılan anlamına nispeten yakın zamanda kavuşmuş olsa da Probiyotik Etki Konsepti yüz yıldan uzun bir süre önce, Metchnikoff tarafından savunulmuştur. Metchnikoff, yoğurttaki bulunan laktik asit bakterileri ile bağırsak

mikroflorasının düzenlenebileceğini, sağlığın iyileştirilebileceğini ve ayrıca yaşlılığın geciktirilebileceğini teorileştirmiştir. Bu teori zaman içinde ilgi kaybetmiş olsa da 1990'ların ortalarında tekrar gündeme gelerek ciddi araştırmaların konusu olmuştur (Mackowiak, 2013).

Probiyotiklerin güncel kullanımdaki tanımı, WHO (World Health Organization) ve FAO (Food and Agriculture Organization) tarafından, ‘‘yeterli miktarda alındığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar’’ şeklinde yapılmıştır (FAO/WHO, 2002).

Probiyotikler ticari preparatlar şeklinde veya gıdalar ile alınan, vücuda girdikten sonra intestinal sisteme yerleşen, immün sistemi regüle edebilen, patojenlere karşı baskılayıcı etki gösterebilen, ürettiği çeşitli metabolitlerle konakçının sağlığı üzerine fayda sağlayan ve bozulmuş mikrobiyal yapıyı düzenleyen mikroorganizmalardır (Yang ve ark., 2020). Ağızdan alınan probiyotik mikroorganizmalar sindirim yolu boyunca karşılaştıkları zorluklara dayanırlar ve bağırsağa ulaşarak buraya yerleşir ve yerel mikrofloranın gelişimine yardımcı olurlar. Probiyotik kültürler tüketim sonrası bağırsak florasına kısıtlı bir süre için yerleşirler, yerel flora olarak kalmazlar (Weichselbaum, 2009).

1.3. Probiyotiklerin Sahip Olması Gereken Özellikler

Bir kültürün probiyotik olarak nitelendirilebilmesi için bazı şartları sağlaması beklenmektedir. Bunlar; vücut sıcaklığında (37 °C) gelişebilme, gastrointestinal yola (GIY) dayanım, asitli mide suyu, bazik pankreas suyu, lizozim ve safra tuzlarına karşı direnç, bağırsak yüzeyine tutunabilme ve çoğalma, patojenlerin bağırsak yüzeyine tutunmasını engelleme, patojen mikroorganizmaları baskılayabilme, patojenik olmama, bağırsak mikroflorasını düzenleme, konakçı savunma sistemini düzenleme gibi kriterlerdir (Gut ve ark., 2018). Bu koşulları sağlayan mikroorganizmalar probiyotik olma potansiyeline sahiptir ve ilgili mikroorganizmaları içeren gıdaların fonksiyonel/probiyotik özellik gösterebileceğinden bahsedilebilir.

Probiyotik aday mikroorganizmaların daha önce bahsedilen şartları sağlamasının yanında ‘‘probiyotik’’ etiketiyle ticarete konu olabilmesi için güvenilirliği ve etkinliği kanıtlanmış olmalı ve bunun yanında üretilip piyasaya sunulabilmesi için bazı teknolojik özelliklere de sahip olması gerekmektedir. Bir kültürün probiyotik olarak etiketlenbilmesi için tür olarak tanımlanmış, suş tipinin belirlenmiş olması, toksisite/patojenite/antimikrobiyal duyarlılık gibi testler ile güvenli olduğunun kanıtlanmış

olması, en az bir klinik deneyde insanlarda etkinliğinin belirlenmiş olması gerekmektedir. Kültürün sahip olması gereken teknolojik özellikleri ise üretim sürecinde canlılığını koruyabilmesi, büyük miktarda biyokütleyi kolayca oluşturabilmesi, son üründe yüksek raf ömrüne sahip olması, liyofilizasyon gibi işlemlere dirençli olması, genetik kararlılık ve duyuşal özelliklerin bozulmaması olarak sıralanabilir (Staniszewski ve Kordowska-Wiater, 2021; Binda ve ark., 2020).

Probiyotik sınıflandırması mikroorganizmalar yanında bu canlıları içeren gıdalar için de kullanılmaktadır. Probiyotik olarak adlandırılan gıdalar besleyici değeri yanında barındırdığı probiyotik etkili mikroorganizmalar sayesinde sağlık açısından faydalı etkileri olduğu savunulan fonksiyonel gıdalardır. Gıdaların probiyotik özellikte olabilmesi için içerdığı mikroorganizmaların yeterli miktarda bulunması ve mikroorganizmaların canlılık ve aktivitelerini raf ömrü boyunca korumalarının sağlanması gerekmektedir. Bir gıdanın etiketinde probiyotik ibaresinin yazılabilmesi için gram veya mL’de en az 10^6 kob canlı probiyotik hücre içermesi gerekmektedir (De Vuyst, 2000; Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro, 2010; TKG. 2017; Staniszewski ve Kordowska-Wiater, 2021). Bu bağlamda özellikle geleneksel fermente gıdalar çeşitli mikroorganizma gruplarını doğal olarak içermeleri sebebiyle probiyotik mikroorganizmalar için iyi bir taşıyıcı olarak kabul edilmektedir ve sağlık üzerine olumlu etkileri ile fonksiyonel özellik gösterdiği belirtilmektedir (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro, 2010; Mitsuoka, 2014).

1.4. Probiyotiklerin Konakçı ile Etkileşimi

Probiyotikler ve probiyotik içeren gıdaların konakçıya etkileri söz konusu mikroorganizmalar ile konakçı arasındaki çeşitli etkileşimler ve bu canlıların ürettikleri metabolitler (organik asitler, kısa zincirli yağ asitleri, bakteriyosinler, karbondioksit, hidrojen peroksit, etanol, diasetil gibi) ile açıklanmaktadır. Probiyotikler sahip oldukları metabolik özellikleri ile sağlık üzerine olumlu etki yapabilir ve ayrıca patojenler üzerine baskılayıcı etkileri ile gastrointestinal problemlerin tedavisine katkı sağlayabilirler (de Oliveira Leite ve ark., 2013; Zavala ve ark., 2016; Saber ve ark., 2017; Gut ve ark., 2019).

İnsan mikrobiyomu ağırlıklı olarak bakteri türlerinden oluşmakla birlikte mikrobiyomda mantarlar, arkealar, virüsler ve protozoalar bulunmaktadır. Mikrobiyomu oluşturan türler ile konakçı arasında çeşitli etkileşimler olmakta ve bu etkileşimler faydalı ve zararlı yönde olabilmektedir. Bağırsak mikroflorası sahip olduğu fonksiyonlarla sağlığın korunması açısından önemli olmakla birlikte mikrofloranın dengesinin istenmeyen yöne

doğru bozulması çeşitli rahatsızlıkların ortaya çıkma ihtimalini artırabilmektedir. Örneğin bağırsak bakterileri genotoksik, karsinojen ve tümör oluşumuna sebep olabilecek molekülleri üretebilmekte/parçalayabilmektedir. Bağırsak mikroflorasındaki olumsuz yönlü değişimler söz konusu maddelerin sentezlenme ve etkinlik durumunu artırabilir. Dengesi bozulmuş bağırsak ortamına dışarıdan probiyotikler gibi farklı mikroorganizmaların sunulması durumunda probiyotikler mevcut bakterilerin enzimatik aktivitesini etkileyerek bu maddelerin sentezini engelleyebilir ve dengeyi tekrar sağlayabilir (Saber ve ark., 2017). Konu üzerine yapılan çalışmalar sonucunda insanlarda gastrointestinal homeostazın, dengelilik halinin sağlanmasında bakteriler yanında birden fazla mantar türünün de dahil olduğu belirlenmiştir. İnsan Mikrobiyom Projesi kapsamında yapılan araştırmalarda insan bağırsağında en fazla bulunan mantar cinslerinin *Saccharomyces*, *Malassezia* ve *Candida* olduğunu bulunmuştur. Söz konusu mantarların bağırsağın yerleşik cinsleri olması, insan ile simbiyotik bir fayda ilişkisi içerisinde olma ihtimalini ortaya çıkarmaktadır (Sen ve Mansell, 2020).

Probiyotik hücrelerin konakçı ile etkileşiminde hala aydınlatılamamış mekanizmalar olabilmekle birlikte tespit edilmiş olanlar arasında bazı mekanizmaların çok çeşitli suşlar arasında yaygın olduğu, diğerlerinin ise daha az yaygın olduğu bilinmektedir. Söz konusu yaygın mekanizmalar, patojenlerin inhibisyonu, yararlı metabolitlerin veya enzimlerin üretimi gibi etkiler iken daha az yaygın mekanizmalar ise intestinal sistemi doğrudan etkileyen bağışıklık düzenleyici mekanizmalardır. Çoğu durumda, belirli bir probiyotiğin konakçı sağlığına faydası birden fazla etki ile olabilir. Her ne kadar tek bir suş birden fazla mekanizma ile etki gösterebiliyor olsa da hiçbir probiyotiğin tüm etkilere sahip olması beklenmemektedir (Hill ve ark., 2014)

Probiyotiklerin etki şekilleri 3 grup altında toplanabilir, bunlar (Hill ve ark., 2014);

I. Yaygın etkiler (genel olarak probiyotiklerde görülen etkiler)

- Bağırsakta kolonize olma
- Organik asit üretme
- Bağırsak mikrobiyotasını düzenleme
- Patojenlerle mücadeleye girme

II. Sık görülen etkiler (türe özgü görülen etkiler)

- Vitamin sentezi
- Bağırsak epitelinin fiziksel bariyerlerinin güçlendirilmesi

- Safra tuzlarını metabolize etme
- Enzimatik aktivite
- Patojenleri doğrudan baskılama

III. Nadir görülen etkiler (suşa özgü görülen etkiler)

- Nörolojik etki
- İmmünolojik etki
- Endokrinolojik etki
- Spesifik biyoaktif moleküllerin sentezi

Probiyotiklerin konakçılara fayda sağladığı bazı genel kabul görmüş ve önem arz eden etki mekanizmaları arasında bağırsak epitelinin fiziksel bariyerlerinin güçlendirilmesi, doğal bağışıklığın artırılması, sitokin salgılanmasının düzenlenmesi ve bağışıklık sisteminin modüle edilmesine yardımcı olunması yer alır (O'Toole ve Cooney, 2008). Probiyotik mikroorganizmalar ve konakçı arasındaki etkileşimlerde bağırsak epiteli önemlidir. Bağırsak epiteli, bağırsak homeostazının korunmasında kilit role sahiptir ve sürekli olarak gastrointestinal yolda kolonileşen geniş bir mikroorganizma topluluğuna maruz kalmaktadır. Bağırsak epitelinde, spesifik mikrobiyal bileşenlerin tanınması durumunda mikrobiyal tehditleri engellemek, immün tepkiyi düzenlenmek için bir dizi genin ekspresyonu tetiklenir (Sansonetti, 2004; Romanin ve ark., 2010). Probiyotiklerin etkili olabilmeleri için bağırsak yüzeyine tutunabilmesi, bağışıklık sistemini uyarabilmesi, patojenler ile rekabete girerek onları baskılayabilmesi gereklidir. (O'Hara ve ark., 2006).

Probiyotiklerin konakçılara fayda sağladığı mekanizmalardan epitelin fiziksel bariyerinin güçlendirilmesi, probiyotiklerin bağırsak mukozasına yapışarak patojenlerin epitele tutunmasını engellemesi ile gerçekleşir. Epitele tutunma ve geçici olarak kolonileşmenin, bağışıklık sistemin modülasyonu ve hasarlı mukozanın onarılması açısından önem arz ettiği belirtilmektedir. Ayrıca probiyotikler besine ulaşma açısından patojenlerle rekabete girerek, doğrudan antimikrobiyal metabolitler üretmeseler bile patojenleri baskılayabilirler (Göçer ve ark., 2015).

1.5. Probiyotik Mikroorganizma Türleri

Probiyotikler üzerine yapılan çalışmalarda genellikle bakteriler üzerinde durulmaktadır (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Akkermansia muciniphila* vd.) (Kumar ve Salminen, 2016; Al-Hakeem, 2023). Birçok bakteri türü

probiyotik potansiyeli açısından araştırılmış ve tüketime uygun preparatları üretilerek piyasaya sürülmüştür. Mayalar ise bu alanda ikinci planda kalmaktadır. Ancak mayalar farklı gıdaların yapısında doğal olarak bulunmaları, gıdaların üretimine katılmaları ve gastrointestinal kanalda yerleşik olarak bulunmaları sebebiyle probiyotik olarak kullanım potansiyeline sahiptir. Ayrıca mayaların bakterilere göre bazı temel üstünlükleri bulunmaktadır. Bakteriler antibiyotiklere karşı direnç gösteremezken mayalar doğal olarak bu dirence sahiptirler. Dolayısıyla antibiyotik tedavisi gören insanlarda probiyotik olarak kullanılabilirler. Bunun yanında bakteriler antibiyotik direnç genlerini aktarabilme yeteneğine sahiptir ve bu durum probiyotik bakterilerin ilgili genleri patojenlere aktarması olasılığını doğurmaktadır. Mayalar ise bu anlamda güvenlidir çünkü bakterilerle genetik materyal aktarımında bulunmamaktadırlar (Czerucka ve ark., 2007; Amorim ve ark., 2018). Ancak bu gibi avantajlara rağmen mayalardan sadece *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* üzerine kapsamlı çalışmalar yapılmış ve kullanımı yaygınlaşmıştır. *Saccharomyces boulardii* yanında *Kluyveromyces marxianus fragilis* piyasada bulunmakla birlikte *Saccharomyces boulardii* kadar kapsamlı araştırılmamıştır. *Saccharomyces boulardii* çift-kör klinik çalışmalarla etkinliği kanıtlanmış tek probiyotik mayadır (Fadda ve ark., 2017; Romanin ve ark., 2010; Staniszewski ve Kordowska-Wiater, 2021). *Saccharomyces boulardii*, çeşitli gastrointestinal rahatsızlıkları önlemek veya tedavi etmek için uzun zamandır faydalanılan, patojenik olmayan bir mayadır. *Saccharomyces boulardii*, rotoviral, bakteriyel ve antibiyotikle ilişkili diyare, insan kolitinin önlenmesinde veya tedavisinde, özellikle çocuklarda akut diyarenin tedavisinde etkili bir biyoterapötik ajan olduğu belirtilmektedir (van der Aa Kühle ve ark., 2005; Buts ve De Keyser, 2006; Szajewska ve ark., 2007; Buts, 2008; Romanin ve ark., 2010; Sen ve Mansell, 2020).

Mayaların gıdalarla olan ilişkisi ve mayaların insan mikrobiyomunun bir parçası olması, geleneksel gıdalarda bulunan maya suşlarının probiyotik olarak kullanılma ihtimalini göz önüne getirmektedir. *Saccharomyces cerevisiae*, probiyotik potansiyeli açısından geniş çapta ilgi görmüş ve test edilmiş bir türdür. *Saccharomyces* yanında *Debaryomyces*, *Torulaspora*, *Trichosporon*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Brettanomyces*, *Issatchenkia*, *Wickerhamomyces*, *Yarrowia* gibi cinslere ait türlerde, gastrointestinal sistemde canlı kalma ve kolonileşme yetenekleri, patojen bakterilere baskılayıcı aktivite vb. özelliklerine göre testlere konu olmuş ve yapılan çalışmalarda söz konusu cinslere ait çeşitli türlerin bazı suşlarının probiyotik potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2010; Kourelis ve ark., 2010; Silva ve ark., 2011;

Pedersen ve ark., 2012; Ogunremi ve ark., 2015; Fadda ve ark., 2017; Suvarna ve ark., 2018; Gut ve ark., 2019; Shen ve ark., 2022; Alvarez ve ark., 2023; Li ve ark., 2023; Wang ve ark., 2024). Bununla birlikte bazı çalışmalarda farklı maya türlerinin *Saccharomyces boulardii* 'ye benzer veya daha üstün özellikler gösterebildiği belirtilmiştir (Silva ve ark., 2011; Pedersen ve ark., 2012; Fadda ve ark., 2017; Gut ve ark., 2019; Li ve ark., 2023). Bu tür çalışmalara olan ilgi son zamanlarda artış göstermektedir ve elde edilen yeni bulgular ile probiyotik olma ihtimali olan maya suşlarının sayısı giderek artmaktadır. Yeni elde edilen probiyotik aday mayaların daha ileri çalışmalar ile probiyotik etiketine sahip olması ve sonrasında gıda üretiminde kullanılması ile gıdalara yeni özellikler kazandırılabilir ve fonksiyonel gıdaların çeşitlendirilmesi sağlanabilir.

1.6. Çalışmanın Amacı

Beslenme bilincinin değişmesine bağlı olarak gıda çeşitlerine olan talep değişmektedir. Son yıllarda doğal gıdalara olan talep ve gıdalardan beklentiler de artış görülmektedir. Gıdaların sadece besin içeriği değil sağlık üzerine etkileri de tüketici tarafından dikkate alınan özellikler olarak ortaya çıkmaktadır. Bu durum, temel besin öğelerinin haricinde sağlığa olumlu etki yapan diğer bileşenleri de içeren gıdalar olan fonksiyonel gıdalara olan ilgiyi artırmaktadır. Fonksiyonel gıdalara olan talebin artması ise endüstride bu tip gıdaların üretiminde ve çeşitliliğinde artışı beraberinde getirmektedir. Bu bağlamda, çalışmanın amacı farklı kaynaklardan izole edilen ve tanımlanan mayaların probiyotik potansiyellerinin belirlenmesi ve daha ileri çalışmalarda çok fonksiyonlu starter olarak kullanılabilecek yeni kültürlerin elde edilmesidir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Saccharomyces boulardii'nin probiyotik olarak en iyi araştırılmış ve ticari olarak yaygınlaşmış en önemli maya olmasının yanında başka maya türlerinin de benzer özelliklere sahip olup olmadığının belirlenmesi yönünde çeşitli araştırmalar yapılmıştır.

Wang ve ark. (2024), fermente Kombu çayında bulunan mayaların probiyotik potansiyelini araştırdıkları çalışmada izole ettikleri *Dekkera bruxellensis* LBY1, *Schizosaccharomyces pombe* LBY5, *Brettanomyces anomalus* DOY8, *Hanseniaspora valbyensis* DOY1, *Pichia kudraivzevii* GBY1, *Saccharomyces cerevisiae* GBY2 kültürlerinin yüksek asitli ortamda (pH 2 ve pH 3'te) ve safra tuzlarının varlığında gelişebildiğini ve sindirim yolu koşullarına üst düzey dayanım gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Söz konusu mayaların ayrıca seçili patojenlere karşı (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*) antibakteriyel etki göstermediklerini, bunun yanında mayaların gösterdikleri negatif enzimatik (hemolitik, proteolitik vd.) aktivite ile tüketimlerinin güvenli olduğunu belirtmişlerdir. İncelenen mayalar arasından *Pichia kudraivzevii* GBY1 ve *Saccharomyces cerevisiae* GBY2 suşlarının ileri düzeyde hidrofobisite (%64,60–%83,87), otoagregasyon (>%98), koagregasyon (>%70, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* ile), antioksidan aktivite (>%90) özellikleri gösterdikleri ve bu iki maya suşunun sahip oldukları probiyotik potansiyeli ile fonksiyonel gıda üretiminde kullanılabileceklerini belirtmişlerdir.

Rahimi ve ark. (2024), buğday rüşeyminden elde ettikleri mayaları probiyotik ve postbiyotik özellikler yönünden incelemişlerdir. Rüşeymden kültüre alınan mayalar öncelikle hemoliz yönünden incelenmiş, hemolitik aktivite göstermeyenler seçilmiş ve probiyotik testlere (gastrointestinal yola dayanım, otoagregasyon, koagregasyon, hidrofobisite, antibakteriyel aktivite, antioksidan aktivite vd.) tabi tutularak arzu edilen özelliklere sahip izolat seçilmiştir. Çalışma kapsamında hemolitik aktivite göstermeyen izolatlar arasından sindirim yolu koşullarında yüksek canlı kalma (%95,74) özelliği gösteren bir suş seçilerek *Saccharomyces cerevisiae* olarak tanımlanmış ve sonrasında otoagregasyon (%83.54), koagregasyon (*Salmonella enterica* ile %70.71), hidrofobisite (%55.09), antibakteriyel aktivite (*Listeria monocytogenes* için %75 inhibisyon, *Staphylococcus aureus* için %72 inhibisyon, *Salmonella enterica* için %64 inhibisyon, *Escherichia coli* için %0 inhibisyon), antioksidan aktivite (%3,6) testlerine tabi tutularak probiyotik potansiyeli

araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre araştırılan maya suşunun probiyotik potansiyeli taşıdığı ve çeşitli gıdaların üretiminde kullanılabileceği belirtilmiştir.

Latif ve ark. (2023), nar suyundan izole ettikleri mayaların probiyotik kapasitesini araştırdıkları çalışmalarında, izole ettikleri mayalardan nar suyunu iyi düzeyde fermente edebilen *Saccharomyces cerevisiae* suşlarını seçerek probiyotik özelliklerini incelemişlerdir. Çalışma kapsamında elde edilen *Saccharomyces cerevisiae* A-12 suşunun *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* patojenlerine karşı iyi düzeyde antibakteriyel aktivite (sırasıyla 12,8 mm, 13,5 mm, 10,7 mm inhibisyon zonu) gösterdiğini, ayrıca maya hücrelerinin *Staphylococcus aureus* hücrelerini kendi üzerine bağlayabildiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmaya konu olan *Saccharomyces cerevisiae* A-12 suşunun, sahip olduğu antibakteriyel ve fermentatif özellikleri sayesinde fonksiyonel gıda üretiminde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Li ve ark. (2023), bitkilerden kültüre aldıkları mayaları araştırdıkları çalışmalarında *Pichia kudriavzevii* HJ2 olarak tanımladıkları izolatu probiyotik özellikleri açısından incelemişlerdir. Araştırma kapsamında yürüttükleri testlerin sonuçlarına göre yüksek asit (pH 2,0) ve safra tuzu (%3) içeren ortamda *Pichia kudriavzevii* HJ2 suşu (%83,28 ve %81,25 gelişim oranı) kontrol olarak kullanılan *S. boulardi*'ye (%12,87 ve %16,30 gelişim oranı) göre daha iyi gelişim gösterdiği, mide ve safra dayanımları açısından *Pichia kudriavzevii* HJ2'nin (%303,79 ve %125,24 canlılık oranları) *S. boulardi*'den (%39,90 ve %102,35) daha üstün olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca hidrofobisite, otoagregasyon, antioksidan aktivite bakımından *Pichia kudriavzevii* HJ2'nin (sırasıyla %12,17, %92,41, %57,07), *S. boulardi*'den (sırasıyla %9,67 %89,43, %53,35) daha iyi sonuçlar aldığını, ancak *S. aureus* ve *E. coli* ile koagregasyonda *S. boulardi*'nin gerisinde kaldığını rapor etmişlerdir. Bunun yanında *Pichia kudriavzevii* HJ2 suşunun hemolitik aktivite göstermediğini, tüketiminin güvenli olduğunu ve çalışma sonucunda elde edilen veriler ışığında söz konusu mayanın multifonksiyonel özellikli bir probiyotik aday olduğunu bildirmişlerdir.

Alvarez ve ark. (2023), şarap mayalarının probiyotik özelliklerini araştırdıkları çalışmada bağ ve şarap üretim ortamının doğal mikroflorasında bulunan mayaları izole etmişler ve şarap üretiminin doğası gereği söz konusu mayaların zorlu koşullara dayanıklı olduğu varsayımıyla izolatları probiyotik potansiyeli testleri uygulamışlardır. Çalışmada kültüre alınan *Pichia* cinsine ait türlerin, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Metschnikowia*, *Rhodotorula*, *Wickerhamomyces*, *Torulaspora*, *Saccharomyces*, *Cryptococcus* cinslerine ait

türlerden daha iyi sonuçlar verdiğini ve denenen mayaların hemolitik aktivite göstermediğini belirtmişlerdir. Hidrofobisite açısından *S. boulardii* %35 değeri alırken *Pichia kudriavzevii* ve *Wickerhamomyces anomalus* suşları %43-%80 arası değerler almış, otoagregasyon değerleri olarak izolatlar arasında 2, 4, 24. saatler için yüksek varyasyonlar tespit edilirken *Pichia* türleri %90 ve üzeri değerler alarak *S. boulardii*'ye (%98) yaklaşmışlar ve hidrofobisite ile otoagregasyon değerleri arasında korelasyon bulunmadığı belirtilmiştir. Sindirim yolu dayanımı sonuçlarına göre ise *S. boulardii* %76,78 canlılık gösterirken *Pichia* türleri %81,75- %89,66 aralığında, *W. anomalus* %80,30 canlılık göstermiştir. Çalışma sonucunda *Saccharomyces* olmayan mayaların da elde edilen deneme sonuçları göz önünde tutularak probiyotik potansiyeline sahip oldukları ve ileri çalışmalar için kullanılabilecek probiyotik adayları olduğu bildirilmiştir.

Shen ve ark. (2022), meyvelerden izole ettikleri mayaları araştırdıkları çalışmalarında *Hanseniaspora vineae* ve *Starmerella bacillaris* olarak tanımladıkları mayaların metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* patojenini baskılama yeteneğine sahip olduğunu tespit etmişler ve söz konusu mayaların probiyotik potansiyelini incelemişlerdir. Çalışmada kontrol olarak kullanılan *S. boulardii*'nin *Staphylococcus aureus*'a karşı baskılayıcı etkisi gözlenmezken, denenen mayaların hiçbirinde β -hemoliz aktivitesi tespit edilmemiştir. Çalışma kapsamında yürütülen otoagregasyon (*Hanseniaspora vineae* %82,54-%88,84, *S. boulardii* %84,44, hidrofobisite (*Starmerella bacillaris* %1-%85, *S. boulardii* %15,50), mide sıvısı (*Starmerella bacillaris* >%300, *S. boulardii* %127), safra dayanımı (*Starmerella bacillaris* >%300, *S. boulardii* %27) testlerinin sonuçlarına göre incelenen kültürler arasında *Starmerella bacillaris* CC-PT4 suşunun probiyotik özellikler açısından uygun bir probiyotik adayı olduğu belirtilmiştir.

Galli ve ark. (2022), spontan fermente süttten izole ettikleri *K. marxianus*, *Cyberlindnera jadinii*, *Pichia kudriavzevii*, *Diutina rugosa*, *Candida inconspicua*, *Magnusiomyces capitatus* türlerine ait suşların fonksiyonel özelliklerini araştırmışlar ve denenen kültürlerin safra ortamına genel olarak dayanıklı oldukları ancak pH 3 koşullarına toleransın düşük olduğu ve genel olarak *K. marxianus* suşlarının toleransının yüksek olduğu, sindirim yolu dayanımı bakımından *K. marxianus* suşlarının canlılık oranlarının yüksek olduğunu bazı suşların denemede hücre sayısının arttığını, denenen mayalar arasından probiyotik özellikler açısından *K. marxianus* suşlarının daha iyi sonuçlar verdiğini belirlemişlerdir.

Alkalbani ve ark. (2022), fermente gıdalardan elde ettikleri mayaların probiyotik özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, pH 2,5 ortamına toleransı yüksek olan ve *Pichia kudriavzevii* ve *Saccharomyces cerevisiae* olarak tanımladıkları maya izolatlarının gastrointestinal yol ve safra tuzu dayanımlarının yüksek olduğunu, suşların otoagregasyon (%50,7-%85,8) ve hidrofobisite (%4,3-%42,5) özelliklerinde varyasyonlar bulunduğunu, izolatların bağırsak hücrelerine bağlanabildiğini belirlemiş ve mayaların hücresiz supernatantlarının *L. monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *E. coli* ve *S. aureus* patojenlerine karşı baskılayıcı etki yaptığını ve bu özellikleriyle test ettikleri mayaların probiyotik potansiyeli taşıdığını bildirmişlerdir.

Göktaş ve ark. (2021), kefir örneklerinde bulunan mayaların probiyotik potansiyelini araştırdıkları çalışmalarında, *Pichia pseudocactophila*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania unispora*, *Williopsis californica*, *Saccharomyces pastorianus* olarak tanımladıkları izolatları, hücre yüzey özellikleri, sindirim yoluna dayanım, antioksidan vd. özellikler yönünden incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgulara göre, agregasyon durumunun geleneksel kefirlerden izole edilen mayalarda (%99), ticari kefirlerde (%89) bulunanlara ve kontrol olarak kullanılan *Saccharomyces boulardii* 'e (%97) göre daha iyi olduğunu, genel olarak izolatların (%1,7-%61,1) kontrolden (%7) daha hidrofobik olduğu, sindirim yoluna dayanımda genel olarak izolatların (%0-%53) kontrole (%89) göre daha dayanıksız olduğu, antioksidan aktivite açısından genel olarak geleneksel kefir izolatlarının daha üstün olduğunu bildirmişler. Çalışmada probiyotik potansiyeli incelenen mayalar arasında *K. marxianus* ve *K. unispora* suşlarının sindirim yoluna dayanımı bakımından öne çıktıkları bildirilmiştir.

Zahoor ve ark. (2021), baldan izole ettikleri maya kültürlerinin fonksiyonel özelliklerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında elde ettikleri mayaları *Saccharomyces cerevisiae* ve *Meyerozyma guilliermondii* olarak tanımlamış ve karakterize etmişlerdir. Çalışma kapsamında denenen mayaların büyük çoğunluğunun vücut sıcaklığında gelişebildiği, pH 2,5 ortamına ve safra tuzlarına dayanıklı olduğu. otoagregasyon değerlerinin (%52-%100 aralığında, *Meyerozyma guilliermondii* suşları için %52-%95 aralığında) yüksek bulunduğu ve sonuç olarak çalışma kapsamında denenen izolatların probiyotik potansiyeli taşıdığı ifade edilmiştir.

Simões ve ark. (2021), zeytinden elde edilmiş *Candida orthopsilosis*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Debaryomyces hansenii*, *Galactomyces candidayanımı*, *hidrofobisitea*, *Pichia guilliermondii*, *Saccharomyces cerevisiae* türlerini araştırdıkları

çalışmalarında *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 1746, *Pichia guilliermondii* CCMA 1753, *Candida orthopsilosis* CCMA 1748, *Candida tropicalis* CCMA 1751, *Meyerozyma caribbica* CCMA 1758, *Debaryomyces hansenii* CCMA 1761 suşlarının sindirim yolu dayanımı, hidrofobisite (%42,5–%92,2), otoagregasyon kapasitesi (%41–%91) bakımından iyi sonuçlar elde ettiğini, *S. aureus*, *Salmonella* Enteritidis, *Listeria monocytogenes* patojenlerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu, hemolitik aktivite göstermediğini, bu yönüyle söz konusu mayaların probiyotik özelliklere sahip olduğu ve fonksiyonel gıda üretiminde kullanılabileceklerini belirtmişlerdir.

Hsu ve Chou (2021), Dekkera, Hanseniaspora, Kazachstania, Kluyveromyces Kwoniella, Pichia, Saccharomycopsis, Saccharomyces, Torulaspora, Wickerhamomyces, Zygosaccharomyces cinslerine ait türleri araştırdıkları çalışmalarında türlerin genel olarak pH 3 ortamına toleransı yüksek bulunurken, safra dayanımı düşük bulunmuş, otoagregasyon kapasitesinde 2 saatlik süre için yüksek varyasyon tespit edilirken 24 saat sonunda izolatların geneli için %90 üzeri değerler elde edilmiş, hidrofobisite (%6,61–%79,4) değerleri bakımından *Kluyveromyces marxianus* suşları arası varyasyon yüksek bulunmuş, izolatların antioksidan aktivite değerleri %18,41–%70,76 aralığından tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre *Saccharomyces cerevisiae* JYC2508 ve *Kluyveromyces marxianus* JYC2528 suşlarının yeni probiyotik adayları mayalar olabileceği ileri sürülmüştür.

Di Cagno ve ark. (2020), fonksiyonel fermente kızılık suyu üretimi için probiyotik potansiyeli olan mayaları denedikleri çalışmalarında *Metschnikowia* sp., *Saccharomyces cerevisiae* DDNd10, *Pichia kudriavzevii* DCNa1, *Wickerhamomyces subpelliculosus* DFNb1, *Wickerhamomyces subpelliculosus* DFNb6, *Saccharomyces cerevisiae* AN6Y15, *Hanseniaspora uvarum* CNg11 suşlarının probiyotik ve teknolojik özelliklerini araştırmışlardır. Çalışma bulgularına göre *Saccharomyces cerevisiae* DDNd10, *P. kudriavzevii* DCNa1 ve *W. subpelliculosus* DFNb6 suşlarının vücut sıcaklığında iyi gelişim gösterdiği, %87–%91 aralığında oto-agregasyon değerleri ile suşlar arasında anlamlı fark bulunmadığı ve *W. subpelliculosus* DFNb6 suşunun 4 saatlik sürede %76' ya ulaştığı, hidrofobisite değerlerinin %43–%87 aralığında olduğu ve en hidrofobik kültürün *P. kudriavzevii* DCNa1 olarak tespit edildiği, antioksidan aktivite açısından suşların 20–36 ppm (BHT eşdeğeri) arasından değerler aldığı, suşların gastrointestinal yol dayanımının yüksek olduğu (0,3–0,8 log kob/mL hücre ölümü), bunun yanında hiçbir suşun hemolitik aktivite göstermediği bildirilmiştir. Ayrıca teknolojik açıdan söz konusu mayalar kullanılarak üretilen kızılık suyunun kalite özelliklerinin korunduğu ve depolama sonunda mayaların

yeterli düzeyde (10^6 kob/mL) canlı kaldığı belirtilmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar bu özellikleri ile incelenen suşların fermente kızılıklık suyu üretiminde fonksiyonel starter kültür olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Merchán ve ark. (2020), geleneksel peynirlerden izole ettikleri mayaların probiyotik kapasitesini araştırdıkları çalışmalarında, test edilen tüm izolatların mide ve safra koşullarına karşı yeterli tolerans gösterdiğini, *Kluyveromyces lactis* (>%100) ve *Pichia fermentans* (>%140) suşlarının ise sindirim yolu dayanımının daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. *P. fermentans* suşlarının ayrıca daha iyi oto-agregasyon (%90,35), hidrofobisite (%89,99) ve antioksidan aktivite (59,66) gösterdiğini ve seçili patojenlere (*Salmonella choleraesuis*, *E. coli*) karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ve bu özellikler bakımından *Kluyveromyces* türlerine ait suşların önünde yer aldığını belirtmişlerdir. Çalışma elde edilen sonuçlara göre *P. fermentans*, *P. kudriavzevii*, *K. marxianus*, *D. hansenii*, *Y. lipolytica* türlerine ait suşların peynir üretiminde kullanım olanağı olan potansiyel probiyotik kültürler oldukları ifade edilmiştir.

Menezes ve ark. (2020), asit ve safra tuzu dayanımının yüksek olduğunu belirledikleri *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia membranifaciens*, *Pichia guilliermondii*, *Candida orthopsilosis*, *Pichia kluyveri*, *Hanseniaspora uvarum*, *Candida quercitrusa* türlerini inceledikleri araştırmalarında, tüm mayaların yüksek hidrofobik özellik (>%94) gösterdiği, otoagregasyon (%68-%99), koagregasyon (*E. coli* ile) ve antioksidan aktivite (%18-%61) yönünden tür içinde yüksek varyasyonlar bulunduğu, bazı suşların kontrolden (*S. boulardii*) daha iyi sonuçlar verdiği, kültürlerin hemolitik aktiviteye sahip olmadıkları, bu yönüyle test edilen mayaları probiyotik özelliklere sahip olduğu ve yeni fonksiyonel gıdaların üretiminde kullanılma potansiyeli taşıdığını bildirmişlerdir.

Gut ve ark. (2019), kefirde izole ettikleri mayaların probiyotik potansiyelini incelemişlerdir. Çalışmada kültüre alınan mayalar *Kluyveromyces lactis* ve *Saccharomyces unisporus* olarak tanımlanmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre *Saccharomyces unisporus* 'un vücut sıcaklığında gelişim göstermediği, *Kluyveromyces lactis* 'in ise yüksek derecede gelişim gösterdiği, *Kluyveromyces lactis* ve *Saccharomyces unisporus* 'un hidrofobik özellik açısından %88,75-%30 değerleriyle kontrol olarak kullanılan *Saccharomyces boulardii* 'den (%15,58) daha iyi, otoagregasyon açısından %35,48-%43,33 değerleriyle kontrol olarak kullanılan *Saccharomyces boulardii* ' ye (%42,86) benzer sonuçlar aldığı belirtilmiştir. Sindirim yolu dayanımında *Kluyveromyces lactis* ve

Saccharomyces unisporus 'un %57,54-%54,95 canlılık göstererek *Saccharomyces boulardii* 'nin (%81,28 canlılık) gerisinde kaldıkları, enzim aktivitesi yönünden denen en suşlar ve kontrolün lipolitik aktivite göstermediği, çok düşük düzeyde proteolitik aktivite gösterdikleri ve β hemolitik aktivite göstermedikleri ifade edilmiştir. Seçili patojenlere karşı (*E. coli* ve *Enterobacter aerogenes*) antimikrobiyal etki yönünden *Kluyveromyces lactis* etki göstermezken *Saccharomyces unisporus* 'un düşük antimikrobiyal aktivite gösterdiği, her iki izolatın da patojen hücrelerini bağlayabildiği ve izolatlar ile kontrolden elde edilmiş CFS'lerin patojenlere baskılayıcı etki yaratmadığı belirtilmiştir. Çalışma sonucunda *Kluyveromyces lactis* ve *Saccharomyces unisporus* türlerine ait suşların hidrofobisite, otoagregasyon, enzim üretimi, enterik bakterilere tutunma yönünden kontrol olarak kullanılan *Saccharomyces boulardii* ile kıyaslanabilir düzeyde olduğu ve incelenen mayaların probiyotik potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir.

Zullo ve Ciafardini (2019), sızma zeytinyağında bulunan *Candida adriatica*, *Candida diddensiae*, *Nakazawaea molendini-olei*, *Nakazawaea wickerhamii*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Yamadazyma terventina* türlerine ait mayaları kontrol olarak *Saccharomyces boulardii* ile kıyaslayarak hidrofobisite, agregasyon, gastrointestinal sistem koşullarına dayanım vb. yetenekleri açısından araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre izolatların hidrofobisite değerlerinin %0-%55 aralığında, agregasyon değerlerinin %8,33-%47,5 aralığında, sindirim yolu dayanımının %1,78-%75,86 aralığında olduğu, bu değerlerin *Saccharomyces boulardii* için sırasıyla %26, %43,44, %66,06 olarak belirlendiği ve sonuçların kıyaslanması neticesinde probiyotik olarak en uygun adayın *Wickerhamomyces anomalus* suşlarının olduğu bildirilmiştir.

Bonatsou ve ark. (2018), spontan fermente salamura siyah zeytinden elde ettikleri mayaları teknolojik ve probiyotik özellikleri açısından araştırmışlardır. Kültüre alınan *Candida naeodendra*, *Candida diddensiae*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Pichia manshurica*, *Pichia guilliermondii*, *Zygoascus hellenicus*, *Candida boidinii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida molendinolei*, *Cystofilobasidium bisporidii*, *Pichia kluyveri*, *Citeromyces matrinensis*, *Rhodotorula glutinis* türlerine ait maya suşlarına mide sıvısı ve safra tuzu dayanımı, hidrofobisite, otoagregasyon, kolon hücrelerine tutunma, hemolitik aktivite ve teknolojik testler (enzim aktivitesi) uygulanmıştır. Mide sıvısı testlerin izolatların genel olarak %70 üzeri, *M. pulcherrima*, *A. pullulans* *C. bisporidii*, *P. manshurica*, *P. guilliermondii*, *Z. hellenicus* ve *S. cerevisia* suşlarının %90 üzeri, safra testlerinde ise *P. kluyveri*, *C. bisporidii*, *M.*

pulcherima, *P. manshurica*, *P. guilliermondii*, *C. boidinii*, *S. cerevisiae* ve *C. molendinolei* suşlarının %90 üzeri canlılık gösterdiği belirtilmiştir. Otoagregasyon testlerinde izolatların %72-%91 arasında değerler aldığı, hidrofobisite denemelerinde ise izolatların büyük çoğunluğunun %75 üzeri değerler aldığı, *S. cerevisiae* suşunun %94,9 ile en hidrofobik maya olduğu rapor edilmiştir. Denenen suşlar arasında lipaz ve hemoliz aktivitesine rastlanmamıştır. İzolatların kolon hücrelerine düşük düzeyde (%0,02-%6,75) bağlanabildiği belirtilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre denenen mayalar arasından *Saccharomyces cerevisiae* Y34 suşunun probiyotik potansiyele sahip olduğu ve salamura siyah zeytin üretiminde multifonksiyonel starter kültür olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Suvarna ve ark. (2018), çeşitli gıdalardan izole edilmiş *Pichia barkeri* VIT-SJSN01, *Yarrowia lipolytica* VIT-ASN04, *Wickerhamomyces anomalus* VIT-ASN01 ve *Saccharomyces cerevisiae* VIT-ASN03 suşlarının probiyotik karakterini otoagregasyon, hidrofobisite, koagregasyon, gastrointestinal yol dayanımı ve hemolitik aktivite üzerinden incelemişlerdir. Otoagregasyon denemelerinde izolatların genel olarak %70 üzeri değerler aldığı, en yüksek agregasyonu %91 ile *W. anomalus* suşunun gösterdiği, *Y. lipolytica* suşunun %4 ile en düşük agregasyon gösteren suş olduğu, hidrofobisite denemelerinde ise *Y. lipolytica* suşunun %96 ile en hidrofobik izolat olduğu, *Saccharomyces cerevisiae* suşunun %22 ile en düşük hidrofobik özellik gösteren izolat olduğu belirtilmiştir. *E. coli* ve *S. aureus* patojenleri ile yürütülen koagregasyon denemelerinde ise izolatların 24 saatlik denemede genel olarak %85 ve üzeri değerler elde ettiği, 1 saatlik denemede *Y. lipolytica* 'nin *E. coli* ile %40 üzeri ve *W. anomalus* 'in *S. aureus* ile %60 üzeri koagregasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Gastrointestinal yol dayanım denemelerinde izolatların %48-%59 aralığında canlılık gösterdiği, hemoliz denemeleri sonuçlarına göre hiçbir izolatın hemolitik aktivite göstermediği belirtilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre incelenen suşların arzulanan probiyotik özelliklere sahip oldukları ifade edilmiştir.

Amorim ve ark. (2018), ananas meyvesi ve ananas suyunda bulunan mayaların probiyotik ve fonksiyonel özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında izole ettikleri *Meyerozyma caribbica* ve *Candida lusitaniae* türüne ait maya suşlarının yüksek asit, mide sıvısı, safra tuzu dayanımı, hidrofobisite, agregasyon, patojenleri baskılama özelliklerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre izolatların pH 2 ortamında %83,26-%98,37 aralığında canlılık gösterdiği, *C. lusitaniae* suşlarının *M. caribbica* suşlarından daha dayanıklı olduğu, mide sıvısında %85,2-%96,63 aralığında canlı kaldıkları suşlar arasında varyasyonlar olduğu, safra denemelerinde *C. lusitaniae* suşlarının canlılık kaybı yaşamadığı

(%100), *M. caribbica* suşlarının (%85-%96 canlılık) daha dayanıksız olduğu belirtilmiştir. İzolatların agregasyon değerlerinin %96 ve üzeri olduğu, hidrofobisite değerlerinin ise %99 ve üzerine çıkabildiği tespit edilmiştir. Antimikrobiyal etki yönünden test edilen mayaların *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa* patojenlerine karşı baskılayıcı etkisi gözlemlenmemiş, sonuç olarak test edilen izolatlar arasından *M. caribbica* suşlarının probiyotik özellikler bakımından kontrol olarak kullanılan *S. boulardii* ile benzer özelliklere sahip olan probiyotik adayları olduğu ifade edilmiştir.

Oliveira ve ark. (2017), zeytinden izole ettikleri *Candida tropicalis*, *Debaryomyces hansenii*, *Galactomyces reessii*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia manshurica*, *Pichia membranifaciens*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula graminis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida boidinii*, *Candida norvegica* türlerine ait mayaların probiyotik potansiyelini araştırdıkları çalışmalarında, *S. cerevisiae*, *C. tropicalis*, *P. membranifaciens* suşlarının vücut sıcaklığında iyi gelişim gösterdiğini, mide sıvısı dayanımının *Pichia guilliermondii* ve *Candida tropicalis* için, safra dayanımının *Candida norvegica* ve *S. cerevisiae* için %100 üzeri bulunduğu, genel canlılık açısından *Candida norvegica* (%14,52) ve *Pichia guilliermondii*'nin (%29,13), *S. boulardii*'den (%13,33) daha iyi sonuçlar aldığı bildirilmiştir. Otoagregasyon değerleri bakımından kültürler arasından büyük varyasyon bulunduğu (%20,11-%93,94), antioksidan aktivitenin genel olarak düşük olduğu (%0-%18,34), mayaların *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği belirtilmiştir. Enzim aktivitesi bakımından lipolitik aktivitenin suşa göre değişebildiği ve proteolitik aktivitenin genel olarak çok düşük düzeyde olduğu/bulunmadığı belirtilmiş ve sonuç olarak *S. cerevisiae*, *Pichia guilliermondii*, *Candida norvegica* suşlarının probiyotik potansiyeline sahip olduğu ve yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde starter olarak kullanılabileceği savunulmuştur.

Dey ve ark. (2017), meyve sularında bulunan mayaları probiyotik karakterizasyon amacıyla inceledikleri çalışmalarında, kültüre aldıkları *Wickerhamomyces anomalus*, *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae* türlerine ait suşların vücut sıcaklığında iyi gelişim gösterdiklerini, sindirim yolu koşullarına dayanımının yüksek olduğunu, özellikle *Wickerhamomyces anomalus* VIT-ASN01 suşunun sahip olduğunu özelliklerle gıda endüstrisinin çeşitli alanlarında probiyotik olarak kullanım ihtimali olduğunu bildirmişlerdir.

Fadda ve ark. (2017), geleneksel peynirlerden izole ettikleri ve *Kluyveromyces marxianus* ve *Kluyveromyces lactis* olarak tanımladıkları maya suşlarının fonksiyonel özelliklerini araştırmışlardır. Çalışmada pH 2,0 ortamında izolatların canlılıklarını %95 seviyesinde koruyabildikleri ve gastrointestinal yol dayanımları açısından izolatlar arasında varyasyonlar bulunduğu (*Kluyveromyces lactis* suşlarının mide ve safra dayanımları %12,6-%86,9 aralığında, *Kluyveromyces marxianus* suşlarının mide ve safra dayanımları %83-%100 aralığında) ve bazı *Kluyveromyces marxianus* suşlarının gastrointestinal yol koşullarından etkilenmediği ve kontrol olarak kullanılan *Saccharomyces boulardii*'ye göre daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir. İzolatların otoagregasyon kapasiteleri %42,5-%59,2 aralığında ve hidrofobisite değerleri %39,9-%79,4 aralığında bulunurken, suşların bağırsak hücrelerine tutunma seviyelerinin farklı olduğu, *Kluyveromyces lactis* suşlarının daha yüksek düzeyde tutunabildiği belirtilmiştir. Test edilen mayaların seçili patojenlere karşı (*S. aureus*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. Typhimurium*, *L. monocitogenes*) antibakteriyel etkilerinin suşa bağlı değişiklik gösterdiği, suşların çoğunun *S. aureus*'e karşı etkili olurken *L. monocitogenes*'e karşı antibakteriyel etki göstermedikleri, ayrıca suşların hemolitik aktiviteye sahip olmadıkları belirtilmiştir. Sonuç olarak incelenen kültürlerin çalışmada elde edilen sonuçlara göre probiyotik adayı oldukları ve süt ürünlerinin fonksiyonel özelliklerini artırmak için kullanılabilecekleri ileri sürülmüştür.

Şanlıdere Aloğlu ve ark. (2016), çiğ süt ve çeşitli fermente gıdalardan (ekşi hamur, peynir, yoğurt, kefir) elde ettikleri, kolesterol asimilasyon yeteneğine sahip *Zygosaccharomyces* spp., *Cryptococcus humicola*, *Cryptococcus curvatus*, *Candida kefir*, *Trichosporon inkin*, *Candida valida* türlerine ait mayaların probiyotik özelliklerini araştırmışlardır. Çalışmada izolatların pH 2,5 ortamına süreye göre dayanımları açısından varyasyonlar bulunmuş, *Cryptococcus curvatus* *Zygosaccharomyces* spp. pH 2,5 ortamında gelişim göstermediği, *Candida valida* suşunun hücre sayısının azaldığı, diğer izolatların hücre sayısının arttığı belirtilmiştir. Safra tuzlarına dayanım açısından benzer varyasyonlar tespit edilmiş, *Cryptococcus humicola* ve *Candida kefir* suşlarının safra dayanımının yüksek olduğu belirlenmiştir. Gastrointestinal yol dayanımı değerlerinin suşa bağlı bulunduğu denemelerde *Zygosaccharomyces* spp. haricindeki türlere ait bazı suşlarda deneme sonunda %100 üzeri canlılık gözlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre *Cryptococcus humicola*, *Candida kefir*, *Trichosporon inkin* türüne ait suşların kolesterol asimilasyon yeteneğine sahip potansiyel probiyotik mayalar olduğu ifade edilmiştir.

Ogunremi ve ark. (2015), fermente geleneksel tahıl ürünlerinden elde ettikleri maya kültürlerinin starter kültür olarak kullanım potansiyeli ve multifonksiyonel özelliklerini incelemişlerdir. *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kudriavzevii*, *Issatchenkia orientalis*, *Pichia kluyveri* olarak tanımlanan izolatlara gastrointestinal yola dayanım, otoagregasyon, koagregasyon, hidrofobisite, antioksidan aktivite, enzim aktivitesi testleri uygulanmıştır. Enzim aktivitesi testlerinde izolatların büyük çoğunluğu lipaz aktivitesi gösterirken proteaz aktivitesi birkaç izolatta ve suşa bağlı olarak gözlenmiştir. Düşük pH (2,0) değerlerine *P. kluyveri* ve *P. kudriavzevii*, safra tuzlarına *Issatchenkia orientalis* suşlarının dayanımları yüksek bulunmuş (%100), gastrointestinal yola dayanım testlerinde %92,94-%100 arasında canlılık değerleri elde edilmiş, *Issatchenkia orientalis* ve *P. kudriavzevii* suşları denemelerden etkilenmediği tespit edilmiştir. Otoagregasyon denemesinde en yüksek %91,85 değeri elde edilmiş, hidrofobisite testinde ise suşa bağlı sonuçlar gözlenmiştir. Seçili patojenlerle (*Shigella flexneri*, *Salmonella paratyphi*, *Escherichia coli*) yürütülen koagregasyon denemesinde en yüksek etkileşim *P. kudriavzevii* ve *E. coli* (%73,54) arasında gözlenmiştir. Antioksidan aktivite değerleri %33,66–%44,48 arasında bulunmuş, en yüksek etkiyi *P. kudriavzevii* göstermiştir. Araştırma sonucunda *Pichia kluyveri* LKC17, *Issatchenkia orientalis* OSL11, *Pichia kudriavzevii* OG32, *Pichia kudriavzevii* ROM11 ve *Candida tropicalis* BOM21 suşlarının probiyotik potansiyele sahip olduklarını ve gösterdikleri teknolojik ve probiyotik özellikler sebebiyle gıda üretiminde multifonksiyonel starter kültür olarak kullanım potansiyeline sahip oldukları ileri sürülmüştür.

Gil-rodríguez ve ark. (2015), farklı gıdalardan izole ettikleri *Candida*, *Kluyveromyces*, *Metshnikowia*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspora*, *Wickerhamomyces*, *Yarrowia*, *Zygosaccharomyces* cinslerine ait çeşitli türlerdeki mayaları, vücut sıcaklığında gelişim, gastrointestinal yola dayanım, antioksidan aktivite, antimirobiyal aktivite, otoagregasyon özellikleri yönünden incelemişlerdir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre *Pichia membranaefaciens*, *S. cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* suşlarının 37 °C sıcaklıkta 25 °C sıcaklığa göre daha iyi gelişim gösterdikleri, *S. cerevisiae*, *S. pombe*, *Saccharomyces bayanus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Metshnikowia pulcherrima*, *Wickerhamomyces subpelliculosa* suşlarının gastrointestinal yola (pH 3, %0,3 safra, %0,3 pepsin) dayanımının yüksek olduğu, izolatlar arasında antioksidan aktivitenin suşa bağlı olduğu (*S. cerevisiae* suşları için %1,7-%56,97 aralığı) ve en yüksek aktiviteyi *S. cerevisiae* ve *S. pombe* suşlarının (%56,97 ve %50,72) gösterdiği,

otoagregasyon değerlerinin %83,3 - %99,8 aralığında bulunduğu, 2 saatlik süre için izolatlar arasında yüksek varyasyon bulunduğu ve otoagregasyon özelliğinin suşa bağlı olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak incelenen kültürler içerisinde *Schizosaccharomyces pombe* türüne ait suşların, elde edilen verilere göre incelenen diğer mayalardan daha üstün probiyotik özellikler gösterdiği ifade edilmiştir.

Bonatsou ve ark. (2015), zeytinde bulunan *Pichia guilliermondii*, *Pichia kluyveri*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Candida silvae*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia manshurica*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula diobovatum*, *Aereobasidium pullulans*, *Debaryomyces hansenii*, *Pichia membranifaciens* türlerini inceledikleri çalışmalarında sindirim yoluna dayanım açısından mide ve safra canlılıklarında türler arasında farklılıklar tespit etmiş, bazı türlerin (*Debaryomyces hansenii*) mide dayanımının yüksek olmasına rağmen safra ortamında gelişemediğini belirlemiş, denenen *Pichia guilliermondii* suşunun probiyotik özelliklere sahip olduğunu ve salamura zeytin üretiminde multifonksiyonel starter olarak kullanılabileceğini bildirmiştir.

Perricone ve ark. (2014), fermente tahıl ürünlerinde kullanılabilecek fonksiyonel starter kültürler elde etmek amacıyla ekşi hamurdan elde ettikleri mayaların teknolojik ve probiyotik özelliklerini (sindirim sistemi koşullarına dayanım, hidrofobisite, antimirobiyal aktivite) araştırmışlardır. Çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida humilis* olarak tanımlanan maya kültürlerinin, pH 2,5 ve safra dayanımının %80-%120 (canlılık) arasında olduğunu, hidrofobisite değerlerinin %0-%96 arasında olduğunu, *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının hidrofobisite değerlerinin %96 düzeyine kadar çıkabildiğini belirtmişlerdir. Araştırılan mayalarda *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* patojenlerine karşi antimikrobiyal etki tespit edilmemiştir. Çalışma sonucunda uygulanan testler göz önüne alınarak *Saccharomyces cerevisiae* türüne ait suşların, kontrol olarak kullanılan *Saccharomyces boulardii* ile benzer sonuçlar verdiği ve probiyotik potansiyeline sahip belirtilmiştir.

Diosma ve ark. (2014), kefirde izole ettikleri mayaları inceledikleri çalışmalarında *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces unisporus*, *Issatchenkia occidentalis*, *Kluyveromyces marxianus* türlerine ait suşların probiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla yürüttükleri testlerde elde ettikleri sonuçlara göre izolatların pH 2,5 ve %1 safra ortamlarına dirençlerinin suşa bağlı olduğunu, *Kluyveromyces marxianus* suşlarının canlılık seviyelerinin %13,6-%70,6 aralığında, *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının canlılık seviyelerinin %16,7-%95,8 aralığında bulunduğu belirtilmiştir. İzolatların bağırsak

hücrelerine tutunma yeteneklerinin düşük olduğu belirlenen çalışmada suşların sindirim yolu dayanımının kontrol olarak kullanılan *S. boulardii* ile benzer olduğu ifade edilmiş ve araştırma sonuçlarına göre *K. marxianus* CIDCA 8154 ve *S. cerevisiae* CIDCA 8112 suşlarının probiyotik potansiyeli taşıdığı bildirilmiştir.

Binetti ve ark., (2013), süt ürünlerinde bulunan *Saccharomyces cerevisiae*, *Clavispora lusitaniae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*, *Galactomyces geotrichum*, *Pichia kudriavzevii* türlerine ait suşların fonksiyonel özelliklerini araştırmışlardır. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlara göre izolatların sindirim yolu dayanımlarının suşa bağlı olarak değişiklik gösterdiği, *Kluyveromyces marxianus* suşlarının %3-%62 arasında, *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının %1-%63 arasında canlılık gösterdiği belirtilmiştir. İzolatların hidrofobisite değerleri %45,3-%85,3 aralığında ölçülmüş ve en hidrofobik suşlar *Saccharomyces cerevisiae* ve *Pichia kudriavzevii* olarak belirlenmiştir. Suşların otoagregasyon kapasitelerinin %16-%70 aralığında değerler aldığı, patojenlerle (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*) koagregasyon değerlerinin yüksek varyasyon gösterdiği (%2,4-%94,4) ve izolatların patojenlere karşı antimikrobiyal etki göstermediği belirtilmiştir. Enzimatik aktivite denemelerinde proteolitik ve lipolitik aktivitenin suşa bağlı olduğu, *Saccharomyces cerevisiae* suşlarında enzimatik aktivite tespit edilmezken *Kluyveromyces marxianus* suşlarının bazılarında proteolitik ve lipolitik aktivitenin belirlendiği bildirilmiştir. Sonuç olarak araştırmada elde edilen veriler ışığında *K. marxianus* L10, *S. cerevisiae* L11 ve *K. lactis* L13 suşlarının gösterdikleri fonksiyonel özelliklerle gıda üretiminde kullanılabilecek probiyotik adayları olduğu ileri sürülmüştür.

Syal ve Vohra (2013), geleneksel gıdalardan izole ettikleri mayaların probiyotik özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında kültüre aldıkları *Candida tropicalis*, *Aureobasidium* sp., *Saccharomyces cerevisiae* ve *Pichia manschuria* türlerine ait maya suşlarını otoagregasyon, hidrofobisite ve gastrointestinal yol dayanımı, antimikrobiyal etki, proteaz, lipaz aktivitesi yönünden test etmişlerdir. Gastrointestinal yol dayanımı denemelerinde kültürlerin %58-%100 arasında canlılık gösterdiği ve gastrointestinal yol dayanımının suşa bağlı olduğu, izolatların otoagregasyon değerlerinin %95-%100 aralığında olduğu, %32-%68 arasında hidrofobisite gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca izolatların *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas* sp., *Vibrio cholerae* ve *Salmonella* sp. patojenlerine karşı antimikrobiyal etki gösterdiği, enzim aktivitesi yönünden tüm izolatların lipolitik aktivite gösterirken, sadece iki izolatın proteolitik aktivite gösterdiği ve suşa bağlı olduğu

gösterilmiştir. Sonuç olarak incelenen kültürlerin sahip oldukları özellikler ile probiyotik potansiyeli yüksek, gıda üretiminde kullanılabilecek mayalar olduğu ileri sürülmüştür.

García-Hernández ve ark. (2012), tavuk dışkılarından izole ettikleri mayaları inceledikleri çalışmalarında *Trichosporon asahii*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Pichia kudriavzevii*, *Kodamaea ohmerimayaları* olarak tanımladıkları izolatları koagregasyon, yüksek asitlik dayanımı, safra tuzu dayanımı, hidrofobisite özellikleri yönünden incelemişlerdir. İzolatlar öncelikle seçili patojenlerle (*Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*) koagregasyon durumlarına göre incelenmiş ve *Wickerhamomyces anomalus* suşlarının denenilen tüm patojenleri bağlayabildiği ve baskılayabildiği tespit edilerek sonraki analizler için seçilmiştir. Düşük pH (2,5) ve safra (%0,3) ortamında %98,97 ve %99,42 canlılık gösterdiği ve hidrofobik özelliğinin nispeten düşük olduğu belirtilen *Wickerhamomyces anomalus* LV-6 suşunun çalışma kapsamında elde edilen sonuçlara göre probiyotik adayı olabileceği belirtilmiştir.

Pedersen ve ark. (2012), darıdan üretilen geleneksel fermente ürünlerden izole ettikleri mayaları probiyotik karakter açısından araştırmışlardır. *Candida norvegensis*, *Candida fabianii*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida rugosa*, *Trichosporon asahii* olarak tanımladıkları izolatlardan *Candida krusei* ve *Kluyveromyces marxianus* türlerini fermentasyonda baskın türler olarak tespit etmişlerdir. İzolatların probiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla yürütülen testlerde pH 2,5 ortamında *Candida norvegensis* (>%140 gelişim), *Candida krusei* (>%100 gelişim), safra ortamında ise *Trichosporon asahii*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida krusei*, *Candida rugosa* (>%140 gelişim) yüksek gelişim göstermiştir. Mayaların bağırsak hücreleriyle etkileşiminin incelendiği denemelerde *C. krusei*, *K. marxianus*, *C. rugosa*, *T. asahii* suşlarının bağırsak hücrelerine koruyucu etkide bulunduğu, *T. asahii* suşunun bağırsak hücrelerine etki açısından *S. boulardii* ile benzer sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre *Kluyveromyces marxianus*, *Candida rugosa*, *Trichosporon asahii*, *Candida krusei* türlerine ait suşların probiyotik özellik gösterdiği ve fonksiyonel starter kültür olarak kullanım potansiyeli olduğu rapor edilmiştir.

Silva ve ark. (2011), salamura zeytinden izole ettikleri mayaları fonksiyonel özellikleri açısından araştırmışlardır. Kültüre alınan mayalar lipolitik aktivite gibi teknolojik özellikler ve 37 oC’ de gelişme, yüksek asit, safra tuzu dayanımı, antimikrobiyal etki gibi fonksiyonel özellikler açısından incelenmiştir. Salamurada baskın türler *Pichia*

membranaefaciens, *Pichia fermentans*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida oleophila* olarak tanımlanmış, tribütirini parçalama üzerinden yürütülen lipolitik aktivite testinde *Saccharomyces cerevisiae* suşları negatif sonuç verirken diğer türler pozitif sonuç vermiştir. Fonksiyonellik testlerinde izolatların vücut sıcaklığından gelişebildiği, düşük pH (2,5) ortamında *Saccharomyces cerevisiae* baskılanırken diğer türlerin gelişebildiği, safra tuzlarına (3 g/L) genel olarak izolatların dayanıklı olduğu, bu durumun *P. membranaefaciens* için suşa bağlı olduğu ve seçili patojenlere (*S. aureus*, *Salmonella enteritidis* *L. monocytogenes* *E. coli*) karşı antimikrobiyal aktivitenin suşa bağlı olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda *Pichia membranaefaciens* ve *Candida oleophila* türlerine ait izolatların sahip olduğu özellikler ile salamura zeytin üretiminde probiyotik starter olarak kullanım potansiyeli bulunduğu belirtilmiştir.

Chen ve ark. (2010), çiğ sütte bulunan mayaları inceledikleri çalışmalarında kültüre aldıkları *Pichia guilliermondii*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon gracile*, *Pichia fermentans*, *Pichia kudriavzevii* ve *Yarrowia lipolytica* suşlarını probiyotik özellikleri yönünden araştırmışlardır. Safra tuzlarına dayanım özelliği bakımından *P. guilliermondii*, *T. gracile*, *Y. lipolytica* (%64-%100 canlılık) suşları yüksek dayanım göstermiş, mide sıvısı dayanımı açısından ise *Pichia kudriavzevii* (%100 canlılık) yüksek dayanım göstermiştir. Bunun yanında *P. kudriavzevii*, *R. mucilaginosa*, *Y. lipolytica* suşlarının bağırsak hücrelerine tutunma kabiliyetlerinin yüksek olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucunda araştırmacılar *P. fermentans* ve *Y. lipolytica* suşlarının uygulanan testlerin sonuçlarına göre potansiyel probiyotik olarak kabul edilebileceğini bildirmişlerdir.

Kourelis ve ark. (2010), feta peynirinden kültüre aldıkları *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının probiyotik özelliklerini araştırmışlardır. Buna göre mayaların yüksek asitli ortamda (PBS, pH 3) %77-%97 oranında, safra tuzları varlığında ise %0-%20,46 oranında inhibisyona uğradıkları belirtilmiştir. Ayrıca izolatların bağırsak hücrelerine bağlanabildiği ve *B. cereus*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* patojenlerine karşı antimikrobiyal etki göstermediği bildirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre *K. lactis* ve *S. cerevisiae* suşlarının probiyotik özelliklere sahip olduğu ifade edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada izolasyon kaynağı olarak üzüm meyvesi, gilaburu turşusu, salamura zeytin, zeytin karasuyu, kefir, fermente sucuk, tulum peyniri, sirke, yoğurt, kontamine besiyeri ve toprak örnekleri kullanılmıştır. Üzüm ve toprak örnekleri Kahramanmaraş'ta yerel bağlardan temin edilmiştir. Salamura zeytin örnekleri Kahramanmaraş'ta geleneksel yöntemlerle üretilen ve fermentasyonu tamamlanmış tüketime hazır zeytinlerden elde edilmiş olup zeytin karasuyu örnekleri ise geleneksel üretimin ilk aşamasında zeytinlerin suda bekletilmesi ile ortaya çıkan renkli sıvıdan alınmıştır. Bunun yanında daha önceki çalışmalarda (Ayman, 2017) zeytin salamurasından elde edilmiş olan maya izolatları da çalışmaya dahil edilmiştir. Sirke Kahramanmaraş'ta geleneksel yöntemlerle evlerde hazırlanan üzüm sirkesi örnekleri olup, gilaburu turşusu örnekleri Kayseri'den temin edilmiştir. Yoğurt örnekleri ev üretimi yoğurdun ekşimeye bırakılmasıyla elde edilmiştir. Kefir, fermente sucuk, tulum peyniri örnekleri ise yerel marketlerden temin edilmiştir. Kontamine besiyerleri laboratuvar ortamında ve açık havada besiyerlerinin havaya akımına maruz bırakılması sonucu oda sıcaklığında mikrobiyal gelişim ile elde edilmiştir.

Yeast extract, peptone, dextrose (YPD), tributirin agar, brain heart infusion (BHI) ve nutrient agar besiyerleri Condolab, kloramfenikol, phosphate buffered saline (PBS), HCl, NaOH, NaCl, pepsin, pankreatin, safra tuzu, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) Sigma Aldrich firmasından alınmıştır. Kontrol olarak kullanılan *Saccharomyces boulardii* CNCM i-745 probiyotik suşu (Reflor) yerel bir eczaneden temin edilmiştir. Patojen bakteri kültürleri (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenes* ATCC 215675, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC 25928), KSÜ Gıda Mühendisliği mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Mayaların izolasyonu

Mayalar genel izolasyon prosedürleri uygulanarak izolasyon kaynaklarından elde edilmiştir. İzolasyon kaynaklarından 10 g veya 10 mL örnek alınarak 90 mL PBS (NaCl 137mM, KCl 2,7 mM, Na₂HPO₄ 10mM, KH₂PO₄ 1,8 mM, pH 7,4) içerisinde homojen hale getirilmiş ve sonrasında PBS ile seri dilüsyonları hazırlanarak antibiyotik

(kloramfenikol, %0,1) ilaveli YPD agar (maya ekstraktı 10 g/L, pepton 20 g/L, glukoz 20 g/L, agar 20 g/L) besiyeri içeren petrilere mikrobiyolojik ekim yapılmıştır. Petriler 25 °C de 2-3 gün süreyle inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda petrilere gelişen koloniler morfolojilerine göre incelenmiştir. İncelenen koloniler arasında farklılık gösterenler seçilmiş ve mikroskop altında hücre morfolojileri incelenmiştir. Seçilen koloniler daha sonra YPD broth (br.) ve YPD agar besiyerlerine seri ekimler yapılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırılan izolatlar %15 gliserol içerisinde -20 °C’ de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Farklı sıcaklıklarda gelişme

Saflaştırılan izolatların vücut sıcaklığında gelişim yeteneklerini tespit etmek amacıyla izolatlar, YPD sıvı besiyeri içerisinde 30 ve 37 °C sıcaklıkta inkübasyona alınmış ve 2-3 günlük süre için mikrobiyal gelişim kontrol edilmiştir. Mikrobiyal gelişim spektrometrik olarak besiyerlerinin OD (optik dansite, 600-620 nm) değerleri ölçülerek takip edilmiştir (Perricone ve ark., 2014).

3.2.3. Farklı pH değerlerinde gelişme

İzolatlar, pH değerleri 1M HCl veya 1M NaOH ile pH 2,5 ve 8,0 olarak ayarlanmış ve müdahale edilmemiş (pH 6,5) YPD sıvı besiyerleri içerisinde 37 °C sıcaklıkta 4 gün süreyle inkübe edilmiştir. Mikrobiyal gelişim spektrometrik olarak besiyerlerinin OD değerleri belirlenerek takip edilmiştir (Perricone ve ark., 2014).

3.2.4. Mide koşullarına dayanım

İzolatların mide koşullarına dayanım yeteneklerini belirlemede kullanmak üzere mide sıvısını taklit etmek amacıyla pepsin (%0,3 w/v; 1000 U/g) ve NaCl (%0,5 w/v) içeren çözelti hazırlanmış ve çözeltinin pH değeri (1M HCl ile) 2,5 olacak şekilde ayarlanmıştır. Denemeye alınan izolatlar YPD br. besiyeri içerisinde geliştirildikten sonra OD değerleri 1’e ayarlanmış ($\sim 10^7$ kob/mL), santrifüjlenmiş (3500 rpm, 5 dk) ve hücre pelleti PBS ile 2 kez yıkanmıştır. Yıkanan hücreler çöktürüldükten sonra 5 mL mide sıvısı çözeltisi içerisine alınarak 37 °C’ de 90 dakika süreyle çalkalayıcı üzerinde (200 rpm) bekletilmiştir. 90 dakikalık sürenin başında ve sonunda mide sıvısı çözeltisinden YPD agar besiyerine ekim yapılmış ve inkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılarak canlı hücre sayısı (kob/mL) belirlenmiştir. İzolatların Dayanım Değerleri, başlangıç ve sonda elde edilen koloni sayılarının oranlanması (3.1) ile % olarak belirlenmiştir (Chen ve ark., 2010).

$$\% \text{ Dayanım} = (\text{kob/mL son} / \text{kob/mL başlangıç}) * 100 \quad (3.1)$$

kob/mL başlangıç, 0. dakikadaki canlı hücre sayısı

kob/mL son, 90 dakika sonraki canlı hücre sayısı

3.2.5. Safra tuzları ve pankreas enzimlerine dayanım

İzolatların mideden sonra ince bağırsak girişinde maruz kalacakları şartlara dayanım durumunu belirlemek amacıyla bu şartları taklit edecek yapay safra sıvısı, safra tuzu (ox bile %0,3 w/v), pankreatin (%0,1 w/v) ve NaCl (%0,5 w/v) içerecek şekilde hazırlanmış ve pH değeri (1M NaOH ile) 8,0' e ayarlanmıştır. İzolatlar YPD br. besiyeri içerisinde geliştirildikten sonra OD değerleri 1'e ayarlanmış, santrifüjlenmiş (3500 rpm, 5 dk) ve hücre pelleti PBS ile 2 kez yıkanmıştır. Yıkanan hücreler çöktürüldükten sonra 5 mL safra sıvısı içerisine alınarak 37 °C' de 3 saat süreyle çalkalayıcı üzerinde (200 rpm) bekletilmiştir. 3 saatlik sürenin başında ve sonunda safra sıvısından YPD agar besiyerine ekim yapılmış ve inkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılarak canlı hücre sayısı (kob/mL) belirlenmiştir. İzolatların Dayanım Değerleri, başlangıç ve sonda elde edilen koloni sayılarının oranlanması (3.2) ile % olarak belirlenmiştir (Chen ve ark., 2010).

$$\% \text{ Dayanım} = (\text{kob/mL son} / \text{kob/mL başlangıç}) * 100 \quad (3.2)$$

kob/mL başlangıç, 0. dakikadaki canlı hücre sayısı

kob/mL son, 3 saat sonraki canlı hücre sayısı

3.2.6. Otoagregasyon yeteneği

İzolatların bağırsakta kolonileşebilme yeteneklerinin bir ölçüsü olan agregasyon yeteneğini belirlemek amacıyla izolatlar, YPD br. besiyeri içerisinde geliştirildikten sonra OD değerleri 1'e ayarlanmış, santrifüjlenmiş (3500 rpm, 5 dk) ve hücre pelleti PBS ile 2 kez yıkanmıştır. Yıkanan hücreler çöktürüldükten sonra 10 mL PBS içinde çözündürülerek hücre süspansiyonu hazırlanmıştır. Elde edilen hücre süspansiyonu 37 °C sıcaklıkta 24 saat süreyle hareketsiz bekletilmiştir. 0, 2, 4, 24'üncü saatlerde hücre süspansiyonunun üst kısmından dikkatlice 1 mL alınarak OD değerleri ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerlerinden aşağıdaki formül (3) yardımıyla izolatların agregasyon durumları % olarak belirlenmiştir (Ogunremi ve ark., 2015).

$$\% \text{ agregasyon} = (1 - (A_t / A_0)) * 100 \quad (3.3)$$

A_t: 2, 4, 24 saatlerdeki OD değeri,

A₀: başlangıçtaki OD değeri

3.2.7. Hidrofobisite

İzolatların bağırsak yüzeyine tutunma yeteneklerinin bir ölçüsü olan hidrofobisiteyi belirlemek amacıyla izolatlar, YPD br. besiyeri içerisinde geliştirildikten sonra OD değerleri 1'e ayarlanmış, santrifüjlenmiş (3500 rpm, 5 dk) ve hücre pelleti PBS ile 2 kez yıkanmıştır. Yıkanan hücreler çöktürüldükten sonra 3 mL PBS içinde çözündürülmüş, OD değeri ölçülmüş, üzerine 0,6 mL ksilen ilave edilerek 120 saniye boyunca çalkalanarak karışım elde edilmiştir. Çalkalama sonrası fazların ayrılması için karışım 37 °C sıcaklıkta 1 saat süre ile kendi haline bırakılmıştır. Süre sonunda su fazından 1 mL alınarak OD değeri ölçülmüş ve hidrofobisite % olarak aşağıda formül (4) kullanılarak hesaplanmıştır (Bonatsou ve ark., 2018).

$$\% \text{ hidrofobisite} = (1 - (A1/A0)) * 100 \quad (3.4)$$

A0: ksilen ekstraksiyonu öncesi

A1: ksilen ekstraksiyonu sonrası

3.2.8. Proteolitik ve lipolitik aktivite

Proteolitik aktiviteyi belirlemek amacıyla izolatlar, YPD br. besiyerinde 24-48 saat süre ile geliştirilmiş, OD değerleri 1'e ayarlandıktan sonra, yağsız süt ilaveli (%10) nutrient agar besiyerine 10 µL hacimde spot ekim ile yerleştirilmiştir. İzolatlar 37 °C' de 48 saat inkübasyona alınmış ve sonrasında koloniler etrafında oluşan şeffaf bölge kontrol edilmiştir. Şeffaf bölge oluşması halinde bu bölgenin çapı kumpas ile ölçülerek proteolitik aktivite tespit edilmiştir (Utba ve ark., 2018). Lipolitik aktiviteyi belirlemek amacıyla izolatlar, YPD br. besiyerinde 24-48 saat süre ile geliştirilmiş, OD değerleri 1'e ayarlandıktan sonra, tributirin agar (%0,5 pepton, %0,3 maya ekstraktı, %2 agar, %0,1 tribütirin) besiyerine 10 µL hacimde spot ekim ile yerleştirilmiştir. İzolatlar 37 °C' de 48 saat inkübasyona alınmış ve sonrasında koloniler etrafında oluşan şeffaf bölgenin çapı ölçülerek lipolitik aktivite tespit edilmiştir (Utba ve ark., 2018).

3.2.9. Antioksidan aktivite

Antioksidan aktivite, maya hücrelerinin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikalini indirgeme yüzdeleri tespit edilerek belirlenmiştir. İzolatlar YPD br. besiyerinde 24-48 saat süre ile geliştirilmiş, OD değerleri 1'e ayarlandıktan sonra santrifüjlenmiş (3500 rpm, 5 dk) ve hücre pelleti PBS ile 2 kez yıkanmıştır. Elde edilen pelet aynı çözeltinin 0,8 mL'sinde yeniden süspanse edilmiştir. Hücre süspansiyonu yeni bir tüpe aktarıldıktan sonra

1 mL DPPH çözeltisi (metanolde 0,2 mM) eklenmiş ve karışım vortekslendikten sonra karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda tüpler santrifüj edilmiş ve süpernatant alınarak 517 nm'deki absorbans miktarı ölçülmüştür. Antioksidan aktivite % olarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Merchán, 2020).

$$\% \text{ antioksidan aktivite} = (1 - (A_{517\text{örnek}}/A_{517\text{kör}})) * 100 \quad (3.5)$$

$A_{517\text{örnek}}$: hücre süspansiyonu + DPPH absorbans değeri

$A_{517\text{kör}}$: PBS + DPPH absorbans değeri

3.2.10. Hemolitik aktivite

Hemolitik aktivite, maya suşlarının %5 (w/v) koyun kanı içeren Tryptic Soy Agar (TSA) (%1,5 kazein peptonu, %0,5 soya peptonu, % 0,5 g NaCl, % 1,5 agar) üzerinde oluşturdukları zonlar kontrol edilerek belirlenmiştir. İzolatlar, YPD br. besiyerinde 24-48 saat süre ile geliştirildikten sonra koyun kanı içeren TSA üzerine tek hat boyunca çizilmiş ve 37 °C' de 4 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda TSA üzerinde gelişen kolonilerin etrafında oluşması beklenen şeffaf/rengli bölge kontrol edilmiştir. Kolonilerin etrafında herhangi bir değişim olmaması γ -hemoliz, yeşil renkli bölgelerin oluşumu α -hemoliz, şeffaf bölgelerin oluşumu ise β -hemoliz aktivitesini belirtmektedir (Di Cagno, 2020).

3.2.11. Antimikrobiyel aktivite, koagregasyon, hücresiz supernatant denemeleri

Antimikrobiyal aktivite testi çift kat agar tekniğine göre yürütülmüştür. YPD sıvı besiyerinde geliştirilen izolatlar OD değerleri 1'e ayarlandıktan sonra YPD agar üzerine nokta ekim ile yerleştirilmiş ve 2 gün süreyle inkübasyona alınmıştır. Test için kullanılan patojenler (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenes* ATCC 215675, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC 25928) BHI sıvı besiyerinde 1 gece geliştirildikten 100 μ L alınarak 5 mL BHI soft agar (%0,8 agar) ile karıştırılmış ve karışım maya kolonilerinin geliştiği petrilere ikinci katı oluşturacak şekilde dökülmüştür. Daha sonra petriler 37 °C'de inkübasyona bırakılmış ve şeffaf zon oluşumu açısından incelenmiştir (Perricone ve ark., 2014).

Koagregasyon testi için mayalar YPD sıvı besiyerlerinde ve patojenler BHI sıvı besiyerinde geliştirildikten sonra izolatlar ve patojenler çöktürülmüş, PBS ile yıkanmış ve pellet 5 mL PBS içinde süspanse edildikten sonra OD değerleri 1'e ayarlanmıştır. Bu süspansiyonlardan 3 farklı eppendorf tüpü içerisine sadece maya (1 mL), sadece bakteri (1

mL) ve maya+bakteri (0,5 mL+0,5 mL) olacak şekilde eklenerek 30 saniye vortekslenmiştir. Sonrasında tüpler kendi haline bırakılarak tabanda oluşan hücre peleti 2 saatlik süre için gözlenmiş ve peletlerin ilk belirlediği süre kaydedilmiştir. Daha sonra maya+bakteri tüplerinden bir miktar mikroskop lamalarına alınmış, boyanarak mikroskop altında incelenmiştir.

Hücresiz supernatant (CFS) denemeleri için izolatlar YPD sıvı besiyerinde 5 gün süreyle inkübe edildikten sonra hücreler çöktürülmüş ve supernatant alınarak patojenlere karşı etkisi kuyu difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Patojenler BHI broth besiyerinde geliştirildikten sonra OD değerleri 1' e ayarlanmış ve sonrasında 100 µL hacimde alınarak BHI agar üzerine yayılmıştır. Daha sonra patojenleri içeren petrilerde 9 mm çapında kuyucuklar açılmış ve bu kuyuların içerisine 50 µL hacimde mayalardan elde edilen CFS'ler eklenmiştir. Petriler 37 °C'de 1 gün bekletildikten sonra kuyular etrafında oluşan berrak inhibisyon zonları incelenmiş ve kumpas ile zonların çapları ölçülmüştür (Younis ve ark., 2017; Rahimi ve ark. 2024).

3.2.12. Mayaların tanımlanması

İzolatlar MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption/ionization, time-of-flight, mass spectrometry) sistemi ve moleküler yöntemle ribozom büyük alt birim rRNA genlerinin (26S rDNA) D1/D2 bölgelerinin nükleotid dizilerine (Kurtzman ve Robnett, 1998) göre tür düzeyinde tanımlanmıştır.

MALDI-TOF MS

Tanımlanmak için seçilen maya izolatları YPD agar besiyeri üzerinde geliştirilmiş, koloniler oluştuktan sonra MALDI-TOF MS (Bruker Daltonik MALDI Biotyper) ile analiz edilmiş, elde edilen sonuçlar MALDI Biotyper kütüphanesinde bulunan referanslar ile kıyaslanmış ve izolatlar cihaz kütüphanesinde bulunan, en yüksek çakışma (score value 2 ve üzeri) veren referans türünden tanımlanmıştır.

Moleküler tanımlama

Moleküler tanımlama için izolatların 26S rDNA genlerinin D1/D2 bölgeleri polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) vasıtasıyla çoğaltılmıştır. PCR'de kullanılacak kaynak DNA'yı elde etmek için izolatlar YPD agar besiyerinde geliştirilmiş, gelişen kolonilerden steril iğne öze ile alınan bir miktar koloni 10 µL steril saf su içeren PCR tüplerine alınarak

karıştırılmış ve tüpler 95 °C de 15 dakika süreyle tutulmuştur. Elde edilen süspansiyon PCR çalışmalarında kalıp DNA olarak kullanılmıştır.

PCR karışımı toplam 40 µL hacimde 1µL NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') ileri primeri (10 pmol), 1µL NL4 geri (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') primeri (10 pmol), 1µL Taq DNA polimeraz (10 U/ml), 1µL dNTP (2 mM), 4µL tampon çözelti, 1µL kalıp DNA ve 31µL steril saf su içerecek şekilde hazırlanmıştır. PCR koşulları 95 °C de 5 dakika ön denatürasyon, 95 °C de 1 dakika denatürasyon, 55 °C de 1 dakika yapışma, 72 °C de 1 dakika uzama, 72 °C de 10 dakika son uzama 35 döngü olarak ayarlanmıştır.

PCR sonunda elde edilen PCR ürünleri, jel elektroforez yardımıyla, %1 agaroz jeli (TBE ile (0,13 M tris, 45 mM borik asit, 2,5 mM EDTA)) içerisinde yürütülmüş ve sonrasında etidyum bromür ile boyanarak UV ışık altında görüntülenmiştir. Görüntüleme sonrası yaklaşık 600 bp uzunluğunda bant veren pozitif örneklerin sekans analizi (Sanger) ile D1/D2 bölgesi nükleotid dizileri belirlenmiştir.

Sekans analizi ile elde edilen diziler Chromas ve MEGA 7 programları kullanılarak analiz edilmiştir. Sonrasında nükleotid dizileri NCBI veri bankasında kayıtlı referans dizilerle BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) algoritması yardımıyla benzerliklerine göre karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonuçlarına göre izolatlar, en yüksek benzerlik gösteren (%99 ve üzeri) referans dizi baz alınarak tür düzeyinde tanımlanmışlardır.

3.2.13. İstatistiksel analiz

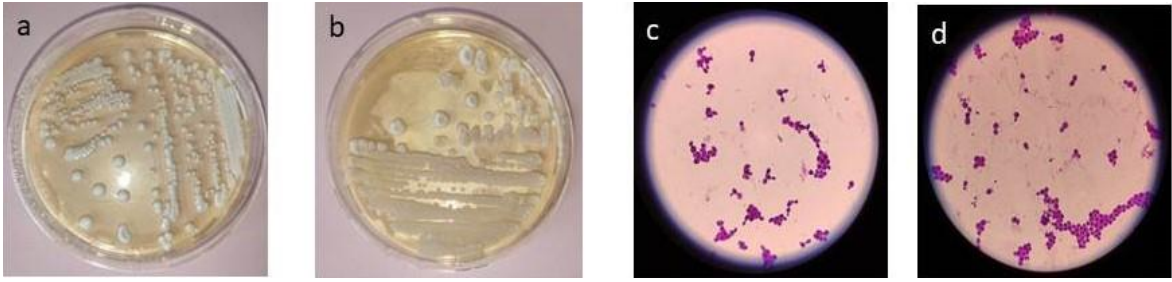
Çalışmada kapsamında bulunan denemeler en az 3 paralelli olacak şekilde yürütülmüştür. Elde edilen verilerin istatistiki analizinde JMP ve Jamovi (2022) yazılımlarından faydalanılmıştır. Veri grupları, ikili karşılaştırmalar için t testi ve çoklu karşılaştırmalar için varyans analizi (ANOVA) kullanılarak kıyaslanmış, gruplar arası farklılıkların $p < 0.05$ önem düzeyinde anlamlı çıkması halinde gruplar Tukey çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Mayaların İzolasyonu

İzolasyon kaynakları kullanılarak yapılan mikrobiyolojik çalışmalar neticesinde; üzüm meyvesi (Ü) örneğinden 47, gilaburu turşusu (G) örneğinden 34, salamura zeytin (ZE/ZY) örneklerinden 58, zeytin karasuyu (ZK) örneğinden 24, kefir (KK/KB) örneklerinden 90, fermente sucuk (S) örneğinden 54, tulum peyniri (P) örneklerinden 59, sirke (Sİ) örneğinden 45, kontamine besiyeri (B) örneğinden 20, ekşi yoğurt (YO) örneğinden 53 izolat olmak üzere toplamda 484 maya izolatı elde edilmiştir. Toprak örneklerinden yapılan ekimlerde gelişen kolonilerden, yapıları sebebiyle sonraki denemelere uygun olmadığı düşünülerek vazgeçilmiştir. Elde edilen izolatlar sonraki analizlerde kullanılmak üzere tekrarlı mikrobiyolojik ekimlerle saflaştırılarak -20 °C' de, %15 gliserol içerisinde stoklanmıştır.

Mayalar doğada geniş yayılıma sahip canlılardır. Mayalar kuru yüzeylerde, yüksek tuz şeker, alkol, asit, düşük oksijen içeren ortamlara adapte olabilirler ve canlılıklarını koruyabilirler. Mayalar genellikle bakteri ve küflerle birlikte bulunurlar, bitki ve hayvanlarla yakın etkileşim halindedirler, içerik ve yapı itibarıyla çok farklı özelliklere sahip gıdalarda doğal olarak bulunabilirler (Deak, 2009). Çalışma kapsamında maya kültürlerini elde etmek için kullanılan kaynaklar içerik açısından farklı özelliklere sahip olmakla birlikte tüm kaynaklardan maya kültürleri izole edilmiştir. İzolasyon kaynakları ile yapılan mikrobiyolojik işlemler sonucunda yarım küre, oyuk, kenarları düzensiz, düz, basık gibi farklı şekillerde, siyah, beyaz, krem rengi gibi farklı renklerde, parlak, mat görünümlü, sert, yumuşak yapılı, farklı büyüklüklerde, düzenli ve düzensiz yayılım gösteren vb. özelliklerde farklılık arz eden maya kolonileri elde edilmiştir (Şekil 4.1a ve b). Mayalarda koloni morfolojisi cins, tür ve suşlara göre değişebilmekle birlikte besin ortamının bileşimi ve inkübasyon koşulları da koloni morfolojisini etkileyebilmektedir (Boschke ve Bley, 1998; Kurtzman ve ark., 2011). Bu sebeple çeşitliliği artırmak amacıyla mikrobiyal ekimler sonunda gelişen kolonilerden öncelikli olarak farklı morfolojilere sahip olanlar seçilmiştir. Seçilen kültürler mikroskop altında incelenmiş ve büyük çoğunluğunun oval ve limon şekilli hücrelere sahip olduğu, tomurcuk oluşturduğu, hif oluşturmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.1c ve d).



Şekil 4.1. İzolatların koloni şekilleri ve mikroskop görüntüleri, (a) Z26, (b) P5, (c) Z26, (d) P5

4.2. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme

Çalışmada, izolasyon aşamasını takiben elde edilen kültürlerin farklı sıcaklıklarda gelişme yetenekleri belirlenmek amacıyla izolatlar YPD sıvı besiyeri içerisinde 30°C, 37°C sıcaklıklarda 2-3 gün süreyle inkübasyona alınmıştır. Mikrobiyal gelişim inkübasyon sonunda elde edilen OD değerlerine göre yorumlanmıştır. Buna göre toplamda 190 olmak üzere üzüm meyvesinden 47 (izolatların tamamı, %100), gilaburu turşusu örneğinden 7 (%20), salamura zeytin örneğinden 4 (%7), zeytin karasuyu örneğinden 4 (%17), kefir örneğinden 49 (%54), tulum peyniri örneğinden 21 (%35), kontamine besiyeri örneğinden 5 (%25), yoğurt örneğinden 53 (%100) izolatın 37 °C sıcaklıkta arzulanan düzeyde ($OD > 1,000$) gelişim gösterdiği tespit edilmiştir (Ek 1-12). Fermente sucuk ve sirke örneklerinden elde edilmiş izolatlar 37 °C sıcaklıkta gelişim göstermemişlerdir. İzolatların 30 °C ve 37 °C' deki gelişimleri karşılaştırıldığında ise 96 izolat için bu iki sıcaklıktaki OD değerleri arasındaki farkın önemsiz olduğu ($p>0,05$) belirlenmiştir (Ek 13). Bazı izolatlar ise 37 °C sıcaklıkta anlamlı derecede ($p<0,05$) daha iyi gelişim göstermişlerdir (Tablo 4.1).

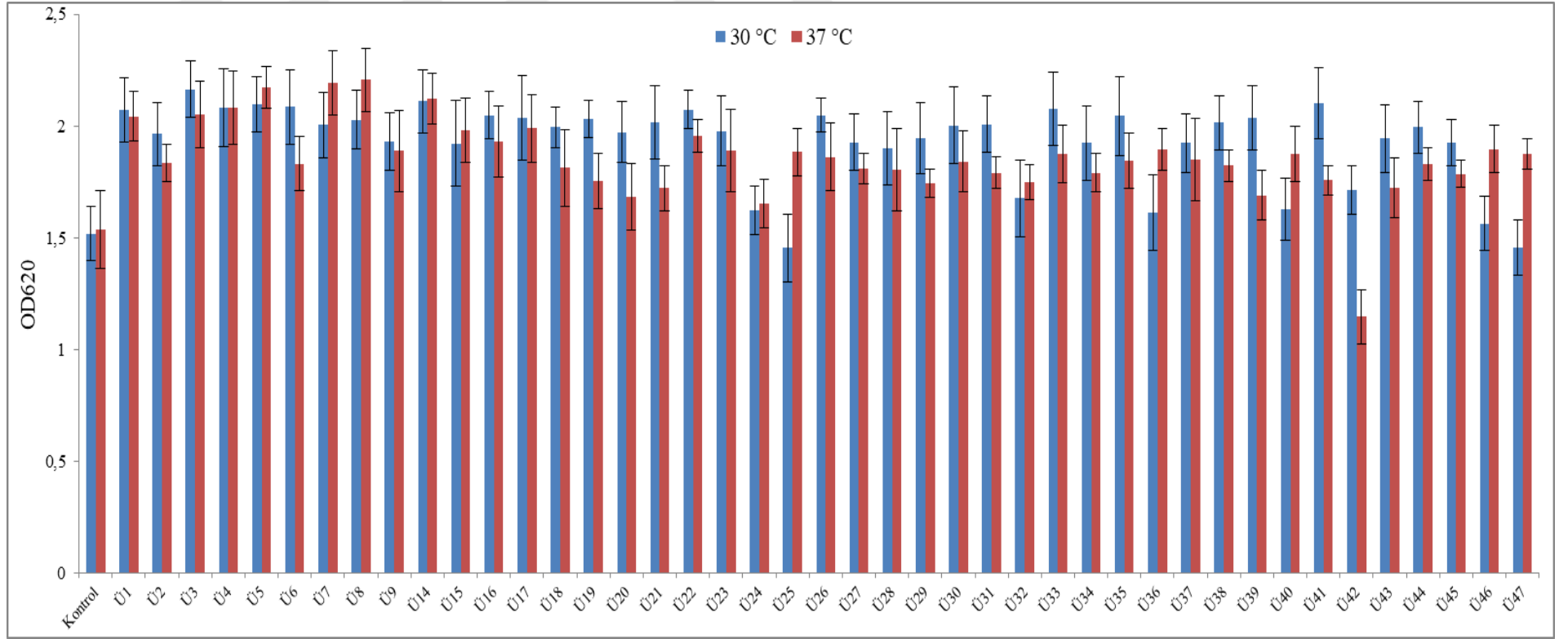
Tablo 4.1. 37 °C sıcaklıkta daha iyi gelişim gösteren izolatlar

İzolat	30 °C	37 °C
Ü25	1,454±0,153	1,883±0,108
Ü36	1,613±0,171	1,894±0,094
Ü40	1,628±0,139	1,874±0,124
Ü46	1,564±0,121	1,897±0,106
Ü47	1,458±0,123	1,874±0,067
Z38	1,033±0,114	1,549±0,13
P40	1,213±0,117	1,602±0,141

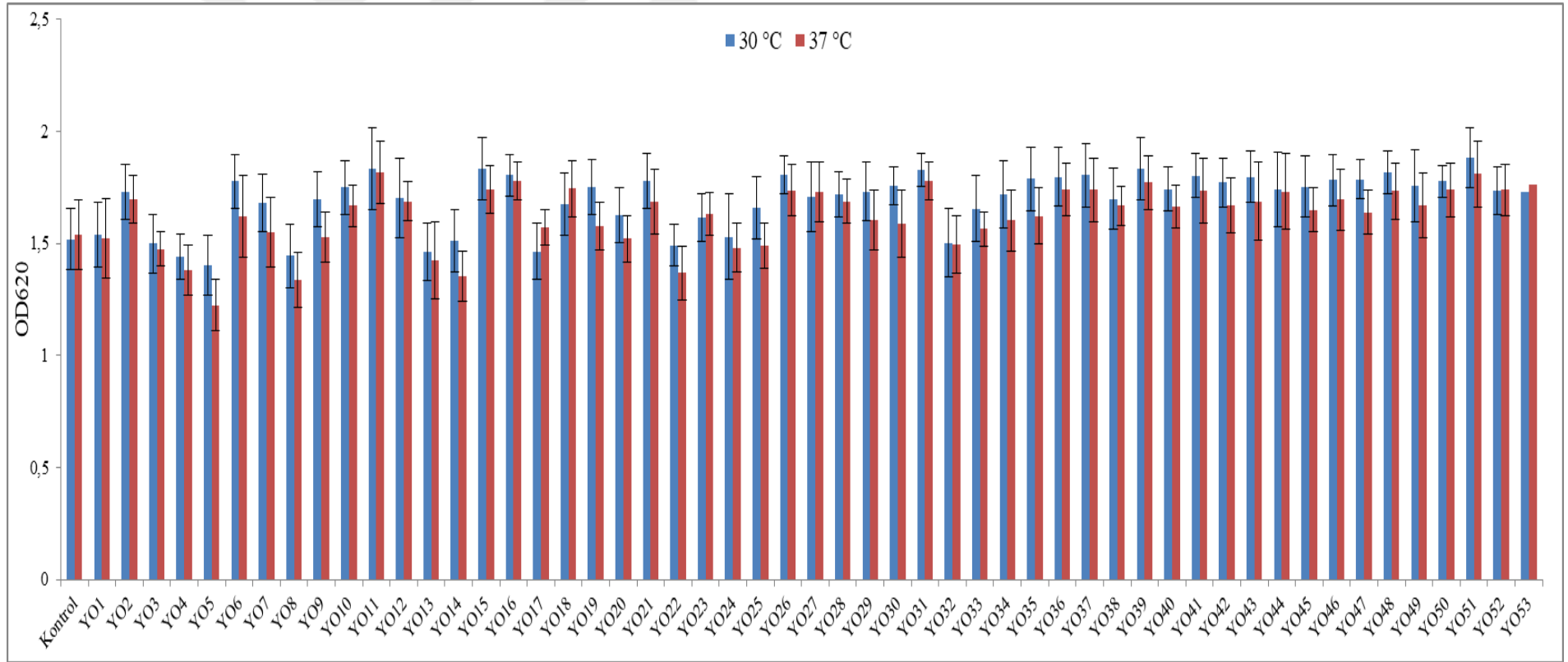
30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Denenen mayaların 37 °C sıcaklıktaki gelişimleri kontrol (*Saccharomyces boulardii* CNCM i-745, OD 1,537±0,113) ile karşılaştırıldığında genel olarak üzüm (ort. 1,859±0,175) ve yoğurt (ort. 1,624±0,134) (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3) izolatlarının kontrolden daha yüksek OD değerleri elde ettiği bulunmuştur.

Sıcaklık, maya gelişimini etkileyen en önemli fiziksel parametrelerden biridir. Mayalar bakteriler kadar ekstremofiller canlılar olarak görülmeseler de psikrofil ve termotolerant maya türleri bulunmaktadır. Bu türler kenarda tutulursa genellikle 20-25°C arasındaki sıcaklıklar maya gelişimi için optimum sıcaklıklardır (Buzzini ve ark., 2018; Yalçın ve Özbaş, 2008). 35 °C ve üzeri gibi yüksek sıcaklıklar mikrobiyal gelişimi olumsuz etkileyebilmekle birlikte bu sıcaklıklarda maya hücreleri çeşitli genleri aktive ederek, fizyoloji ve metabolizmayı düzenleyerek şartlara uyum sağlamaya çalışırlar. Yüksek sıcaklıklara adaptasyon türe ve suşa bağlı olabilmektedir (Alvarez ve ark., 2023). Dolayısıyla çalışma kapsamında 37 °C’de gelişim göstermeyen, sucuk ve sirke ortamına adapte olmuş maya türlerinin yüksek sıcaklıklarda gelişim için gerekli metabolik aktiviteyi gösteremediğinden bahsedilebilir. Öztürk ve Sağdıç (2014), sucuk üzerine yaptıkları çalışmalarında izole ettikleri maya kültürlerinin 37 °C’de gelişim göstermediğini bildirmişlerdir. Mayalar için uygun sıcaklık 20–25°C olmakla birlikte probiyotik olarak nitelendirilecek olan kültürlerin vücut sıcaklığında (37°C) iyi gelişim göstermeleri ve metabolik aktivitelerini muhafaza etmeleri beklenmektedir (Ogunremi ve ark., 2015). Buna göre, test edilen izolatlar arasından 30 °C ve 37 °C’ deki gelişimleri arasında fark olmayan ve 37 °C’ de daha iyi gelişim gösterenlerin bu kriteri karşıladığından bahsedilebilir. Bunun yanında izolatların gelişim durumları kontrol (*S. boulardii*) ile karşılaştırıldığında bazı izolatların aynı inkübasyon süresi sonunda daha yüksek OD değerleri aldığı görülmektedir. OD ölçümünün, ortamın bulanıklığının bir ifadesi olması, mikrobiyal hücrelerin ve hücre parçalarının (genellikle 600 nm dalga boyundaki) ışınları dağıtması esasına dayanması, absorbans miktarının ortamda bulunan hücre miktarı/biyokütle ile korele olması (Luong ve ark., 2011) göz önünde bulundurulduğunda, yüksek OD değerlerinin, aynı süre içerisinde, yüksek mikrobiyal gelişmeyi işaret ettiği ve dolayısıyla bunu sağlayan kültürlerin daha fazla biyokütle üretebileceğinden bahsedilebilir. Biyokütle üretimi mikrobiyal prosesler ve dolayısıyla probiyotikler için, hammadde ürün dönüşümünde verimliliği belirlemesinden dolayı önemli teknolojik özelliklerden biri olarak sayılmaktadır (Staniszewski ve Kordowska-Wiater, 2021). Elde edilen verilere göre genel olarak üzüm ve yoğurt izolatları yüksek biyokütle oluşturabilme özellikleri sebebiyle bu bağlamda öne çıkmışlardır.



Şekil 4.2.Üzüm izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklardaki gelişim durumları



Şekil 4.3. Yoğurt izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklardaki gelişim durumları

4.3. Farklı pH Değerlerinde Gelişme

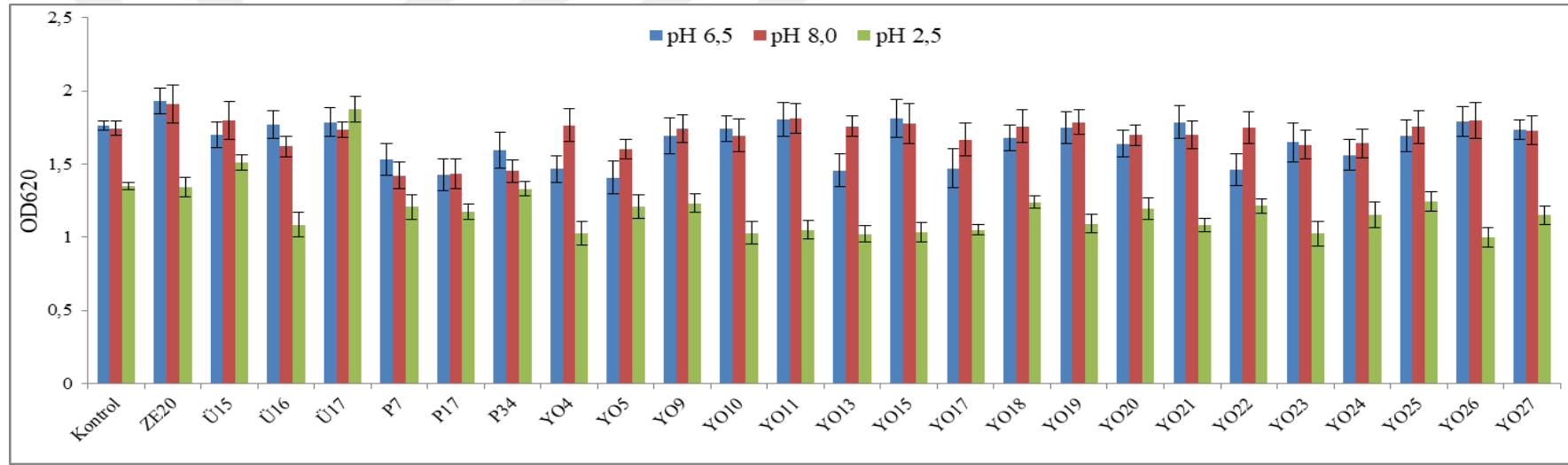
Farklı pH değerlerinde gelişme denemelerinde 37 °C sıcaklıkta iyi gelişim gösteren izolatlar kullanılmıştır (Ek 12). Seçilen izolatlar pH değerleri pH 8,0-6,5-2,5 olan YPD sıvı besiyerlerine ekilerek 37 °C de 4 gün süre ile inkübe edilmiş ve süre sonunda OD değerleri ölçülmüştür. Denemeler sonucunda; izolatların tamamı (%100) pH 8,0 besiyerinde iyi gelişim göstermişlerdir. Denenen pH derecesinin mayalar üzerinde gelişimi baskılayıcı etkisi olmamıştır. İzolatların %87'sinde pH 6,5 ve pH 8,0 gelişimleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). pH 6,5 gelişim değerlerine göre pH 2,5, Ü17 izolatı hariç, izolatların gelişiminde baskılayıcı etki göstermiştir ($p<0,05$)(Ek 14). Deneme sonunda üzüm meyvesinden 3 izolat, salamura zeytin örneğinden 1 izolat, yoğurt örneğinden 43 izolat, peynir örneğinden 3 izolat olmak üzere toplamda 190 izolattan 50'si iyi gelişme ($OD_{620}> 1,000$) göstermiştir (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5) (Ek 15). pH dayanımı açısından izolatlar arasında önemli derecede varyasyon bulunmaktadır ($p<0,01$). Ü15 ($OD 1,512$), Ü17 ($OD 1,874$), YO28 ($OD 1,527$) izolatları kontrole ($OD 1,349$) göre anlamlı düzeyde daha iyi gelişim göstermişlerdir ($p<0,05$). İzolasyon kaynakları açısından bakıldığında gilaburu, besiyeri, kefir, peynir ve üzümünden elde edilen suşların büyük çoğunluğu düşük pH ortamına karşı dayanıksız, yoğurt izolatlarının ise genel olarak asitliğe dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Ek 14). pH 2,5 ortamında iyi gelişim gösteren izolatların %86'sını yoğurt izolatları oluşturmuştur.

Sindirim yolu (mide ve ince bağırsak) farklı pH değerlerine sahip ve çoğu mikroorganizma için inhibe edici özellikte bir ortamdır. Midede salgılanan HCl ile pH 2,5 ve altına değerlere inebilirken bağırsağa salgılanan safra tuzları ve pankreas sıvısı ile pH 8,0 düzeylerine çıkabilmektedir. Mayalar genel olarak geniş bir pH aralığındaki ortamlarda gelişebilmektedir. Mayalar için genel olarak optimum pH aralığı 4,5–5,5 olmakla birlikte, uç pH değerlerinde gelişebilen türler bulunmaktadır (*Wickerhamomyces anomalus* pH 2-12,4) (Buzzini ve ark., 2018). Mayalar için uç pH değerine sahip ortamlara direnç türe ve suşa özgüdür. Aynı tür içerisinde farklı suşlar bu özelliğe sahip olabilir. Bu bağlamda izolasyon için kullanılan süt ürünleri (kefir, peynir, yoğurt) ve bu ürünlerde yaygın olarak bulunan *Kluyveromyces* cinsine ait türlerin bulunma olasılığı ve bu türlerin asitli ortamda iyi gelişim gösteriyor olmaları (Karim ve ark., 2020, Galli ve ark., 2022) göz önünde tutulursa incelenen izolatlar arasında yoğurt izolatlarının düşük pH değerlerinde daha iyi gelişim göstermeleri, izolasyon kaynağının ekşitilmiş yoğurt olması ve asit toleransı daha yüksek olan tür/suşların ekşi yoğurt içerisinde baskın hale gelme olasılığı ve izolasyon aşamasında bu kültürlerin elde

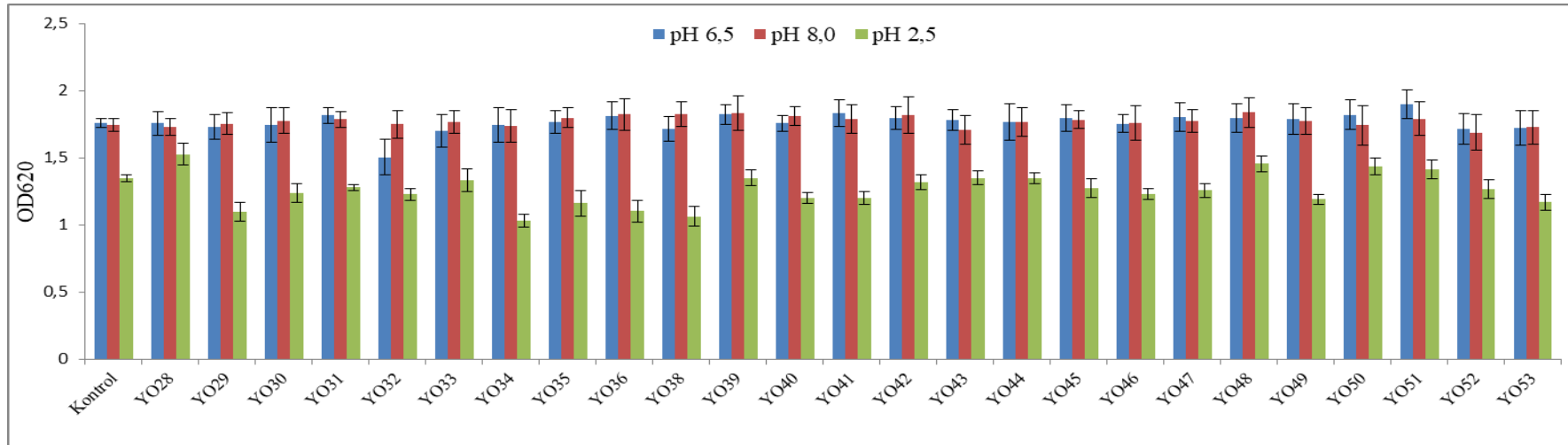
edilmiş olması ile açıklanabilir. Fadda ve ark. (2017), peynirden izole ettikleri *Kluyveromyces* mayalarının düşük pH koşullarına dayanıklı olmalarını, mayaların adapte oldukları bu gıdaların genellikle asidik karakterde olmaları ve bu gıdalarda mayaların laktik asit bakterileri ile birlikte bulunmaları ile açıklamışlardır. Ancak bu çalışma kapsamında denenen peynir izolatlarının büyük çoğunluğu düşük pH ortamında gelişim göstermemiştir. Bu durum pH toleransının suşa bağlı olması ile açıklanabilir. Bunun yanında denemeler sonunda elde edilen bulgular benzer izolasyon kaynakları kullanılarak yapılan bazı çalışmalarla (Şanlıdere Aloğlu ve ark., 2016; Alvarez ve ark., 2023) benzerlikler göstermektedir.

Probiyotik mikroorganizmalar için mide ve bağırsak gibi pH açısından zorlayıcı ortamlarda hücrelerin metabolik aktivitelerini koruyabilmeleri sahip olmaları gereken önemli özelliklerden biridir ve probiyotik potansiyeli olduğu düşünülen hücrelerin sindirim yolundaki zorlayıcı koşullara dirençli olması ve kalın bağırsağa canlılığını koruyarak ulaşması beklenmektedir (Czerucka ve ark., 2007; Toscano ve ark., 2017). Yüksek asitli ortamda iyi gelişim gösterme yeteneği hücrelerin bulundukları ortama iyi adapte olabildiği ve hücre içi proton dengesini koruyabilecek mekanizmaları (Salas-Navarrete ve ark., 2023) iyi kullanabildiğini işaret etmektedir. Dolayısıyla denemeler sonunda pH toleransı yüksek bulunan izolatların farklı pH değerlerine sahip ortamlara adaptasyonunun yüksek olduğu ve bu izolatların vücuda alınması halinde mide/bağırsak geçişini daha rahat tamamlayabileceğinden söz edilebilir.

Vücut sıcaklığında gelişim ve pH toleransı probiyotik mikroorganizmaların sahip olmaları beklenen özelliklerdendir. Bu sebeple pH 2,5 ortamında gelişim göstermeyen izolatlardan sonraki denemeler için vazgeçilmiştir. Takip eden analizlerde düşük pH ve 37 °C sıcaklıkta iyi gelişim gösteren izolatlar kullanılmıştır.



Şekil 4.4. İzolatların pH 6,5, pH 8,0 ve pH 2,5 değerlerine sahip besiyerlerinde gelişim durumları

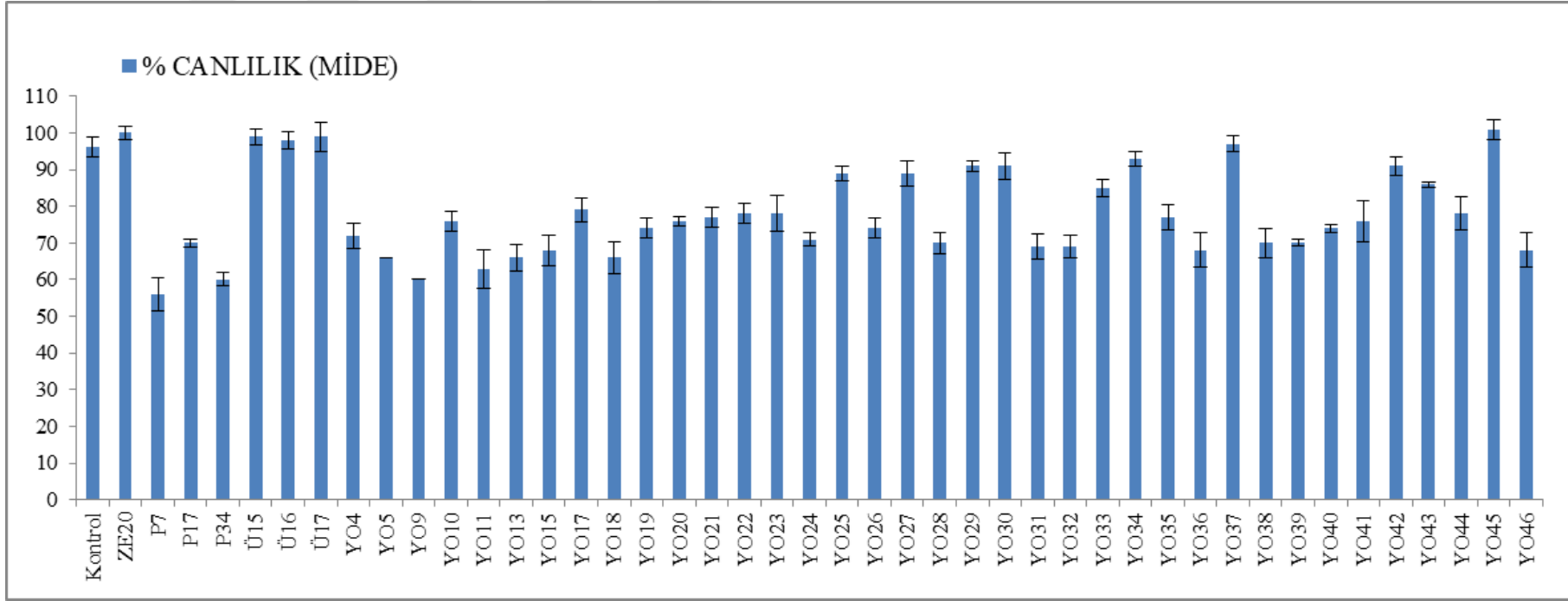


Şekil 4.5. İzolatların pH 6,5, pH 8,0 ve pH 2,5 değerlerine sahip besiyerlerinde gelişim durumları

4.4. Mide Koşullarına Dayanım

Önceki denemelerde 37°C de ve düşük pH ortamında metabolik aktiviteyi koruyarak iyi gelişim gösteren kültürler mide koşullarına dayanım testleri için seçilmiştir (Ek 15). Mide sıvısını taklit etmek amacıyla hazırlanan HCl ve pepsin içeren çözeltide seçili izolatlar 90 dakika süreyle, mide hareketine benzetmek için çalkalayıcıda bekletildikten sonra canlılıkları belirlenmiştir. İzolatların canlılık değerleri kontrol olarak kullanılan *S. boulandii* ile kıyaslanmıştır. Elde edilen verilere göre izolatlar %56 ile %101 arasında canlılık oranları ile önemli derecede ($p<0,01$) farklılık göstermişlerdir (Şekil 4.6). Peynir izolatları %56-%70 oranları ile mide ortamında düşük canlılık göstermiş, yoğurt izolatları %60-%101 ile heterojenlik göstermişlerdir. Üzüm izolatları %98-%99 oranı ile yüksek canlılık göstermişlerdir. Ü15, Ü16, Ü17 ve YO 37 kültürleri %97-%99 oranı ile kontrolden (%96) daha yüksek canlılık göstermişler, ZE20 ve YO45 kültürleri %100 ve üzeri canlılık oranı ile denemede inhibisyona uğramamışlardır (Ek 16). İstatistiksel olarak canlılık oranları açısından ZE20, Ü15, Ü16, Ü17, YO25, YO27, YO29, YO30, YO34, YO37, YO42, YO45 izolatları ile kontrol arasındaki fark önemsiz bulunmuştur.

Probiyotik suşların sağlaması beklenen önemli özelliklerden bir tanesi sindirim yolundan geçerken canlılıklarını kaybetmeden kalın bağırsağa ulaşmalarıdır. Sindirim yolunu ağızdan sonra mide ile devam etmekte ve mide düşük pH ve pepsin gibi enzimleri barındırması açısından mikrobiyal hücreler için son derece zorlayıcı bir ortam oluşturmaktadır. Probiyotik hücrelerin hedefe ulaşip beklenen etkilerini gösterebilmeleri için mide ortamında hücre bütünlüklerini korumaları ve metabolik aktivitelerini devam ettirmeleri gerekmektedir (Amorim ve ark., 2018). Elde edilen sonuçlar sütte bulunan mayalar üzerine yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Chen ve ark. (2010) süttten izole ettikleri mayaların mide sıvısı dayanımlarının yüksek varyasyon gösterdiğini ve canlılığın en fazla %83 civarında olduğunu bulmuşlardır. Şanlıdere Aloğlu ve ark. (2016) peynir ve yoğurttan elde ettikleri mayaların, Galli ve ark. (2022) fermente süttten elde ettikleri mayaların dayanımları arasında önemli fark olduğunu ve bazı izolatların deneme sonunda hücre sayılarının arttığını bildirmişlerdir. YO45 izolatının gösterdiği %101'lik canlılık oranı, benzer şekilde deneme süresince hücre sayısının arttığına işaret etmektedir.



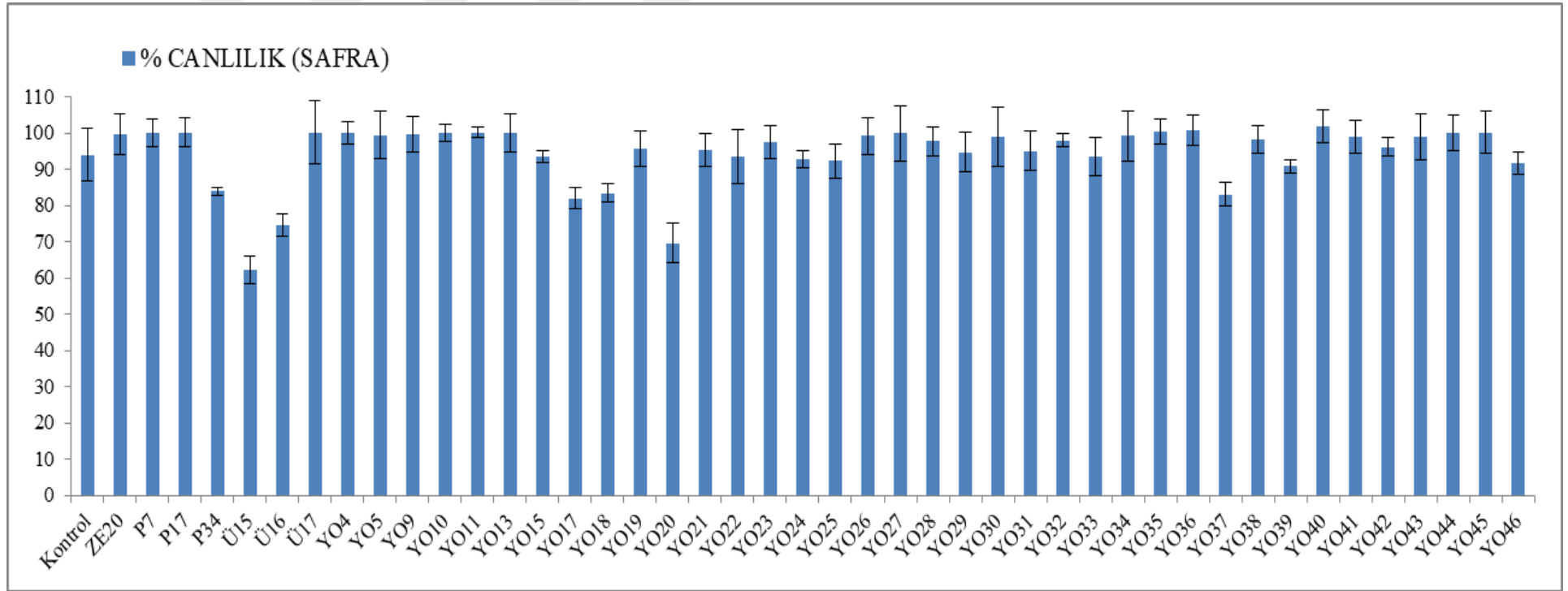
Şekil 4.6. İzolatların mide sıvısı denemelerinde gösterdikleri % canlılık oranları

Deneme sonunda elde edilen canlılık değerlerine göre ZE20, Ü15, Ü16, Ü17, YO25, YO27, YO29, YO30, YO34, YO37, YO42, YO45 izolatları kontrol olarak kullanılan ticari probiyotik *Saccharomyces boulardii* ile benzer veya daha iyi sonuçlar elde ederek öne çıkmışlardır. Söz konusu izolatların probiyotik olarak kullanım ihtimali göz önünde tutulursa tüketilmeleri halinde mide geçişini rahat tamamlayabileceğinden bahsedilebilir.

4.5. Safra Tuzları ve Pankreas Enzimlerine Dayanım

Safra tuzları ve pankreas enzimlerine dayanım denemeleri için 37°C de ve düşük pH ortamında iyi gelişim gösteren kültürler kullanılmıştır. Safra tuzları, pankreatin enzimleri ve NaCl ile hazırlanan yapay sıvı pH 8,0' e ayarlandıktan sonra izolatlar bu çözelti içerisinde 3 saat süre ile bekletilmiş ve süre sonunda canlı hücre sayıları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre izolatlar %62-%100 aralığında canlı kalmışlardır (Şekil 4.7). Genel olarak izolatların gösterdikleri %80 ve üzeri canlılık değerleriyle safra dayanımlarının yüksek olduğu belirlenmiştir. Ü15, Ü16, YO20 izolatları ise bu değerin altında canlılık göstermişlerdir. ZE20, P7, P17, Ü17, YO4, YO5, YO9, YO10, YO11, YO13, YO27, YO35, YO36, YO40, YO44, YO45 kültürleri %100 oranıyla canlı kalarak deneme sıvısından etkilenmemiş, YO15, YO19, YO21, YO22, YO23, YO26, YO28, YO29, YO30, YO31, YO32, YO33, YO34, YO38, YO41, YO42, YO43 kültürleri ise kontrol ile aynı veya daha yüksek canlılık göstermişlerdir (Ek 17).

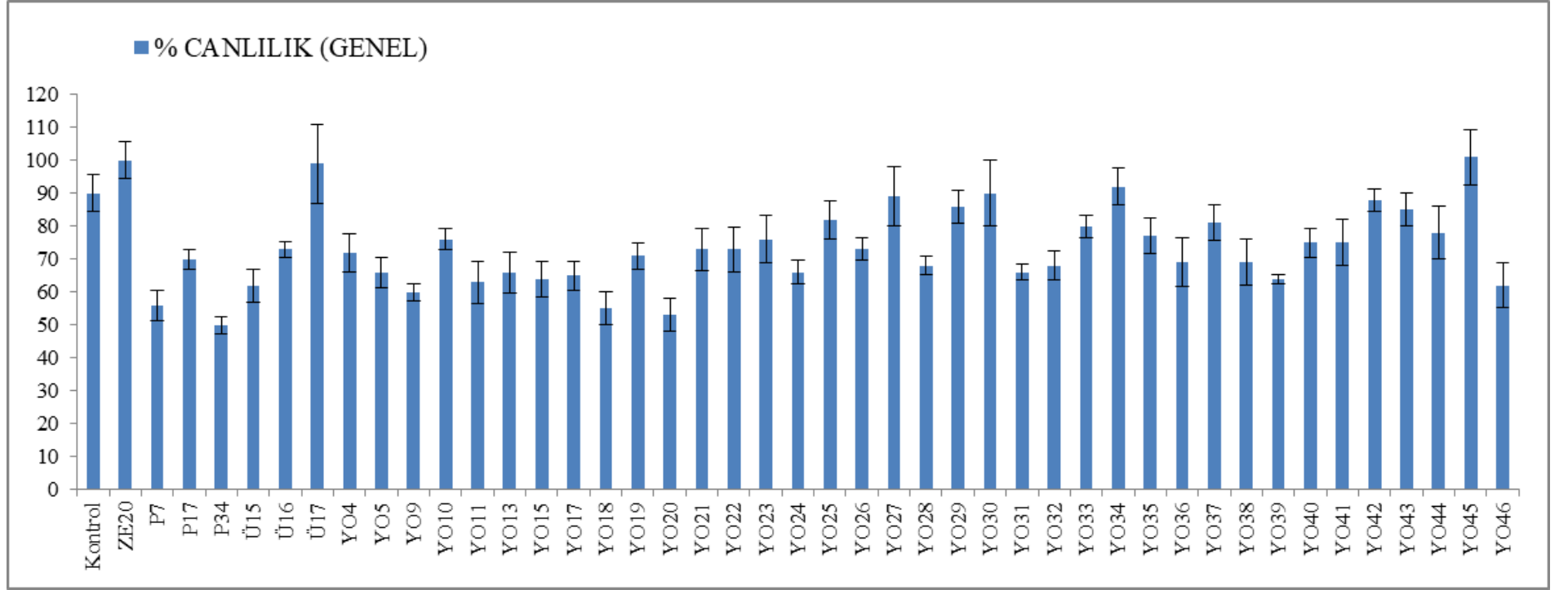
Test edilen mayaların genel olarak safra sıvısına dayanımları mide sıvısına göre daha yüksek bulunmuştur. Ü15 ve Ü16 için ise tam tersi bir durum gözlenmiştir. Merchán ve ark. (2020) peynirden izole ettikleri mayaları araştırdıkları çalışmalarında mayaların büyük çoğunluğunun safra sıvısı dayanımlarının mide sıvısına göre daha yüksek olduğunu belirtmiş, Zullo ve Ciafardini (2019) zeytinyağından izole ettikleri mayalar ve Alvarez ve ark. (2023) üzümünden izole ettikleri mayalar için ise tersi sonuçlar rapor etmişlerdir. Bu durum mayalar için mide ve safra dayanımının tür/suşa bağlı olmasının yanında adapte olunan ortam/izolasyon kaynağı ile de alakalı olabileceğine işaret etmektedir.



Şekil 4.7. İzolatların safra sıvısı ve pankreatin denemelerinde gösterdikleri % canlılık oranları

Sindirim yolunda mikrobiyal hücrelerin mideden sonra karşılaştıkları zorlu koşullara sahip ortam ince bağırsaktır. Midedeki yüksek asitli ortamdan bağırsağa ulaşan hücreler burada alkali pH değerine (pH 8,0) sahip, safra tuzları ve tripsin, lipaz, amilaz gibi pankreas enzimlerinin bulunduğu ortam ile karşılaşır. Probiyotiklerin kalın bağırsağa ulaşip etkili olabilmeleri için mide ortamında olduğu gibi bağırsak girişinde de hücre bütünlüğü ve metabolizmalarını korumaları gerekmektedir (Zullo ve Ciafardini, 2019). Elde edilen sonuçlara göre istatistiksel olarak canlılık oranları açısından (Ü15, Ü16, YO17, YO18, YO20, YO37 hariç) izolatlar ile kontrol arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Söz konusu izolatların probiyotik olarak kullanım ihtimali göz önünde tutulursa tüketilmeleri halinde bağırsak geçişini rahat tamamlayabileceğinden bahsedilebilir.

İnsanlarda gastrointestinal sistemde, beslenme sonrası mide sıvısının salgılanması ile midede genel olarak pH 2,5 ila 3,5 arasında değişmektedir. Açlık durumunda ise pH 1 düzeylerine kadar inebilmektedir. Bu düşük pH değerleri çoğu mikroorganizma için canlılığın sürdürülemediği seviyelerdir. Bağırsak ise pH açısından mide kadar inhibe edici olmasa da içerdiği safra tuzları sayesinde hücreler için baskılayıcı etki yapmaktadır. Bağırsağa salınan safra, lipidleri emülsifiye edebilen ve antimikrobiyel aktiviteye sahip taurokolik ve deoksikolik gibi asitlerin tuzlarını içeren sindirim sıvısıdır. Mide sıvısı ve safra vücuda giren mikroorganizmalar için canlılığı belirleyen önemli etmenlerdir. Hücreler gastrointestinal sistem koşulları ile mide ortamında hücre içerisine proton girişini engelleyerek veya sınırlayarak ve safra ile karşılaştıklarında safrayı dışlayarak ve safra tuzlarını hidrolize ederek mücadele ederler. Bu koşullara karşı direnci yüksek olanlar kalın bağırsağa ulaşabilmekte ve kolonize olabilmektedir. Dolayısıyla probiyotik olma potansiyeli olan mikroorganizmaların seçiminde gastrointestinal sistem dayanımı önemli bir kriterdir. Gastrointestinal sistem dayanımı suşa bağlı bir özelliktir. Aynı türe ait farklı suşlarda bu dayanıklılık değişiklik gösterebilmektedir. Konu ile ilgili yapılmış çalışmalarda bu farklılıklar ortaya konmuş ve bazı araştırmacılar gastrointestinal sistem dayanımı için %70 hayatta kalma oranının potansiyel probiyotikleri seçmek için yeterli olabileceğini belirtmişlerdir (Czerucka ve ark., 2007; Silva ve ark., 2011; Ogunremi vd., 2015; Toscano ve ark., 2017; Fadda ve ark., 2017; Alkalbani ve ark., 2022). Suşların mide ve safra dayanımları genel olarak bir arada değerlendirilecek olursa, yapılan denemeler sonunda suşların sindirim yolu dayanımları %50-%101 aralığında değerler almıştır (Şekil 4.8).



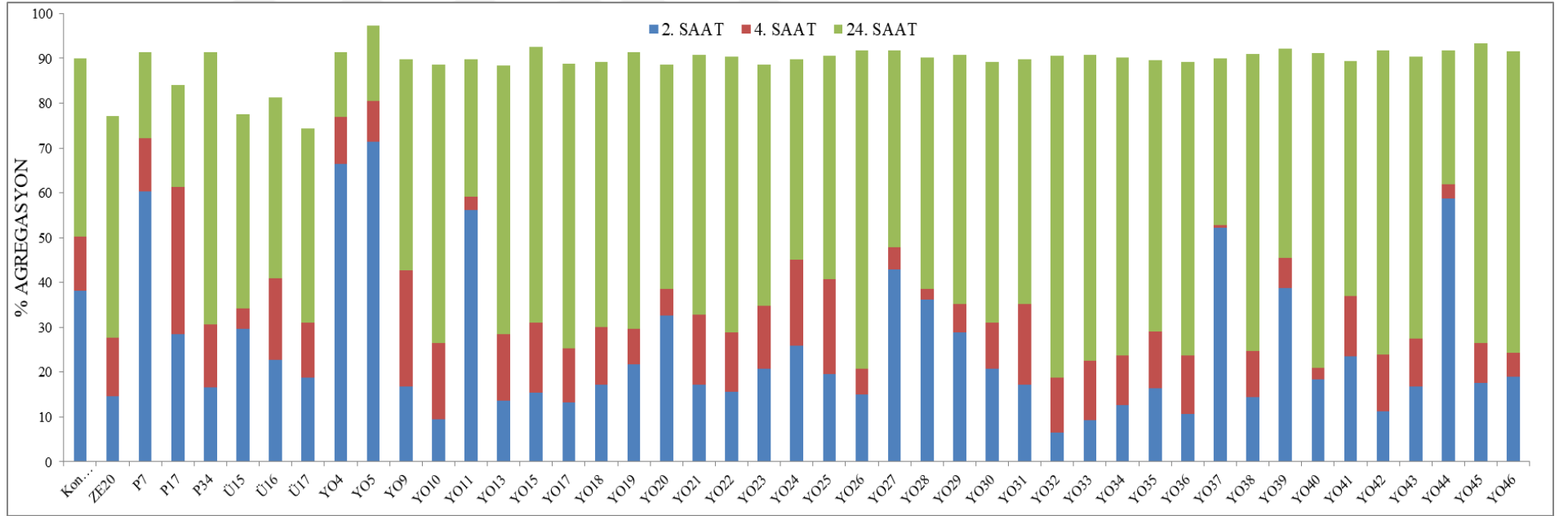
Şekil 4.8. İzolatların genel olarak mide, safra sıvısı ve pankreatin denemelerinde gösterdikleri % canlılık oranları

İzolatların %59' u %70 ve üzeri canlılık göstermişlerdir. Kontrol %90 oranında canlılık gösterirken, ZE20, Ü17, YO45 suşları denemelerde en yüksek düzeyde canlı kalmışlardır. İstatistiksel olarak ise ZE20, Ü17, YO25, YO27, YO29, YO30, YO33, YO34, YO37, YO42, YO43, YO45 izolatları ile kontrol arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (Ek 18). Söz konusu izolatlar gösterdikleri yüksek canlılık oranları ile önemli bir probiyotik kriterini karşılamışlardır.

4.6. Otoagregasyon Yeteneği

Çalışmada otoagregasyon denemeleri için 37°C'de ve düşük pH ortamında iyi gelişen izolatlar kullanılmıştır. Kültürler ön işlemlerden sonra 10 mL PBS içinde süspanse edilmiş ve agregasyon oluşumu için kendi haline bırakılmıştır. Kümelenen hücrelerin çökmesi sonucu süspansiyonun berraklaşan üst kısımlarından belli aralıklarla spektrometrik ölçümler ile agregasyon takip edilmiştir. Buna göre; suşların otoagregasyon değerleri ilk iki saatlik süre sonunda %7-%66 (YO32 ve YO4) aralığında belirlenmiş, kontrol otoagregasyon değeri %38 olarak bulunmuştur. Dört saatlik süre sonunda ise %19-%77 (YO32 ve YO4) aralığında ve kontrol için %50, 24 saat sonunda ise %74-%95 (Ü17, YO51) aralığında ve kontrol için %90 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.9). 2, 4 ve 24 saatlik deneme sürelerinde izolatların otoagregasyon durumları elde edilen verilere göre yüksek varyasyon göstermiştir ($p<0,01$). 2 saatlik deneme için Ü15, YO20, YO27, YO28, YO39 izolatları ile kontrol arasındaki fark önemsiz bulunmuş, P7, YO4, YO5, YO11, YO37, YO44 ise kontrole göre daha yüksek oranlar yakalamıştır. 4 saatlik deneme sonunda P7, P17, YO4, YO5, YO11, YO44 kontrole göre daha yüksek oranlar yakalamış, YO24, YO27, YO37, YO39 ile kontrol arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (Ek 19). 24 saatlik deneme sonunda Ü15 (%78), Ü16 (%81), Ü17 (%74), ZE20 (%77), P17 (%84) nispeten düşük agregasyon oranları gösterirken, diğer izolatlar ile kontrol (%90) arasındaki fark önemsiz bulunmuştur.

Kabaca hücrelerinin birbirlerine tutunarak kümelenmesi süreci olan agregasyon mayalarda farklı şekillerde oluşabilmektedir. Agregasyon bazı maya suşlarında, çevresel veya fizyolojik değişikliklere yanıt olarak ortaya çıkabilir, eşeyli üremede mating sürecinin bir parçasıdır, flokülasyon olarak bilinen olumsuz çevre koşullarına karşı geri dönüşümlü bir kümelenme durumu olabilir ve biyofilm oluşturarak yüzeylere tutunma şeklinde oluşabilmektedir. Agregasyon sayesinde maya hücreleri farklı ortamlarda kolonize olarak zorlu koşullara karşı direnç kazanabilirler (Vallejo ve ark., 2013).



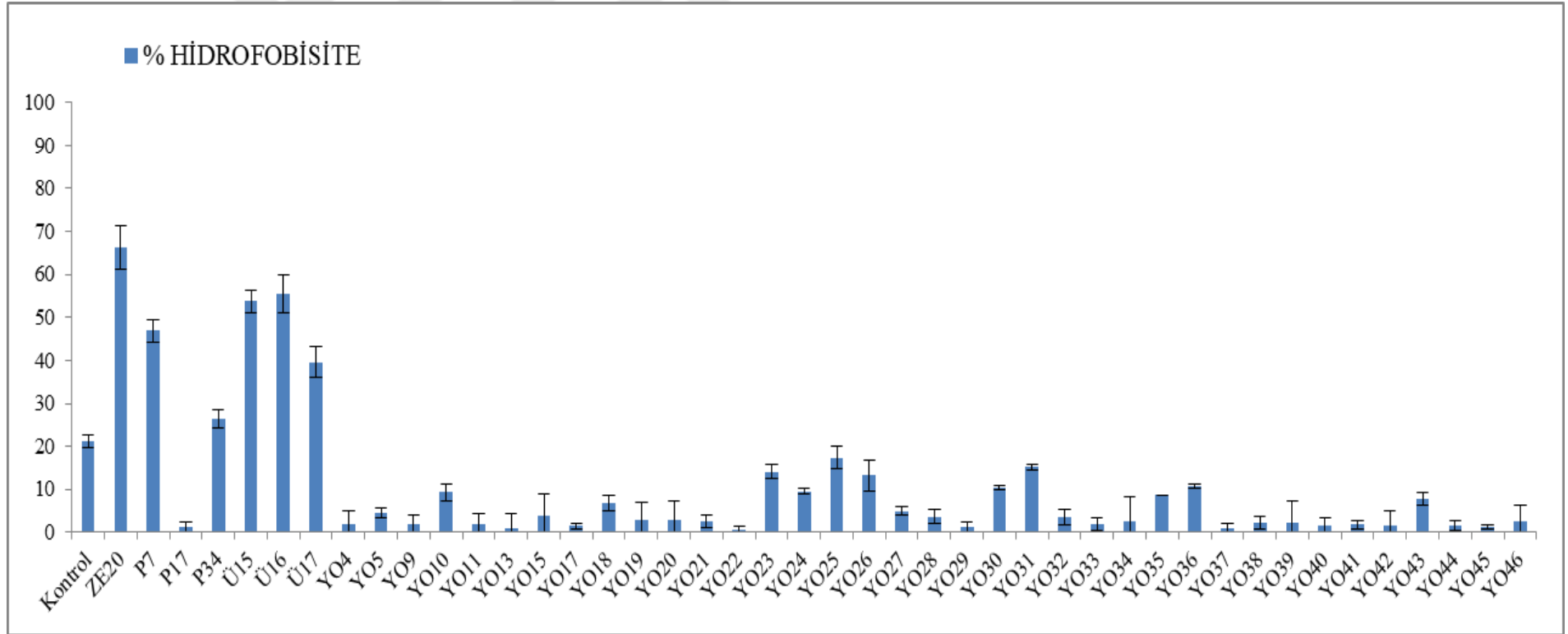
Şekil 4.9. İzolatların 2, 4 ve 24 saat sonunda gösterdikleri % otoagregasyon oranları

Agregasyon hücre yüzeyinin fizikokimyasal özellikleri, lektin benzeri proteinleri (adheziner, zimolektinler, flokülünler) kodlayan genlerin varlığı ve ortamda bulunan Ca^{+2} , mannoz gibi bazı maddelere bağlı olarak gerçekleşir. Agregasyonda hücre yüzey molekülleri önem arz eder ve bu moleküller suşlar arasında değişiklik gösterebildiği için kümelenme durumu suşa bağlı bir özellik olabilir. Sonuç olarak agregasyon, hücrelerin birbirine tutunarak kümelenmesi ve oluşan kitlenin bağırsaktaki peristaltik hareketlere karşı koyarak tutunabilmesine sebebiyet vermesi açısından probiyotiklerin bağırsakta kolonileşebilmesi ve etkili olabilmesi için sahip olmaları gereken özelliklerden biri olarak kabul edilmektedir (Gil-rodríguez vd., 2015; Amorim ve ark., 2018).

Otoagregasyon denemesi sonuçları 2 ve 4 saatlik süreler için yüksek varyasyon göstermiştir. Elde edilen sonuçlar konu ile ilgili yapılan diğer çalışmalarla benzerlikler göstermektedir (Suvarna ve ark., 2018; Amorim ve ark., 2018; Göktaş ve ark., 2021; Alvarez ve ark., 2023). İzolatlar arasındaki varyasyonlar söz konusu çalışmalarda belirtildiği gibi agregasyon yeteneğinin suşa bağlı bir özellik olması ile açıklanabilir. Bunun yanında bazı araştırmacılar (Menezes ve ark., 2020; Alvarez ve ark., 2023) %60 ve üzeri agregasyon değerlerinin yüksek olarak kabul edilebileceğini, bazılarının (Pizzolitto ve ark., 2013; Amorim ve ark., 2018) ise %80 ve üzeri agregasyon değerlerinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Buna göre denenen izolatların büyük çoğunluğunun yüksek agregasyon kapasitesine sahip olduğu söylenebilir. Agregasyonun zorlu çevre koşullarına karşı hücrelere direnç kazandırma durumu göz önünde tutulursa daha kısa sürede kümeleşebilen kültürlerin ortam dayanımı açısından diğerlerine karşı bir avantaj sağlayabileceğinden bahsedilebilir. Bu bağlamda 2 saatlik süre için kontrole göre daha yüksek otoagregasyon değerleri elde etmiş olan P7, YO4, YO5, YO11, YO37, YO44 izolatlarının ortam direnci açısından diğer izolatlardan daha avantajlı konumda olabileceği söylenebilir.

4.7. Hidrofobisite

İzolatların bağırsak yüzeyine tutunma yeteneklerinin bir ölçüsü olan hidrofobisiteyi belirlemek amacıyla izolatlar, PBS içinde çözündürüldükten sonra ksilen ile muamele edilmiş, su ve ksilen fazlara ayrıldıktan sonra hücrelerin hangi oranda ksilen fazında kaldığı spektrometrik olarak belirlenmiştir. Deneme sonuçlarına göre suşların % hidrofobisite değerleri %1 ile %66 arasında sıralanmış kontrol %21 hidrofobisite göstermiş ve en hidrofobik suş ZE20 (%66) olmuştur (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. İzolatların ksilen ile muamele sonrasında gösterdikleri % hidrofobisite oranları

Denenen izolatların %86' sı hidrofobisite açısından kontrolün gerisinde kalmıştır. P17 ve yoğurt izolatları %1-%17 aralığı ile zayıf hidrofobik özellik göstermiştir. ZE20, P7, P34, Ü15, Ü16, Ü17 izolatları ise %26-%66 aralığı ile kontrolden daha yüksek değerler almıştır. YO25 ve YO31 ile kontrol arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (Ek 20).

Hidrofobisite, agregasyon gibi, hücre yüzeyi ile ilgili bir özellik olup mikroorganizma ve konakçı hücreler arasındaki spesifik olmayan bir etkileşim olarak tanımlanır ve bu süreçte hücre yüzeyi proteinleri ve lipoteikoik asitler rol oynar. Hidrofobisite tür ve suşa özel bir durum olup mikrobiyel hücrelerin bağırsak mukozasına yapışabilmesini sağlayan ve böylece kalıcılığı arttırıp bağırsakta kolonileşebilmeyi sağlayan bir özelliktir (Fadda ve ark., 2017; Gut ve ark, 2019). Hidrofobisite probiyotikler için önemli özelliklerden olup kısıtlı bir süre için bile olsa probiyotik hücrelerin bağırsak epiteline yapışmasına katkı sağlar. Probiyotiklerin bağırsak dengesinin sağlanmasındaki esas rolleri patojenler ile rekabete girerek onların bağırsak epiteline yapışmalarını önlemek ve çeşitli metabolitler üreterek patojenlerin yayılımını engellemektir (Toscano ve ark., 2017; Kourelis ve ark., 2010). Bu bağlamda yüksek hidrofobisite özelliği probiyotik potansiyeline sahip suşların taşınması gereken bir özelliktir. Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre ZE20 (%66), P7 (%47), P34 (%26), Ü15 (%54), Ü16 (%56), Ü17 (%40) izolatları hidrofobik özellik açısından kontrolden daha yüksek değerler elde ederek öne çıkmışlardır. Söz konusu suşların vücuda alınmaları halinde kolayca bağırsak yüzeyine tutunarak kolonileşme ile beklenen diğer etkileri gösterebilecekleri ileri sürülebilir. Bunun yanında bağırsak yüzeyine yapışma yeteneği düşük olan bazı probiyotik suşların patojenlerin yüzeye tutunmasını azaltabildiği bildirilmiştir (Fadda ve ark., 2017). Bu bağlamda bu çalışma kapsamında denenen hidrofobik yeteneği düşük olan yoğurt izolatlarının patojenler üzerinde etkili olabilme ihtimalinin var olabileceği düşünülebilir.

Agregasyon ve hidrofobisite probiyotik hücrelerin yüzey özelliklerini belirlemek için birlikte araştırılan özelliklerdir ve konu ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda bu iki özellik arasında korelasyon bulunmadığı belirtilmiştir (Binetti ve ark., 2013; Fadda ve ark., 2017; Gut ve ark, 2019). Benzer şekilde elde edilen veriler incelendiğinde yüksek agregasyon gösteren izolatların (yoğurt) düşük hidrofobisiteye sahip oldukları, düşük agregasyon gösteren bazı izolatların (üzüm) yüksek hidrofobisite gösterdikleri, bunun yanında bazı izolatların (P7 ve P34) iki özellik açısından yüksek değerlere sahip oldukları görülebilir. İzolatların agregasyon değerleri ve hidrofobisite değerleri kullanılarak yapılan regresyon analizi sonucunda 2, 4 ve 24 saatlik agregasyon değerleri için R değerleri sırasıyla 0,01, 0,04, 0,739 olarak elde edilmiştir.

Buna göre agregasyon ve hidrofobisite değerleri arasında 2 ve 4 saatlik süreler için korelasyon bulunmadığı söylenebilir.

4.8. Proteolitik ve Lipolitik Aktivite

Proteolitik ve lipolitik aktiviteyi belirlemek amacıyla izolatlar, uygun besiyerlerine nokta ekim ile yerleştirilmiş ve inkübasyon sonunda kolonilerin etrafında oluşan şeffaf zonlar incelenmiştir. Yapılan denemeler sonucunda proteolitik aktivite testinde kontrol ve izolatlar ayırt edilebilir şeffaf zon oluşturmamıştır. Lipolitik aktivite testinde ise kontrol olarak kullanılan *Saccharomyces boulardii* zon oluşturmamış, diğer izolatlar belirgin zonlar oluşturmuşlardır (Şekil 4.11). Analiz sonuçları Tablo 4.2’ de sunulmuştur. Deneme sonuçlarına göre ZE20, YO17, YO22, YO23, YO26, YO27, YO28, YO29, YO30, YO31, YO32, YO33, YO39, YO42, YO43, YO44, YO45, YO46 izolatlarının lipolitik aktivite açısından diğer izolatlara göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda proteolitik ve lipolitik aktivite için değişken sonuçlar rapor edilmiştir. Bonatsou ve ark. (2018) teste aldıkları tüm izolatlarda proteolitik ve lipolitik aktivite tespit etmiş, Ogunremi ve ark. (2015) proteolitik ve lipolitik aktivitenin suşa bağlı değiştğini belirlemiş, Gut ve ark. (2019) denedikleri suşların lipolitik aktiviteye sahip olmadıkları, farklı düzeylerde proteolitik aktivite gösterdiklerini belirtmiş, Wang ve ark. (2024) ise test ettikleri suşlarda proteolitik ve lipolitik aktivite tespit etmemişlerdir. Dolayısıyla çalışma kapsamından elde edilen sonuçlar proteolitik ve lipolitik aktivitenin tür ve suşa bağlı olması ile açıklanabilir.

Fermente gıdalarda bulunan mikroorganizmalar, salgıladıkları enzimler sayesinde gıdalarda bulunan kompleks molekülleri parçalayarak gıdaların sindirilebilirliğini ve besin değerini artırabilir ayrıca proteolitik ve lipolitik enzimler ile gıdaların duysal özelliklerini etkileyen aroma maddelerinin öncüllerini açığa çıkarabilirler. Bu sebeplerle starter kültürler için söz konusu enzimlerin üretimi önemli olmakla birlikte probiyotik potansiyeli olan fonksiyonel starterler için proteaz üretimi ayrıca bağırsak ortamında protein yapılı patojen toksinlerini parçalama ve bu toksinlerden kaynaklanabilecek rahatsızlıkları önlemede yardımcı olabilir (Ogunremi ve ark., 2015; Gut ve ark., 2019). Ancak bu görüşe karşıt olarak proteolitik aktivitenin bazı patojenlerin bağırsaktaki kolonizasyonunu artırabileceği ve bağırsak dokusuna zarar verebileceği belirtilerek proteolitik aktiviteye sahip olmayan kültürlerin güvenli olacağı savunulmuştur (Wang ve ark., 2024). Bunun yanında proteaz ve lipaz aktivitesine sahip mikroorganizmalar sindirim sisteminde lipid ve proteinlerin parçalanmasına katkıda bulabilirler (Oliveira ve ark., 2017). Bu bağlamda denenen izolatların gösterdikleri negatif

proteolitik aktivite ile tüketimlerinin güvenli olacağı ve gösterdikleri pozitif lipolitik aktivite ile tüketilmeleri halinde sindirime katkı sağlayacağı ve gıda üretimine dahil olmaları halinde elde edilecek gıdanın duyuşsal özellikleri üzerinde etkili olabileceğinden söz edilebilir.



Şekil 4.11. Ü17 ve YO4 izolatlarının lipolitik aktivite testinde oluşturdukları şeffaf zonlar

Tablo 4.2. İzolatların proteolitik ve lipolitik aktivite testi sonuçları

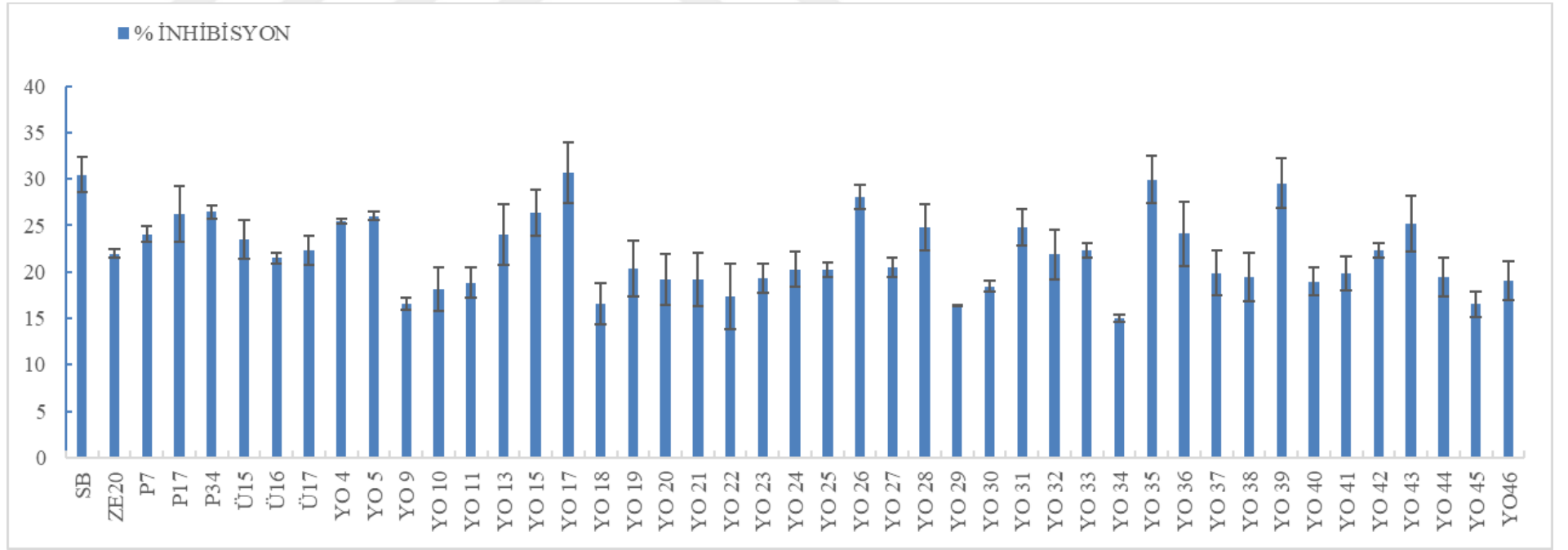
İzolat	Proteo	Lipo	İzolat	Proteo	Lipo	İzolat	Proteo	Lipo
Kontrol	-	-	YO17	-	++	YO32	-	++
ZE20	-	++	YO18	-	+	YO33	-	++
P7	-	+	YO19	-	+	YO34	-	+
P17	-	+	YO20	-	+	YO35	-	+
P34	-	+	YO21	-	+	YO36	-	+
Ü15	-	+	YO22	-	++	YO37	-	+
Ü16	-	+	YO23	-	++	YO38	-	+
Ü17	-	+	YO24	-	+	YO39	-	++
YO4	-	+	YO25	-	+	YO40	-	+
YO5	-	+	YO26	-	++	YO41	-	+
YO9	-	+	YO27	-	++	YO42	-	++
YO10	-	+	YO28	-	++	YO43	-	++
YO11	-	+	YO29	-	++	YO44	-	++
YO13	-	+	YO30	-	++	YO45	-	++
YO15	-	+	YO31	-	++	YO46	-	++

Proteo(litik) aktivite ve Lipo(litik) aktivite için, (-) zon oluşumu yok, (+) <3 mm zon çapı, (++) >3 mm zon çapı

4.9. Antioksidan Aktivite

Antioksidan aktivite, maya hücrelerinin DPPH radikalini indirgeme seviyeleri üzerinden % olarak belirlenmiştir (Ek 21). Elde edilen verilere göre suşların DPPH radikalini indirgeme seviyeleri kontrol için %30 değerini alırken izolatlar için %15-%31 (YO34, YO17) aralığında değerler almıştır (Şekil 4.12). İstatistiksel olarak izolatların % inhibisyon değerleri arasındaki farklılık önemli ($p<0,05$) bulunurken, peynir izolatları (P7, P17, P34) arasındaki fark önemsiz ($p>0,05$), üzüm izolatları (Ü15, Ü16, Ü17) arasındaki fark önemsiz ($p>0,05$), yoğurt izolatları (YO4-YO46) arasındaki fark önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Ayrıca P7, P17, P34, YO4, YO5, YO13, YO15, YO17, YO26, YO28, YO31, YO35, YO39, YO43 izolatları ile kontrol arasındaki fark önemsiz bulunmuştur.

Mayalar için antioksidan aktivitenin çeşitli enzimler (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi), ekzopolisakkaritler, lipitler, hücre duvarlarındaki β -glukan ve antioksidan peptitlerden kaynaklandığı ve antioksidan aktivite gösteren suşların bağışıklık sistemini modüle ederek ve oksidatif stresi azaltarak sağlık açısından fayda sağlayabileceği belirtilmektedir. Bu sebeple probiyotik mikroorganizmalar için antioksidan aktivite önemli bir özellik olarak ortaya çıkmaktadır (Wang ve ark., 2024; Rahimi ve ark., 2024). Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlara göre izolatlar antioksidan aktivite açısından farklılık göstermişler, genel olarak birkaç suş hariç (YO39, YO35, YO17) kontrolden daha düşük değerler almışlardır. Konu ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda antioksidan aktivite bakımından çeşitli sonuçlar elde edilmiştir. Wang ve ark., (2024) test ettikleri maya suşlarının antioksidan aktivitelerinin %93 gibi çok yüksek değerler alabildiğini, Göktaş ve ark., (2021) denedikleri izolatların aktivitelerinin %6-%30 aralığında olduğunu, Merchán ve ark., (2020) %11-%56, Gil-rodríguez ve ark., (2015) %19-%57 aralığında olduğunu, %30-%40 seviyelerinin iyi derecede aktiviteyi belirttiğini ve antioksidan aktivitenin suşa bağlı değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışma kapsamında belirlenen değerler, söz konusu çalışmalarda elde edilmiş değerlerle benzerlikler göstermektedir. Kıyaslama amacıyla kullanılan *S. boulardii* 'nin (%30) gösterdiği aktivite göz önünde tutulursa yakın değerler almış izolatların iyi derecede antioksidan aktivite sahip olduğu söylenebilir.



Şekil 4.12 İzolatların DPPH radikalini % indirgeme değerleri

4.10. Hemolitik Aktivite

Hemolitik aktivite denemeleri izolatların üzerinde geliştikleri koyun kanı içeren besiyerinin sahip olduğu rengi değiştirme durumlarına göre belirlenmiştir. Yapılan denemelerde pozitif kontrol olarak kullanılan *S. aureus* patojeninin şeffaf zonlar oluşturarak β -hemoliz aktivitesi gösterdiği, *S. boulardii* ve diğer izolatların besiyerinde herhangi bir değişikliğe sebep olmayarak hemolitik aktivite göstermediği (γ -hemoliz) tespit edilmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13 Hemolitik aktivite testi sonuçları, a) *S. aureus* (β -hemoliz) b) P34, Ü15, Ü17, YO25 (γ -hemoliz)

Hemolitik aktivite, kırmızı kan hücrelerinin parçalanması (hemoglobin kaybı) olarak tanımlanan hemoliz durumuna sebep olan etkileri ifade etmekle birlikte mikroorganizmaların patojenitesi ile ilişkilendirilen bir özelliktir. Bazı patojenler, hemolize sebep olan hemolizin olarak adlandırılan protein ve lipid yapılı moleküller sentezlerler. Hemolizinler kırmızı kan hücrelerinin hücre zarında gözenek oluşturarak hücre ölümüne sebep olurlar. Alfa hemolizinler kırmızı kan hücrelerinin kısmen parçalanmasına neden olabilirken beta hemolizinler hücreleri tamamen parçalayabilirler (Gut ve ark., 2019). Mikroorganizmalar için hemolitik aktivitenin varlığı, konakçı kırmızı kan hücrelerine zarar vererek konakta anemi gelişmesine neden olabilmesinden dolayı önemlidir ve hemolitik aktivite testleri probiyotiklerin karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılan bir in vitro biyogüvenlik testidir (Wang ve ark., 2024; Rahimi ve ark., 2024). Kan içeren agarlı besi ortamında denenen mikroorganizmanın geliştirilmesi, kırmızı kan hücrelerinin parçalanması ve renk değiştirmesi şeklinde yürütülen hemolitik aktivite testinde sonuçlar α , β ve γ hemoliz olarak yorumlanmaktadır; β -hemoliz, kırmızı kan hücrelerinin tam hemolizi ve denenen mikroorganizma kolonileri etrafında şeffaf bölge oluşumu, α -hemoliz, kısmi hemoliz ve koloni etrafında yeşil veya kahverengi bölge

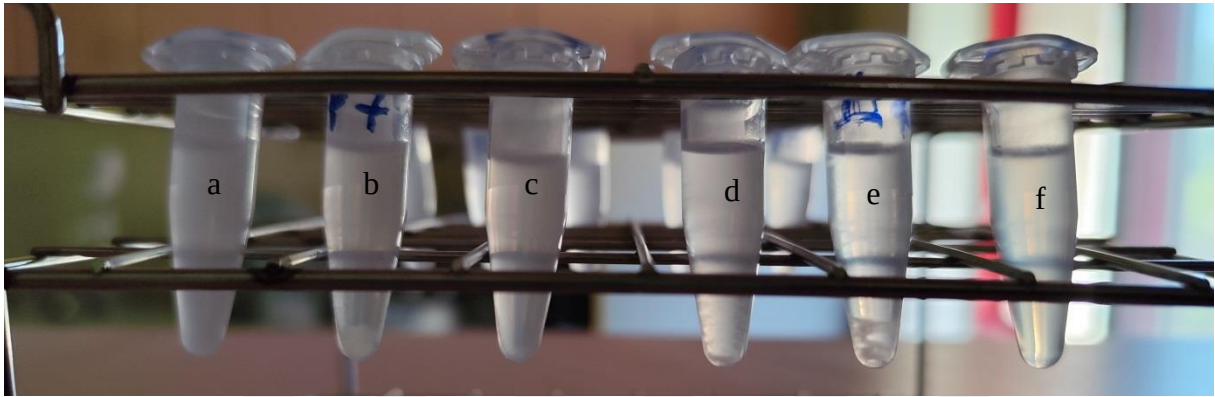
oluşumu. γ -hemoliz, hemolizin oluşmaması ve koloni etrafında değişim olmaması (Shen ve ark., 2022). Çalışma kapsamında yürütülen testlerde *S. boulardii* dahil hiçbir suşta α ve β hemoliz aktivitesine rastlanmamıştır. Elde edilen sonuçlar diğer çalışmalarla (di Cagno ve ark., 2020; Alvarez ve ark., 2023; Rahimi ve ark., 2024) uyumlu olmakla birlikte *S. boulardii* ve bazı diğer maya suşlarında α -hemoliz aktivitesinin varlığı rapor edilmiş (Gut ve ark., 2019; Shen ve ark., 2022) ancak tam hemoliz oluşmadığı için ilgili suşların güvenli olduğu savunulmuştur. Sonuç olarak bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlara göre denenen izolatların α ve β hemoliz aktivitesine sahip olamamaları sebebiyle probiyotik olarak değerlendirilmesi durumunda söz konusu izolatların tüketiminin güvenli olacağı söylenebilir.

4.11. Antimikrobiyal Aktivite, Koagregasyon, Hüresiz Supernatant Denemeleri

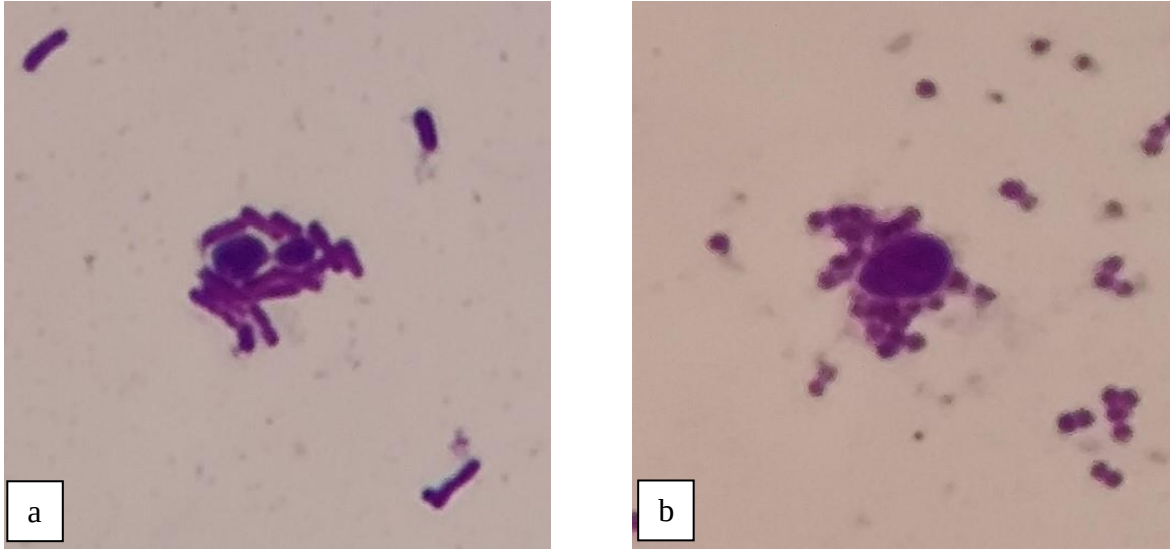
Seçili patojenlerle çift kat agar tekniğine göre uygulanan testte kontrol ve diğer izolatlar seçili patojenlerle aynı besi ortamında inkübasyona alınmış ve inkübasyon sonunda mayaların patojenleri baskılanması ile oluşması beklenen berrak zonlar kontrol edilerek antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir. Yürütülen denemeler sonucunda *Saccharomyces boulardii* dahil herhangi bir suşun patojenler üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir.

Mayalar, aynı ortamda bulunan diğer mikroorganizmaları ürettikleri organik asitler, etanol ve aromatik alkoller gibi metabolitler ile baskılayarak antimikrobiyal aktivite gösterirler (Wang ve ark., 2024; Kunyeit ve ark., 2024). Mayalar için bu aktivitesi ayrıca gıda üretimine katılan starterler göz önüne alınırsa fermente gıdaların güvenliği ve raf ömrüne katkı sağlaması açısından da önem arz eder. Bunun yanında probiyotik suşlar için antimikrobiyal aktivite, bağırsak ortamında patojenler üzerinde baskılayıcı etki gösterme, patojenlerin kolonizasyonunu engelleme ve böylece probiyotiklerin besine ulaşması ve etkinliği açısından avantaj sağladığı için önemli bir özelliktir (Ogunremi ve ark., 2015). Antimikrobiyal aktivite probiyotikler için arzu edilen bir özellik olmasına rağmen denemelerde kullanılan tüm mayalar için negatif sonuçlar elde edilmiştir. Ancak bu durum konu ile ilgili yapılmış çalışmalarla uyusmaktadır. Perricone ve ark. (2014), Wang ve ark. (2024), Kourelis ve ark. (2010), Binetti ve ark., (2013), Oliveira ve ark., (2017) yaptıkları çalışmalarında test ettikleri mayaların, *S. boulardii* dahil, patojenler üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermediğini belirtirken, Silva ve ark. (2011), yaptıkları çalışmalarında antimikrobiyal aktivite tespit etmişler ve antimikrobiyal aktivitenin doğrudan suşa bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bu durum denemede elde edilen sonuçları açıklayabilir.

Antimikrobiyal aktivite testi sonrasında izolatlar ve patojenler arasındaki hücre etkileşimini gösteren koagregasyon testi uygulanmıştır. Koagregasyon, maya ve bakteri hücrelerinin, hücre yüzey molekülleri ile birbirlerine tutunmaları sonucu agregat oluşturmaları ve bu yapı içerisinde mayaların bakterileri hapsederek bağırsak yüzeyine ulaşmalarını ve kolonileşmelerini engelleyen bir durumdur (Ogunremi ve ark., 2015). Koagregasyon testi için izolatlar ve patojenler 3 farklı eppendorf tüpü içerisine sadece maya, sadece bakteri ve maya+bakteri olacak şekilde eklenerek tabanda hücre peleti oluşumu yönünden gözlenmiş (Şekil 4.14) ve maya+bakteri tüplerinden bir miktar mikroskop lamalarına alınmış, boyanarak mikroskop altında incelenmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.14. Koagregasyon denemesi görseli. Tüpler; (a)P7, (b)P7+*E.coli*, (c)*E.coli*, (d)Ü17, (e)Ü17+*E.coli*, (f)*E.coli*



Şekil 4.15. Koagregasyon denemesi mikroskop görüntüleri. (a)P17+ *E.coli*, (b) *Saccharomyces boulardii*+*S. aureus*

Koagregasyon testinde, maya ve bakteri karışımını içeren tüplerde, sadece maya ve sadece bakteri içeren tüplerden çok daha kısa süre içerisinde gözle görülebilir düzeyde pellet

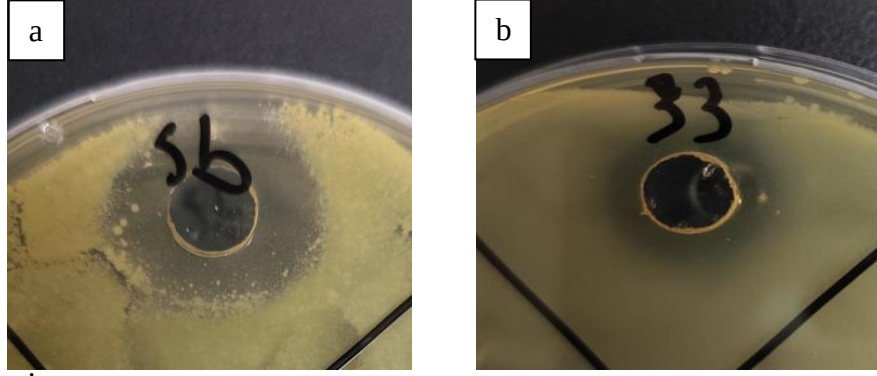
oluşumu tespit edilmiştir. Gözlem sonuçlarına göre izolatlar ve *S. boulardii*, en hızlı (3-5 dakika) *E. coli* ile gözle görülebilir pellet oluşturmuşlardır. Mikroskop altında inceleme neticesinde de maya hücrelerinin yoğun şekilde *E. coli* hücreleri ile çevrelendiği tespit edilmiştir. Benzer durum daha uzun bir süre için (30 dakika) izolatlar ve *S. enterica* için gözlemlenmiş olup *S. boulardii* 'nin *S. enterica* ile afinitesinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. *L. monocytogenes* için ise tersi şekilde, izolatların bakteri hücrelerine bağlanma ve pellet oluşturma durumu *S. boulardii* 'den daha geç olmuştur. *S. aureus* için *S. boulardii* ve ZE20 hariç diğer izolatlar düşük koagregasyon göstermiş, *B. cereus* ile yoğurt izolatları düşük, diğerleri ve *S. boulardii* orta düzeyde koagregasyon göstermişlerdir (Tablo 4.3). Koagregasyon durumu bakterilerin Gram özellikleri açısından incelenirse denenen maya hücreleri Gram (-) patojenler ile Gram (+) patojenlere göre daha yüksek koagregasyon göstermişlerdir. Rahimi ve ark. (2024) benzer şekilde çalıştığı mayaların Gram (-) patojenler ile daha yüksek koagregasyon gösterdiğini bildirmiş, Wang ve ark. (2024) ise tersi şekilde denediği mayaların Gram (+) patojenlere daha yüksek koagregasyon gösterdiğini ve bu durumun hem maya hem de patojenin suşuna bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Denemelerdeki gözlem sonuçlarına göre tüm izolatların *E. coli* ve *S. enterica* patojenleri ile gösterdikleri yüksek koagregasyon durumu izolatların bu iki patojenin hücrelerini iyi şekilde bağlayabildiği ve bağırsak ortamı göz önünde tutulursa söz konusu patojenlerin gelişimini ve kolonizasyon yeteneğini baskılama potansiyeli olduğuna işaret etmektedir. Bu potansiyel denenen diğer patojenler için daha düşük düzeyde olabilir.

Koagregasyon denemesi sonrasında izolatların ürettikleri metabolitlerin antimikrobiyal etkiye sahip olup olmadığını belirlemek için patojenler, izolatların hücresiz süpernatantları (CFS) ile muamele edilmiştir. Patojenler BHI agar üzerine yayıldıktan sonra açılan kuyucuklar içerisine CFS'ler eklenmiş, petriler inkübasyona alındıktan sonra oluşan berrak inhibisyon zonları (Şekil 4.16) incelenmiş ve zonların çapları ölçülmüştür. Elde edilen veriler Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.3. İzolatların seçili patojenler ile gösterdikleri koagregasyon durumları

İzolat	E. c.	B. c.	S. a.	S. e.	L. m.	İzolat	E. c.	B. c.	S. a.	S. e.	L. m.	İzolat	E. c.	B. c.	S. a.	S. e.	L. m.
S. boulardii	+++	++	++	++	++	YO17	+++	+	+	+++	+	YO32	+++	+	+	+++	+
ZE20	+++	++	+++	+++	+	YO18	+++	+	+	+++	+	YO33	+++	+	+	+++	+
P7	+++	++	+	+++	+	YO19	+++	+	+	+++	+	YO34	+++	+	+	+++	+
P17	+++	++	+	+++	+	YO20	+++	+	+	+++	+	YO35	+++	+	+	+++	+
P34	+++	++	+	+++	+	YO21	+++	+	+	+++	+	YO36	+++	+	+	+++	+
Ü15	+++	++	+	+++	+	YO22	+++	+	+	+++	+	YO37	+++	+	+	+++	+
Ü16	+++	++	+	+++	+	YO23	+++	+	+	+++	+	YO38	+++	+	+	+++	+
Ü17	+++	++	+	+++	+	YO24	+++	+	+	+++	+	YO39	+++	+	+	+++	+
YO4	+++	+	+	+++	+	YO25	+++	+	+	+++	+	YO40	+++	+	+	+++	+
YO5	+++	+	+	+++	+	YO26	+++	+	+	+++	+	YO41	+++	+	+	+++	+
YO9	+++	+	+	+++	+	YO27	+++	+	+	+++	+	YO42	+++	+	+	+++	+
YO10	+++	+	+	+++	+	YO28	+++	+	+	+++	+	YO43	+++	+	+	+++	+
YO11	+++	+	+	+++	+	YO29	+++	+	+	+++	+	YO44	+++	+	+	+++	+
YO13	+++	+	+	+++	+	YO30	+++	+	+	+++	+	YO45	+++	+	+	+++	+
YO15	+++	+	+	+++	+	YO31	+++	+	+	+++	+	YO46	+++	+	+	+++	+

Patojenler, E. c. (*E. coli*), B. c. (*B. cereus*), S. a. (*S. aureus*), S. e. (*S. enterica*), L. m. (*L. monocytogenes*), Pellet oluşum süreleri; +++<1 saat, 1 saat<++<2 saat, +>2 saat



Şekil 4.16. İzolat CFS'lerinin patojenleri baskılaması sonucu oluşan şeffaf zonlar. (a) *S. bouardii*- *B. cereus*, (b) YO33- *E. coli*

Kuyu difüzyon testi sonuçlarına göre tüm suşların CFS'leri kullanılan patojenlere karşı farklı şiddette inhibisyon göstermiştir. Genel olarak tüm suşlar için patojenlere karşı inhibisyon etkisi, kontrol olarak kullanılan geniş spektrumlu bir antibiyotik olan kloranfenikole göre düşük kalmıştır (Ek 22). Ayrıca tüm CFS'ler, *S. enterica*'ya karşı diğer patojenlere kıyasla düşük inhibisyon gösterirken *E. coli* ve *L. monocytogenes*'i orta düzeyde inhibe etmişler, en yüksek inhibisyonu ise *B. cereus* ve *S. aureus*'a karşı göstermişlerdir. Bulgular, denediği mayaların *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus* patojenlerine karşı inhibisyon gösterdiğini tespit eden Alkabani ve ark. (2022) ile uyushmaktadır ancak aksi sonuçlar da rapor edilmiştir (Amorim ve ark. 2018; Rahimi ve ark. 2024). Sonuç olarak patojenlere karşı baskılayıcı etkiler suşa bağlı olmakla birlikte deneme elde edilen sonuçlara göre tüm izolatların ürettikleri metabolitler ile patojenleri inhibe etme yetenekleri olduğu tespit edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite, koagregasyon, CFS denemeleri birlikte değerlendirilecek olursa, antimikrobiyal aktivite testi sonucunda hiçbir suş pozitif sonuç vermemiş olsa da koagregasyon testi sonuçları ve hüresiz supernatantların inhibisyon etkisi göz önünde bulundurulursa denenen izolatların vücuda alınmaları halinde bağırsak ortamında patojenler ile etkileşime girebilecekleri ve dolaylı yollarla patojenleri baskılayabilecekleri, kolonizasyonu engelleyici etki yapabilecekleri yorumunda bulunulabilir.

Tablo 4.4. İzolat CFS' lerinin seçili patojenleri baskılama durumları

İzolat	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. enterica</i>	<i>L. monocytogenes</i>	İzolat	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. enterica</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Kloramfenikol	++++	++++	++++	++++	++++	YO24	++	++	++	+	++
<i>S. bouardii</i>	++	++	++	++	++	YO25	++	+++	++	++	++
ZE20	++	++	+++	++	++	YO26	++	++	++	++	++
P7	++	+++	+++	+	++	YO27	++	+++	++	++	++
P17	++	+++	+++	+	++	YO28	++	++	++	++	++
P34	++	++	++	+	++	YO29	++	++	++	+	++
Ü15	++	++	++	++	++	YO30	++	++	++	+	++
Ü16	++	++	++	+	++	YO31	++	+++	+++	+	++
Ü17	++	+++	++	+	++	YO32	++	+++	++	+	++
YO4	++	+++	++	+	++	YO33	++	++	+++	+	++
YO5	++	++	++	++	+++	YO34	++	+++	++	+	+++
YO9	++	++	++	+	++	YO35	++	+++	+++	+	++
YO10	++	++	++	+	++	YO36	++	+++	+++	+	++
YO11	++	++	+++	+	++	YO37	++	+++	++	+	++
YO13	++	++	+++	+	++	YO38	++	++	+++	+	++
YO15	++	++	+++	++	++	YO39	++	++	+++	+	++
YO17	++	++	+++	+	++	YO40	++	++	++	++	++
YO18	++	+++	+++	+	++	YO41	++	++	++	+	++
YO19	++	+++	++	++	++	YO42	++	+++	++	+	++
YO20	++	++	+++	+	++	YO43	++	+++	++	++	++
YO21	++	++	++	++	++	YO44	++	+++	++	+	++
YO22	++	+++	+++	+	++	YO45	++	++	+++	++	++
YO23	++	++	++	+	++	YO46	++	++	+++	+	++

İnhibisyon zon çapları; (+) 11mm-15mm, (++) 16mm-20mm, (+++) 21mm-25mm, (++++) >26mm

4.12. Mayaların Tanımlanması

4.12.1. MALDI-TOF MS

MALDI-TOF MS sonuçlarına göre P7, P34, Ü17, YO27, YO29, YO30, YO34, YO42, YO45 izolatları *Candida kefyr* (*Kluyveromyces marxianus*) olarak tanımlanmış, ZE20 ve Ü15 izolatları sistemin kütüphanesinde bulunan referanslarla güvenli düzeyde eşleşmediği için tanımlanamamıştır. Ancak ZE20 daha önceki çalışmalarda *Debaryomyces hansenii* olarak tanımlanmıştır (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. MALDI-TOF sistemi ile elde edilen tanımlama sonuçları

İzolat	Eşleştirilen Tür	Eşleşme Değeri
ZE20	Tanımlanamadı	1,691
P7	<i>Candida kefyr</i> (<i>Kluyveromyces marxianus</i>)	2,196
P34	<i>Candida kefyr</i> (<i>Kluyveromyces marxianus</i>)	2,391
Ü15	Tanımlanamadı	1,616
Ü17	<i>Candida kefyr</i> (<i>Kluyveromyces marxianus</i>)	2,468
YO27	<i>Candida kefyr</i> (<i>Kluyveromyces marxianus</i>)	2,207
YO29	<i>Candida kefyr</i> (<i>Kluyveromyces marxianus</i>)	2,226
YO30	<i>Candida kefyr</i> (<i>Kluyveromyces marxianus</i>)	2,176
YO34	<i>Candida kefyr</i> (<i>Kluyveromyces marxianus</i>)	2,165
YO42	<i>Candida kefyr</i> (<i>Kluyveromyces marxianus</i>)	2,253
YO45	<i>Candida kefyr</i> (<i>Kluyveromyces marxianus</i>)	2,249

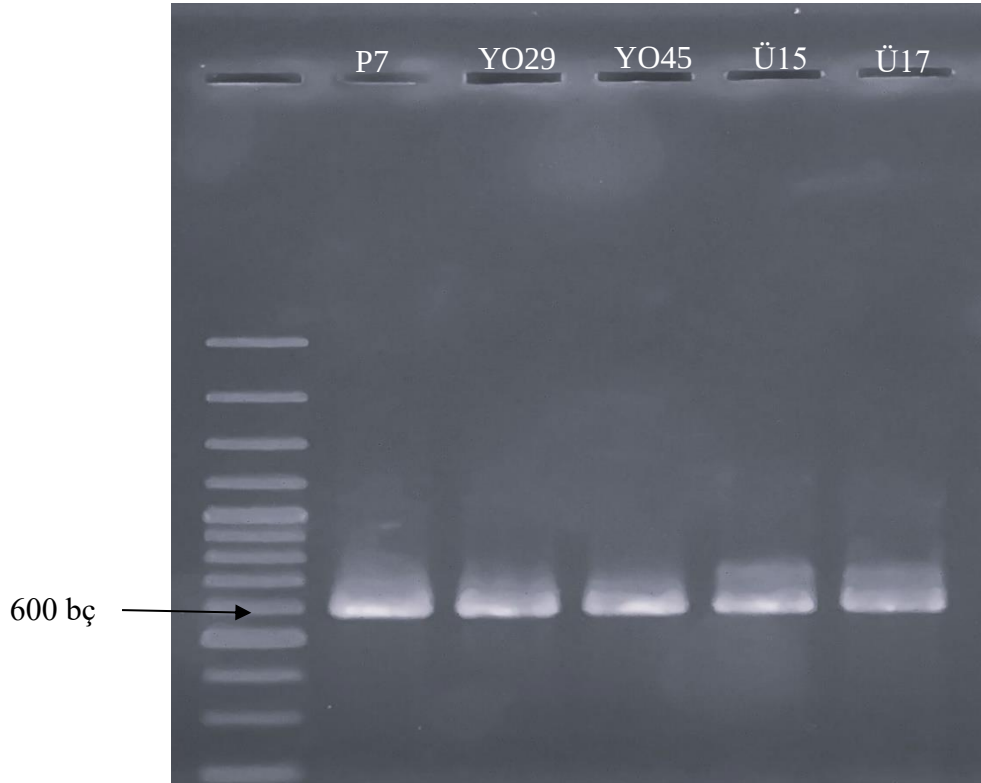
Eşleşme Değeri; 2,300-3,000 tür bazında çok yüksek ihtimal, 2,000-2,299 cins bazında güvenli tür bazında yüksek ihtimal, 1,700-1,999 cins bazında muhtemel, 0,000-1,699 güvensiz tanımlama

4.12.2. Moleküler tanımlama

Moleküler tanımlama çalışmalarında izolatların 26S rDNA genlerinin D1/D2 bölgeleri PCR ile çoğaltıldıktan sonra reaksiyon ürünlerinin agaroz jel içerisinde ayrımı ve görüntülenmesi sonrası yaklaşık 600 bp uzunluğunda bantlar elde edilmiştir (Şekil 4.17). D1/D2 bölgesi, ribozomal büyük alt birim-26S rDNA genlerinin ilk (5') ~600 bp uzunluğundaki, nükleotid dizisinin mayaların tür düzeyinde tanımlanmasında sıklıkla kullanılan ve bu alanda geniş bir veri tabanının oluşturulduğu bir barkod bölgedir (Kurtzman ve Robnett, 1998; Kurtzman, 2015). Jel elektroforez işlemi sonrasında ~600 bp uzunluğunda bant veren örnekler dizilemeye alınmış ve nükleotid dizileri belirlenmiştir (Ek 23). Elde edilen dizilerin Genbank

veri bankasında kayıtlı dizilerle karşılaştırılması sonucunda Ü15 ve Ü17 izolatlarının *Meyerozyma guilliermondii*, P7, P34, YO27, YO29, YO30, YO34, YO42, YO45 izolatlarının *Kluyveromyces marxianus* türlerine ait referans dizilerle %100 benzerlik taşıdığı belirlenmiş ve izolatlar söz konusu türler olarak tanımlanmıştır. İzolatların benzerlik gösterdiği referans dizilerin erişim numaraları Tablo 4.6’da verilmiştir.

Moleküler tanımlama sonuçları MALDI-TOF MS sonuçları ile karşılaştırıldığında, *Kluyveromyces marxianus* suşlarının tamamının MALDI-TOF ile doğru tanımlandığı ancak *Debaryomyces hansenii* ve *Meyerozyma guilliermondii* suşlarının tanımlanamadığı görülmektedir. MALDI-TOF MS sistemi son yıllarda mayaların tanımlanmasında kullanımı yaygınlaşmaya başlayan, daha çok sağlık alanında tercih edilen, morfolojik ve biyokimyasal tanımlama yöntemlerine göre daha doğru sonuçlar verebilen, ucuz ve hızlı tanımlamanın yapılabildiği bir sistemdir. MALDI-TOF sisteminde tanımlama başarısı kullanılan kütüphaneye bağlıdır. Kütüphanenin (NCBI GenBank gibi) kolay erişilebilir ve güncellenebilir olmaması bu sistemle tanımlamada hatalara sebep olmaktadır (Cassagne ve ark., 2016) ve MALDI-TOF ile nadiren %100 doğrulukta tanımlama yapılabilmektedir (Patel, 2019). Bu çalışmada elde edilen sonuçlarla da (8/11 doğruluk oranı) desteklendiği üzere MALDI-TOF hızlı ve ucuz olması avantajlarıyla ön tanımlama ve gruplandırmada faydalı olabilir ancak kesin tanımlama için sonuçların moleküler yöntemlerle teyit edilmesi gerekmektedir (Zhao ve ark., 2018).



Şekil 4.17 İzolatların NL1-NL4 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüleri

Tablo 4.6 İzolatların D1/D2 bölgeleri nükleotid dizilerinin NCBI/GenBank veri tabanında kayıtlı referanslarla benzerliklerine göre tanımlanma sonuçları

İzolat	Eşleştirilen Referans Tür	GenBank Erişim Numarası
ZE20	<i>Debaryomyces hansenii</i>	KY512308.1
P7	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	KY296066.1
P34	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	KY296066.1
Ü15	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	FJ432597.1
Ü17	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	FJ432597.1
YO27	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	KY296066.1
YO29	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	KY296066.1
YO30	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	KY296066.1
YO34	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	KY296066.1
YO42	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	KY296066.1
YO45	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	KY296066.1

Debaryomyces hansenii, çeşitli karbon kaynaklarını asimile etme ve fermente etme yeteneği, gösterdiği lipaz ve proteaz aktivitesi, düşük su aktivitesi, yüksek asitlik, yüksek sıcaklık gibi gelişme koşullarına tolerans açısından suşları arasında oldukça heterojen, ekstremofil ve çok yönlü olan, biyoteknoloji açısından potansiyeli yüksek ve EFSA tarafından QPS statüsüne alınmış, güvenliği onaylanmış bir tür olarak ifade edilmektedir (Breuer ve Harms, 2006; Ochangco ve ark., 2016). Çalışma kapsamında kullanılan ZE20 izolatı, izole edildiği yüksek tuz içeren (>%10) salamura, 37 °C sıcaklıkta ve pH 2,5 ortamında gösterdiği iyi gelişim durumu, mide ve safra denemelerinde yakaladığı yüksek canlılık oranları göz önüne alınırsa zorlu ortam koşullarına toleransının yüksek olduğu ileri sürülebilir. Söz konusu özellikler açısından çalışma kapsamında elde edilmiş veriler diğer çalışmalarla uyumludur. Ochangco ve ark., (2016), farklı *D. hansenii* suşlarının probiyotik özelliklerini kıyasladığı çalışmada suşlar arasında bu özellikler açısından varyasyonlar bulmuş ve kontrol olarak kullandığı *S. boulardii*'den gastrointestinal yol dayanımı ve bağırsak hücrelerine bağlanma açısından daha iyi sonuçlar veren suşlar tespit etmiştir. Bu çalışmada incelenen ZE20 izolatı benzer şekilde sindirim yolu dayanımı ve hidrofobik özellik yönünden *S. boulardii*'den daha yüksek değerler elde etmiştir. Aynı şekilde Jeong ve ark. (2022), incelediği *D. hansenii* suşlarının pH 2,5 ve safra dayanımının yüksek olduğunu bulmuştur. Ancak Alvarez ve ark. (2023), farklı olarak test ettiği suşun pH 2,5 dayanımının yüksek, buna karşın safra dayanımının düşük olduğunu bildirmiştir. Bonatsou ve ark. (2015) benzer şekilde incelediği *D. hansenii*

suşunun mide dayanımını yüksek ancak safra dayanımını düşük tespit etmişlerdir. Merchán ve ark. (2020), otoagregasyon (%60-%83), hidrofobisite (genel>%70), antioksidan aktivite (%25-%56) açısından bu çalışmada elde edilen verilere yakın sonuçlar bildirmiştir. Oliveira ve ark. (2017) ise incelediği suşun otoagregasyon (%34,37) ve antioksidan aktivite (%4,41) değerlerini düşük tespit etmiştir. Antimikrobiyal aktivite bakımından ise söz konusu çalışmalarda bu çalışmada ulaşılmış sonuçlara benzer şekilde antimikrobiyal aktivite tespit edilmemiştir. İncelenen özellikler bakımından elde edilmiş farklı sonuçlar bu özelliklerin suşa bağlı değişmesinden kaynaklanmaktadır. Deneme sonuçları ticari probiyotik maya *S. boulardii* ile kıyaslandığında ise *D. hansenii* ZE20 suşu, sindirim yolu dayanımı, hidrofobisite ve lipolitik aktivite bakımından daha üstün olmakla birlikte otoagregasyon ve antioksidan aktivite bakımından geride kalmaktadır ancak bu özellikler için elde edilmiş sonuçlar probiyotik mayalar için ileri sürülen kabul edilebilir limitler içerisinde yer almaktadır.

Kluyveromyces marxianus (anamorf *Candida kefir*) özellikle süt ürünlerinden sıklıkla izole edile, laktoz ve inülin dahil çok çeşitli şekerleri kullanabilen, termotolerant, hidrolitik enzimleri iyi derecede salgılayabilen, GRAS VE QPS statüsünde, endüstri için önem arz eden bir maya türüdür (Karim ve ark., 2020). *Kluyveromyces marxianus* özellikle süt ürünlerinin incelendiği probiyotik maya çalışmalarında sıklıkla konu edilmiş ve probiyotik olarak potansiyeli yüksek olan bir maya türüdür. Bu çalışma kapsamında da seçilen izolatlar arasında en fazla suş barındıran tür olmuştur. Yürütülen denemelerde elde edilen sonuçlar bakımından *Kluyveromyces marxianus* suşlarının kendi aralarında kıyaslanması sonucunda mide sıvısı ($p<0,01$), safra sıvısı dayanımları ($p<0,01$), otoagregasyon ($p<0,05$), hidrofobisite ($p<0,01$) ve antioksidan aktivite ($p<0,01$) özellikleri bakımından izolatlar arasında varyasyonlar bulunmuştur. İzolatlar arasındaki farklılıklar bu özelliklerin suşa bağlı olması ile açıklanabilir. Bunun yanında özellikle mide sıvısı dayanımları (P izolatları ort. %57,9, YO izolatları ort. %92,9) ve hidrofobisite (P izolatları ort. %36,6, YO izolatları ort. %3,7) bakımından peynir ve yoğurt izolatları arasındaki farklılıklarda mayaların adapte oldukları izolasyon kaynağının da etkili olduğu söylenebilir. Benzer sonuçlar farklı çalışmalarda rapor edilmiştir. Göktaş ve ark. (2021) kefirde izole ettikleri *Kluyveromyces marxianus* suşlarının otoagregasyon değerlerini %97 ve üzeri, hidrofobisite değerlerini %30-%60, sindirim yolu dayanımlarını %0-%51, antioksidan aktiviteyi %20-%30 aralığında bulmuşlardır. Fadda ve ark. (2017), peynirde elde ettikleri suşların sindirim yolu dayanımlarını %83-%100 aralığında, otoagregasyon değerlerini %39-%52, hidrofobisite değerlerini %54-%75 aralığında bulmuşlar ayrıca *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite tespit etmişlerdir. Binetti ve ark. (2013) farklı süt kaynaklarından elde

ettikleri suşların bazılarında proteolitik ve lipolitik aktivite belirlemişler, sindirim yolu dayanımlarını %37,5-%97 aralığında, hidrofobisite değerlerini %45-%75 aralığında, otoagregasyon değerlerini %16-%57 aralığında belirlemişler, izolatlarda antimikrobiyal aktivite tespit etmemişlerdir. Merchán ve ark. (2020), peynirden izole ettikleri suşların otoagregasyon değerlerini %71-%84, hidrofobisite değerlerini %45-%85, antioksidan aktiviteyi %20-%47 aralığında belirlemişler, bir suş için *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite tespit etmişlerdir. Menezes ve ark. (2020), hidrofobisite değerlerini %99-%100 düzeylerine çıkabildiğini, Şanlıdere Aloğlu ve ark. (2016), yoğurt ve kefirde izole ettikleri suşların sindirim yolu dayanımının %100 üzerine çıkabildiğini bildirmiştir. Bu çalışma kapsamında *Kluyveromyces marxianus* suşları ile elde edilmiş sonuçlar söz konusu çalışmalarla benzerlikler göstermektedir. Özellikle YO izolatları hidrofobisite açısından düşük kapasiteye sahip olmasına rağmen diğer özellikler bakımından *S. boulardii* ile kıyaslanabilir düzeydedir. Özellikle *Kluyveromyces marxianus* YO45 suşu %101 canlılık ile gastrointestinal dayanımı en yüksek izolat olmuştur.

Meyerozyma guilliermondii, çok çeşitli substratları (hidrofilik ve hidrofobik) kullanabilme ve özel metabolitleri (B2 vitamini gibi) yüksek düzeyde sentezleyebilme kabiliyetine sahip, endüstriyel önemi yüksek bir maya türüdür (Yan ve ark., 2021). Çalışma kapsamında test edilen *M. guilliermondii* Ü15 ve *M. guilliermondii* Ü17 suşlarının mide sıvısı dayanımı üst düzeyde bulunmuş, ancak safra dayanımında Ü15 düşük canlılık göstermiştir. İki suş arasında mide sıvısı canlılığı açısından istatistiksel anlamda fark bulunmazken ($p>0,05$), safra dayanımı açısından önemli fark bulunmuştur ($p<0,01$). Bunun bir sonucu olarak suşların sindirim yolu canlılık değerleri arasında anlamlı fark (Ü15 %61- Ü17 %99, $p<0,001$) bulunmuştur. Bu anlamda safra tuzlarına tolerans ve dolayısıyla sindirim yolu dayanımı suşa bağlı değişiklik göstermiştir. Bonatsou ve ark. (2015) benzer şekilde inceledikleri *M. guilliermondii* suşının mide dayanımının safra dayanımından daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak farklı bir çalışmalarında Bonatsou ve ark. (2018), *M. guilliermondii* suşları arasında tersi sonuçlar elde etmişler. Oliveira ve ark. (2017) test ettikleri suşın mide ve safra dayanımları arasında farklılık bulmuş ve genel canlılık oranının, Ü17 suşu için elde edilen sonuçlara benzer şekilde, *S. boulardii*'den daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Otoagregasyon değerleri bakımından Ü15 ve Ü17 için, Oliveira ve arkadaşlarının sonuçları (%73) ile benzer değerler elde edilmiştir. Hidrofobik özellik bakımından ise Simões ve ark. (2021) (%45) ile yakın sonuçlara ulaşılmıştır. Bu çalışma ile benzer şekilde, Oliveira ve ark. antimikrobiyal aktivite tespit etmemiş, Simões ve ark., CFS'nin patojenleri baskıladığını

bildirmiştir. Enzim aktivitesi bakımından Bonatsou ve ark. (2015; 2018) *M. guilliermondii* suşlarının lipolitik ve proteolitik aktiviteleri arasından farklılıklar tespit etmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar literatür ile uyumlu olmakla birlikte incelenen özelliklerin suşa bağlı olması sebebiyle farklı sonuçlar rapor edilmiştir. Sonuçlar *S. boulardii* ile kıyaslandığında ise *Meyerozyma guilliermondii* Ü17 suşunun özellikle sindirim yolu dayanımı ve hidrofobik özellik yönünden *S. boulardii* 'den üstün olduğu belirlenmiştir.



5. SONUÇLAR

Farklı gıda kaynaklarından elde edilen maya suşlarının probiyotik potansiyelinin araştırıldığı bu çalışmada, kullanılan izolasyon kaynaklarından geleneksel mikrobiyolojik teknikler vasıtasıyla koloni ve hücre özellikleri açısından farklılık arz eden maya kültürleri elde edilmiş ve saflaştırılmıştır. İzole edilen mayalar öncelikle vücut sıcaklığında gelişebilme özelliklerine göre test edilmiş ve 37 °C’de iyi gelişim gösteren izolatlar belirlenmiş, bazı izolatların (Ü25, Ü36, Ü40, Ü46, Ü47, Z38, P40) 37 °C’de 30 °C’den anlamlı şekilde daha iyi gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Sonraki denemelerde 37 °C’de iyi gelişim gösteren izolatların pH 2,5 ve pH 8,0 ortamlarında gelişme yetenekleri test edilmiştir. Denenen izolatlar için pH 8,0 değerinin baskılayıcı etki yapmadığı ancak pH 2,5 değerinin dikkate değer negatif etki yaptığı, bu aşamada izolatların %75’e yakınının iyi gelişim gösteremediği belirlenmiştir. Denemelerde genel olarak yoğurt izolatları düşük pH ortamında iyi gelişirken Ü15, Ü17, YO28 izolatları pH 2,5 düzeyinde kontrol olarak kullanılan *S. boulardii* ’ye göre anlamlı düzeyde daha iyi gelişim göstermişlerdir. İzolatların sindirim yolu dayanımlarının belirlendiği denemelerde pH 2,5 ve 37 °C’de iyi gelişim gösteren izolatlar kullanılmıştır. Yürütülen testler sonucunda mide koşullarına yüksek dayanım gösteren izolatların safra dayanımının düşük olabildiği (Ü15, Ü16, YO37), mide koşullarına düşük dayanım gösteren izolatların safra dayanımının yüksek (P7, P17, P34) olabildiği görülmüştür. ZE20, Ü17, YO45 izolatları %99-%101 oranlarıyla denemelerde en yüksek canlılık oranını yakalamışlardır. Hücrelerin yüzey özellikleri ile alakalı agregasyon ve hidrofobisite denemelerinde otoagregasyon için izolatlar arasında 2 ve 4 saat sonuçları açısından yüksek varyasyon tespit edilmiş ve 24 saat sonuçlarına göre izolatların çoğunluğu kontrol ile benzer değerler elde etmişlerdir. Ancak daha önceki testlerde iyi sonuçlar vermiş olan ZE20, P17, Ü15, Ü16, Ü17 izolatları 24 saatlik deneme sonunda diğer suşlara göre düşük otoagregasyon göstermişlerdir. Hidrofobisite denemelerinde genel olarak yoğurt izolatlarının düşük değerler aldığı görülmüştür. ZE20, P7, P34, Ü15, Ü16, Ü17 ise kontrolden daha yüksek değerler almışlardır. Agregasyon ve hidrofobisite birlikte değerlendirildiğinde bu iki özellik arasında korelasyon bulunmadığı belirlenmiştir. Proteolitik ve lipolitik aktivite testlerinde kontrol dahil hiçbir suшта proteolitik aktiviteye rastlanmamış, kontrol hariç tüm izolatlarda lipolitik aktivite tespit edilmiş ve bu özellik yönünden ZE20, YO17, YO22, YO23, YO26, YO27, YO28, YO29, YO30, YO31, YO32, YO33, YO39, YO42, YO43, YO44, YO45, YO46 öne çıkmıştır. İzolatların antioksidan aktivite değerleri %15-%31 aralığında bulunmuş, yoğurt izolatları arasında antioksidan aktivite bakımından varyasyon tespit edilmiş ve P7, P17, P34, YO4, YO5, YO13, YO15, YO17, YO26, YO28, YO31, YO35, YO39, YO43 izolatları ile

kontrol arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Hemolitik aktivite ve antimikrobiyal aktivite denemelerinde hiçbir suşta pozitif aktiviteye rastlanmamıştır. Antimikrobiyal aktivite testini takiben yürütülen koagregasyon testinde suşların tamamının patojenleri farklı seviyelerde bağlayabildiği, suşların gram (-) patojenleri (*E. coli* ve *S. enterica*) gram (+) patojenlere göre yüksek düzeyde bağladığı belirlenmiştir. Hücresiz süpernatant denemelerinde tüm suşlardan elde edilen CFS'lerin patojenler üzerinde inhibisyon etkisine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yürütülen testler neticesinde arzu edilen sonuçları elde eden ve diğer izolatlardan daha iyi sonuçlar almış olan ZE20, P7, P34, Ü15, Ü17, YO27, YO29, YO30, YO34, YO42, YO45 izolatları seçilerek tanımlanmıştır. Moleküler tanımlama sonuçlarına göre ZE20 *Debaryomyces hansenii*, Ü15 ve Ü17 *Meyerozyma guilliermondii*, P7, P34, YO27, YO29, YO30, YO34, YO42, YO45 suşları *Kluyveromyces marxianus* olarak tanımlanmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada ulaşılan veriler ışığında, incelenen *Saccharomyces* olmayan mayaların probiyotik potansiyeli taşıdığı, özellikle *Debaryomyces hansenii* ZE20, *Meyerozyma guilliermondii* Ü17, *Kluyveromyces marxianus* YO45 suşlarının diğer izolatlardan ve bazı özellikler yönünden ticari probiyotik maya *S. boulardii*'den üstün oldukları sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca söz konusu izolatların sahip oldukları özellikler ile izole edildikleri gıdalarda starter veya yardımcı kültür olarak kullanım ihtimalleri bulunduğu düşünülmektedir.

Mayalar genellikle güvenli olduğu düşünülen, gıdaların doğal mikroflorasında bulunan, bununla birlikte insan mikrobiyotasının bir parçası olan ve bağırsak dengesinin sağlanmasında etkili olan canlılardır. Probiyotik alanında bakterilere karşı antibiyotik dirençliliği yaymama gibi çok temel avantajlara sahip olmaları mayaları probiyotikler konusunda çekici hale getirmektedir. Çeşitli gıdaların ve değerli metabolitlerin üretiminde kullanılmaları nedeniyle hali hazırda endüstri açısından büyük öneme sahip olan mayaların sağlığa fayda sağlayabilecek suşlarının üretime dahil edilmeleri ile fonksiyonel gıda alanında da mayaların kullanımı yaygınlaşabilir. Bunun yanında özellikle bakterilerin kullanılamayacağı fermentasyon süreçleri ile elde edilen gıdaların üretiminde probiyotik özellikli mayaların kullanımı ile bu gibi gıdalarda da fonksiyonellik sağlanabilir. Son dönemlerde fonksiyonel gıdalara olan talep artmakta ve bu talebe cevap vermek adına endüstride söz konusu gıdaların çeşitliliğini artırmak adına çalışmalar yürütülmektedir. Yeni fonksiyonel gıdaların elde edilmesinde mayalar büyük potansiyel taşımaktadır. Bu konu temelinde hazırlanan bu çalışmada farklı gıdalardan elde edilmiş maya suşları probiyotik özellikleri açısından incelenmiş ve probiyotik potansiyeli taşıyan suşlar belirlenmiştir. Sonuç olarak söz konusu suşların gıda üretiminde kullanılma ihtimallerinin yüksek olduğu ancak bu suşların üretimde kullanım durumlarının daha iyi ortaya

konulabilmesi için teknolojik ve güvenlik özelliklerini belirlemek adına yapılacak daha ileri çalışmalarla ihtiyaç duyulduğu düşünölmektedir.



KAYNAKÇA

- Al-Hakeem, L. Z. (2023). Investigation of probiotic potential of humanderived *Lactobacillus plantarum* B14. Yüksek Lisans Tezi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Alkalbani, N. S., Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Obaid, R. S., Olaimat, A. N., Liu, S. Q., & Ayyash, M. M. (2022). In vitro characterization and identification of potential probiotic yeasts isolated from fermented dairy and non-dairy food products. *Journal of Fungi*, 8(5), 544.
- Alvarez, S. C. V., Alaniz, M. J. L., Furlani, M. V. M., Vazquez, F., Agresti, P. M., Nally, M. C., & Maturano, Y. P. (2023). Bioprospecting of the probiotic potential of yeasts isolated from a wine environment. *Fungal Genetics and Biology*, 164, 103767.
- Amorim, J. C., Piccoli, R. H., & Duarte, W. F. (2018). Probiotic potential of yeasts isolated from pineapple and their use in the elaboration of potentially functional fermented beverages. *Food Research International*, 107, 518-527.
- Aran, N. (2014). Gıda Biyoteknolojisi (5th ed.). Ankara: Nobel.
- Ayman, S. (2017). Salamura yeşil zeytinden izole edilen mayaların moleküler yöntemlerle tanımlanması, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Bevilacqua, A., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., (2012). Selection of yeasts as starter cultures for table olives: a step-by-step procedure. *Frontiers in Microbiology* 3, 1- 9.
- Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., ... & Ouwehand, A. C. (2020). Criteria to qualify microorganisms as “probiotic” in foods and dietary supplements. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1662.
- Binetti, A., Carrasco, M., Reinheimer, J., & Suárez, V. (2013). Yeasts from autochthonal cheese starters: technological and functional properties. *Journal of Applied Microbiology*, 115(2), 434-444.
- Boschke, E., & Bley, T. (1998). Growth patterns of yeast colonies depending on nutrient supply. *Acta Biotechnologica*, 18(1), 17-27.
- Bonatsou, S., Karamouza, M., Zoumpopoulou, G., Mavrogonatou, E., Kletsas, D., Papadimitriou, K., ... & Panagou, E. Z. (2018). Evaluating the probiotic potential and technological characteristics of yeasts implicated in cv. Kalamata natural black olive fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 271, 48-59.
- Breuer, U., & Harms, H. (2006). *Debaryomyces hansenii*—an extremophilic yeast with biotechnological potential. *Yeast*, 23(6), 415-437.
- Buts, J. P., Stilmant, C., Bernasconi, P., Neirinck, C., & De Keyser, N. (2008). Characterization of α , α -trehalase released in the intestinal lumen by the probiotic *Saccharomyces boulardii*. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 43(12), 1489-1496.
- Buts, J. P., & De Keyser, N. (2006). Effects of *Saccharomyces boulardii* on intestinal mucosa. *Digestive Diseases and Sciences*, 51, 1485-1492.

Buzzini, P., Turchetti, B., & Yurkov, A. (2018). Extremophilic yeasts: the toughest yeasts around?. *Yeast*, 35(8), 487-497.

Cassagne, C., Normand, A. C., L'Ollivier, C., Ranque, S., & Piarroux, R. (2016). Performance of MALDI-TOF MS platforms for fungal identification. *Mycoses*, 59(11), 678-690.

Champagne, C.P., Møllgaard, H., (2008). Handbook of fermented functional foods. In: Farnworth, E.R. (Ed.), *Production of Probiotic Cultures and Their Addition in Fermented Foods*, second ed. Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 513-532.

Chen, L. S., Ma, Y., Maubois, J. L., He, S. H., Chen, L. J., & Li, H. M. (2010). Screening for the potential probiotic yeast strains from raw milk to assimilate cholesterol. *Dairy science & technology*, 90(5), 537-548.

Czerucka, D., Piche, T., & Rampal, P. Review article: yeast as probiotics–*Saccharomyces boulardii*. *Aliment Pharmacol.* 2007; 26 (6): 767-78.

de Oliveira Leite, A. M., Miguel, M. A. L., Peixoto, R. S., Rosado, A. S., Silva, J. T., & Paschoalin, V. M. F. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: A natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(2), 341–349.

de Paula, B. P., de Souza Lago, H., Firmino, L., Júnior, W. J. F. L., Corrêa, M. F. D., Guerra, A. F., ... & Coelho, M. A. Z. (2021). Technological features of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* for potential probiotic wheat beer development. *LWT*, 135, 110233.

De Vuyst, L. (2000). Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food Technology and Biotechnology*, 38(2), 105-112.

Deak, T. (2007). *Handbook of food spoilage yeasts*. CRC press.

Deak, T. (2009). Ecology and biodiversity of yeasts with potential value in biotechnology. *Yeast biotechnology: diversity and applications*, 151-168.

Dey, A., Ragavan, M. L., Mandal, S. K., & Das, N. (2017). Isolation, identification and In vitro characterisation of probiotic yeast strains. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(3), 726-732.

Di Cagno, R., Filannino, P., Cantatore, V., Polo, A., Celano, G., Martinovic, A., ... & Gobbetti, M. (2020). Design of potential probiotic yeast starters tailored for making a cornelian cherry (*Cornus mas* L.) functional beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 323, 108591.

Diosma, G., Romanin, D. E., Rey-Burusco, M. F., Londero, A., & Garrote, G. L. (2014). Yeasts from kefir grains: isolation, identification, and probiotic characterization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 43-53.

Fadda, M. E., Mossa, V., Deplano, M., Pisano, M. B., & Cosentino, S. (2017). In vitro screening of *Kluyveromyces* strains isolated from Fiore Sardo cheese for potential use as probiotics. *LWT*, 75, 100-106.

FAO/WHO (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group. London, Ontario, Canada.

- Fuller, R. (1992). History and development of probiotics. *Probiotics: The scientific basis*, 1-8.
- Galli, V., Venturi, M., Mari, E., Guerrini, S., & Granchi, L. (2022). Selection of yeast and lactic acid bacteria strains, isolated from spontaneous raw milk fermentation, for the production of a potential probiotic fermented milk. *Fermentation*, 8(8), 407.
- García-Hernández, Y., Rodríguez, Z., Brandão, L. R., Rosa, C. A., Nicoli, J. R., Iglesias, A. E., ... & Halaihel, N. (2012). Identification and in vitro screening of avian yeasts for use as probiotic. *Research in veterinary science*, 93(2), 798-802.
- Gil-rodríguez, A. M., Carrascosa, A. V., & Requena, T. (2015). Yeasts in foods and beverages : In vitro characterisation of probiotic traits. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 1156–1162.
- Göçer, E. M. Ç., Ergin, F., & Küçükçetin, A. (2016). Sindirim sistemi modellerinde probiyotik mikroorganizmaların canlılığı. *Akademik Gıda*, 14(2), 158-165.
- Göktaş, H., Dikmen, H., Demirbas, F., Sagdic, O., & Dertli, E. (2021). Characterisation of probiotic properties of yeast strains isolated from kefir samples. *International Journal of Dairy Technology*, 74(4), 715-722.
- Gut, A. M., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. N. (2018). Salmonella infection—prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: A review. *Microbiology*, 164(11):1327-1344
- Gut, A. M., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. N. (2019). Characterization of yeasts isolated from traditional kefir grains for potential probiotic properties. *Journal of Functional Foods*, 58, 56-66.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., ... & Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 11(8), 506-514.
- Hsu, S. A., & Chou, J. Y. (2021). Yeasts in fermented food and kefir: in vitro characterization of probiotic traits. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 31(2).
- Jamovi project (2022). jamovi. (Version 2.3) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>.
- Jeong, D. M., Yoo, S. J., Jeon, M. S., Chun, B. H., Han, D. M., Jeon, C. O., ... & Kang, H. A. (2022). Genomic features, aroma profiles, and probiotic potential of the *Debaryomyces hansenii* species complex strains isolated from Korean soybean fermented food. *Food Microbiology*, 105, 104011.
- JMP®, Version 7. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989–2023.
- Karim, A., Gerliani, N., & Aïder, M. (2020). *Kluyveromyces marxianus*: An emerging yeast cell factory for applications in food and biotechnology. *International Journal of Food Microbiology*, 333, 108818.

- Kourelis, A., Kotzamanidis, C., Litopoulou-Tzanetaki, E., Scouras, Z. G., Tzanetakis, N., & Yiangou, M. (2010). Preliminary probiotic selection of dairy and human yeast strains. *Journal of Biological Research*, 13, 93.
- Kumar, H, Salminen, S. (2016). Probiotics, in Encyclopedia of Food and Health (Editor(s): Benjamin Caballero, Paul M. Finglas, Fidel Toldrá), Academic Press, pp 510-515.
- Kunyeit, L., Rao, R. P., & Anu-Appaiah, K. A. (2024). Yeasts originating from fermented foods, their potential as probiotics and therapeutic implication for human health and disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(19), 6660-6671.
- Kurtzman, C., Fell, J. W., & Boekhout, T. (Eds.). (2011). The yeasts: a taxonomic study. Elsevier.
- Kurtzman, C. P. (2015). Identification of food and beverage spoilage yeasts from DNA sequence analyses. *International journal of food microbiology*, 213, 71-78.
- Kurtzman, C. P., & Robnett, C. J. (1998). Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. Antonie van Leeuwenhoek, *International Journal of General and Molecular Microbiology*, 73(4), 331–371.
- Latif, A. S., Saparbekova, A. A., Akhmedova, Z. R., Kaldybekova, G., & Daugaliyeva, S. T. (2023). Probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 isolated from pomegranate juice presented inhibitory effects against pathogenic bacteria. *Brazilian Journal of Biology*, 83, e271997.
- Li, Y., Mo, X., Xiong, J., Huang, K., Zheng, M., Jiang, Q., ... & Jiang, C. (2023). Deciphering the probiotic properties and safety assessment of a novel multi-stress-tolerant aromatic yeast *Pichia kudriavzevii* HJ2 from marine mangroves. *Food Bioscience*, 56, 103248.
- Lilly, D. M., & Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147(3659), 747-748.
- Luong, J.H.T. Mahmoud, K.A. Male, K.B. (2011). Instrumentation and Analytical Methods, Editor(s): Murray Moo-Young, Comprehensive Biotechnology (Second Edition), Academic Press, 2011, Pages 829-838,
- Mackowiak, P. A. (2013). Recycling Metchnikoff: probiotics, the intestinal microbiome and the quest for long life. *Frontiers in public health*, 1, 52.
- Menezes, A.G.T., Ramos, C.L., Cenzi, G. et al. Probiotic Potential, Antioxidant Activity, and Phytase Production of Indigenous Yeasts Isolated from Indigenous Fermented Foods. *Probiotics & Antimicro. Prot.* 12, 280–288 (2020). <https://doi.org/10.1007/s12602-019-9518-z>
- Merchán, A. V., Benito, M. J., Galván, A. I., & de Herrera, S. R. M. S. (2020). Identification and selection of yeast with functional properties for future application in soft paste cheese. *LWT*, 124, 109173.
- Mitsuoka, T. (2014). Development of functional foods. Bioscience of Microbiota, *Food and Health*, 33(3), 117-128.

- Ochangco, H. S., Gamero, A., Smith, I. M., Christensen, J. E., Jespersen, L., & Arneborg, N. (2016). In vitro investigation of *Debaryomyces hansenii* strains for potential probiotic properties. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32, 1-13.
- O'Hara, A. M., O'Regan, P., Fanning, Á., O'Mahony, C., MacSharry, J., Lyons, A., ... & Shanahan, F. (2006). Functional modulation of human intestinal epithelial cell responses by *Bifidobacterium infantis* and *Lactobacillus salivarius*. *Immunology*, 118(2), 202-215.
- Ogunremi, O. R., Sanni, A. I., & Agrawal, R. J. J. O. A. M. (2015). Probiotic potentials of yeasts isolated from some cereal-based Nigerian traditional fermented food products. *Journal of Applied Microbiology*, 119(3), 797-808.
- Oliveira, T., Ramalhosa, E., Nunes, L., Pereira, J. A., Colla, E., & Pereira, E. L. (2017). Probiotic potential of indigenous yeasts isolated during the fermentation of table olives from Northeast of Portugal. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 44, 167-172.
- O' Toole, P. W., & Cooney, J. C. (2008). Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, 2008(1), 175285.
- Öztürk, I., & Sağdıç, O. (2014). Biodiversity of yeast mycobiota in “sucuk,” a traditional Turkish fermented dry sausage: phenotypic and genotypic identification, functional and technological properties. *Journal of Food Science*, 79(11), M2315-M2322.
- Patel, R. (2019). A moldy application of MALDI: MALDI-ToF mass spectrometry for fungal identification. *Journal of Fungi*, 5(1), 4.
- Pedersen, L. L., Owusu-Kwarteng, J., Thorsen, L., & Jespersen, L. (2012). Biodiversity and probiotic potential of yeasts isolated from Fura, a West African spontaneously fermented cereal. *International Journal of Food Microbiology*, 159(2), 144-151.
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., & Sinigaglia, M. (2014). Technological characterization and probiotic traits of yeasts isolated from Altamura sourdough to select promising microorganisms as functional starter cultures for cereal-based products. *Food Microbiology*, 38, 26-35.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). *Fungi and food spoilage* (Vol. 519, p. 388). New York: Springer.
- Pizzolitto, R. P., Armando, M. R., Salvano, M. A., Dalcero, A. M., & Rosa, C. A. (2013). Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* as an anti-aflatoxicogenic agent in broiler feedstuffs. *Poultry Science*, 92(6), 1655-1663.
- Rahimi, D., Sadeghi, A., Kashaninejad, M., & Ebrahimi, M. (2024). Postbiotic characterization of a potential probiotic yeast isolate, and its microencapsulation in alginate beads coated layer-by-layer with chitosan. *Heliyon*, 10(7).
- Rivera-Espinoza, Y., & Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food microbiology*, 27(1), 1-11.

- Romanin, D., Serradell, M., González, D., Lausada, N., Garrote, G. L., & Rumbo, M. (2010). Down-regulation of intestinal epithelial innate response by probiotic yeasts isolated from kefir. *International Journal of Food Microbiology*, 140(2–3), 102–108.
- Romanin, D. E., Llopis, S., Genovés, S., Martorell, P., Ramón, V. D., Garrote, G. L., & Rumbo, M. (2016). Probiotic yeast *Kluyveromyces marxianus* CIDCA 8154 shows anti-inflammatory and anti-oxidative stress properties in in vivo models. *Beneficial microbes*, 7(1), 83-93.
- Saber, A., Alipour, B., Faghfoori, Z., & Yari Khosroushahi, A. (2017). Cellular and molecular effects of yeast probiotics on cancer. *Critical reviews in microbiology*, 43(1), 96-115.
- Salas-Navarrete, P. C., Rosas-Santiago, P., Suárez-Rodríguez, R., Martínez, A., & Caspeta, L. (2023). Adaptive responses of yeast strains tolerant to acidic pH, acetate, and supraoptimal temperature. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(12), 4051-4068.
- Sansonetti, P. J. (2004). War and peace at mucosal surfaces. *Nature Reviews Immunology*, 4(12), 953-964.
- Satyanarayana, T. (2009). Yeast biotechnology: diversity and applications. Springer Science.
- Sen, S., & Mansell, T. J. (2020). Yeasts as probiotics: Mechanisms, outcomes, and future potential. *Fungal Genetics and Biology*, 137, 103333.
- Shen, Y., Bai, X., Zhang, Y., Gao, Q., Bu, X., Xu, Y., & Guo, N. (2022). Evaluation of the potential probiotic yeast characteristics with anti-MRSA abilities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(4), 727-740.
- Silva, T., Reto, M., Sol, M., Peito, A., Peres, C. M., Peres, C., & Malcata, F. X. (2011). Characterization of yeasts from Portuguese brined olives, with a focus on their potentially probiotic behavior. *LWT-Food Science and Technology*, 44(6), 1349-1354.
- Simões, L. A., Cristina de Souza, A., Ferreira, I., Melo, D. S., Lopes, L. A. A., Magnani, M., ... & Dias, D. R. (2021). Probiotic properties of yeasts isolated from Brazilian fermented table olives. *Journal of Applied Microbiology*, 131(4), 1983-1997.
- Staniszewski, A., & Kordowska-Wiater, M. (2021). Probiotic and potentially probiotic yeasts—Characteristics and food application. *Foods*, 10(6), 1306.
- Suvarna, S., Dsouza, J., Ragavan, M. L., & Das, N. (2018). Potential probiotic characterization and effect of encapsulation of probiotic yeast strains on survival in simulated gastrointestinal tract condition. *Food Science and Biotechnology*, 27, 745-753.
- Syal, P., & Vohra, A. (2013). Probiotic potential of yeasts isolated from traditional Indian fermented foods. *International Journal of Microbiology Research*, 5(2), 390.
- Szajewska, H., Skorka, A., & Dylag, M. (2007). Meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* for treating acute diarrhoea in children. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 25(3), 257-264.
- Şanlıdere Aloğlu, H., Demir Özer, E., & Öner, Z. (2016). Assimilation of cholesterol and probiotic characterisation of yeast strains isolated from raw milk and fermented foods. *International Journal of Dairy Technology*, 69(1), 63-70.

Toscano, M., De Grandi, R., Pastorelli, L., Vecchi, M., & Drago, L. (2017). A consumer's guide for probiotics: 10 golden rules for a correct use. *Digestive and Liver Disease*, 49(11), 1177-1184.

TGK (2017). Türk Gıda Kodeksi, Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği. Yayımlandığı Resmi Gazete: 26.01.2017 Sayı: 29960 (Mükerrer), Ankara.

Utba, F., Balia, R. L., & Utama, L. G. (2018). The Presence of Indigenous Yeasts with Proteolytic Activity Isolated from Homemade-Mozzarella Whey. *Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development*, 18(1), 507–514.

Wang, B., Rutherford-Markwick, K., Liu, N., Zhang, X. X., & Mutukumira, A. N. (2024). Evaluation of the probiotic potential of yeast isolated from kombucha in New Zealand. *Current Research in Food Science*, 8, 100711.

Weichselbaum, E. (2009). Probiotics and health: a review of the evidence. *Nutrition Bulletin*, 34(4), 340-373.

van der Aa Kühle, A., Skovgaard, K., & Jespersen, L. (2005). In vitro screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* and food-borne *Saccharomyces cerevisiae* strains. *International journal of food microbiology*, 101(1), 29-39.

Vallejo JA, Sánchez-Pérez A, Martínez JP, Villa TG. (2013). Cell aggregations in yeasts and their applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 97(6):2305-18. doi: 10.1007/s00253-013-4735-y..

Yalçın, S., Ergül, Ş., & Özbaş, Y. (2010). Moleküler Esaslı Yöntemlerin Gıda Kaynaklı Mayaların Tanımlanmalarında Kullanılmaları. *GIDA*, 35(5), 379–386

Yalçın, S. K., & Özbas, Z. Y. (2008). Effects of pH and temperature on growth and glycerol production kinetics of two indigenous wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* from Turkey. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 325-332.

Yan, W., Gao, H., Qian, X., Jiang, Y., Zhou, J., Dong, W., ... & Jiang, M. (2021). Biotechnological applications of the non-conventional yeast *Meyerozyma guilliermondii*. *Biotechnology Advances*, 46, 107674.

Yang, H., Sun, Y., Cai, R., Chen, Y., & Gu, B. (2020). The impact of dietary fiber and probiotics in infectious diseases. *Microbial pathogenesis*, 140, 103931.

Yiğit, M. B. (2023). Determination of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditional food products. Yüksek Lisans Tezi, Abdullah Gül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Younis, G., Awad, A., Dawod, R. E., & Yousef, N. E. (2017). Antimicrobial activity of yeasts against some pathogenic bacteria. *Veterinary world*, 10(8), 979.

Zahoor, F., Sooklim, C., Songdech, P., Duangpakdee, O., & Soontorngun, N. (2021). Selection of potential yeast probiotics and a cell factory for xylitol or acid production from honeybee samples. *Metabolites*, 11(5), 312.

Zavala, L., Golowczyc, M., Van Hoorde, K., Medrano, M., Huys, G., Vandamme, P., & Abraham, A. (2016). Selected *Lactobacillus* strains isolated from sugary and milk kefir reduce *Salmonella* infection of epithelial cells in vitro. *Beneficial Microbes*, 7(4), 585–595.

Zhao, Y., Tsang, C. C., Xiao, M., Chan, J. F., Lau, S. K., Kong, F., ... & Woo, P. C. (2018). Yeast identification by sequencing, biochemical kits, MALDI–TOF MS and rep-PCR DNA fingerprinting. *Medical mycology*, 56(7), 816-827.

Zullo, B. A., & Ciafardini, G. (2019). Evaluation of physiological properties of yeast strains isolated from olive oil and their in vitro probiotic trait. *Food microbiology*, 78, 179-187.



EKLER

Ek 1. Gilaburu izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C
G1	2,241±0,141	0,848±0,101*	G13	2,178±0,137	-	G25	1,404±0,111	-
G2	0,548±0,108	0,538±0,116	G14	2,202±0,111	-	G26	1,355±0,192	0,721±0,113*
G3	2,306±0,149	-	G15	1,034±0,128	-	G27	0,817±0,181	-
G4	1,432±0,141	1,092±0,127*	G16	0,994±0,131	-	G28	1,468±0,178	-
G5	2,166±0,158	0,5±0,118*	G17	1,731±0,121	0,399±0,148*	G29	1,438±0,131	-
G6	1,023±0,129	-	G18	1,539±0,153	1,397±0,153	G30	2,169±0,152	-
G7	2,223±0,166	-	G19	0,624±0,165	0,453±0,124	G31	1,701±0,067	1,472±0,116*
G8	2,185±0,182	-	G20	1,694±0,099	1,359±0,12*	G32	1,846±0,094	0,539±0,096*
G9	2,041±0,098	-	G21	1,774±0,078	-	G33	1,834±0,161	1,481±0,114*
G10	2,132±0,099	-	G22	0,971±0,176	-	G34	1,555±0,103	1,369±0,122*
G11	0,813±0,095	-	G23	1,419±0,141	-			
G12	2,197±0,098	-	G24	0,739±0,143	1,447±0,113*			

*, 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 2. Üzüm izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C
Ü1	2,071±0,123	2,044±0,173	Ü20	1,973±0,138	1,685±0,149*	Ü35	2,046±0,176	1,845±0,123
Ü2	1,964±0,143	1,836±0,082	Ü21	2,016±0,165	1,722±0,101*	Ü36	1,613±0,171	1,894±0,094*
Ü3	2,165±0,127	2,051±0,149	Ü22	2,074±0,087	1,956±0,071*	Ü37	1,925±0,131	1,851±0,183
Ü4	2,083±0,173	2,082±0,163	Ü23	1,977±0,157	1,891±0,186	Ü38	2,015±0,121	1,823±0,071*
Ü5	2,098±0,124	2,172±0,092	Ü24	1,622±0,108	1,654±0,107	Ü39	2,036±0,144	1,691±0,112*
Ü6	2,085±0,167	1,831±0,121*	Ü25	1,454±0,153	1,883±0,108*	Ü40	1,628±0,139	1,874±0,124*
Ü7	2,005±0,145	2,191±0,144	Ü26	2,049±0,076	1,862±0,151*	Ü41	2,103±0,158	1,758±0,066*
Ü8	2,027±0,131	2,206±0,141	Ü27	1,927±0,127	1,811±0,068	Ü42	1,715±0,109	1,147±0,121*
Ü9	1,931±0,131	1,888±0,184	Ü28	1,901±0,166	1,805±0,183	Ü43	1,944±0,151	1,723±0,133*
Ü14	2,111±0,141	2,122±0,114	Ü29	1,947±0,159	1,744±0,061*	Ü44	1,994±0,114	1,831±0,074*
Ü15	1,922±0,191	1,981±0,146	Ü30	2,004±0,173	1,842±0,138	Ü45	1,926±0,104	1,787±0,059*
Ü16	2,048±0,107	1,931±0,157	Ü31	2,009±0,128	1,792±0,073*	Ü46	1,564±0,121	1,897±0,106*
Ü17	2,038±0,188	1,989±0,152	Ü32	1,677±0,173	1,749±0,077	Ü47	1,458±0,123	1,874±0,067*
Ü18	1,994±0,092	1,813±0,173	Ü33	2,077±0,162	1,874±0,128			
Ü19	2,032±0,081	1,753±0,123*	Ü34	1,924±0,165	1,792±0,084			

*, 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 3. Zeytin izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolot	30 °C	37 °C	İzolot	30 °C	37 °C	İzolot	30 °C	37 °C
ZE1	0,184±0,02	-	ZY6	1,705±0,107	-	ZY26	1,765±0,131	1,021±0,084*
ZE13	0,241±0,038	-	ZY7	1,165±0,169	-	ZY27	1,031±0,186	-
ZE15	0,305±0,074	-	ZY8	1,482±0,137	-	ZY28	0,695±0,084	-
ZE19	0,198±0,052	-	ZY9	1,557±0,114	-	ZY29	2,168±0,141	-
ZE20	1,668±0,093	1,661±0,145	ZY10	1,196±0,08	-	ZY30	2,003±0,064	-
ZE23	0,295±0,096	-	ZY11	1,074±0,12	-	ZY31	1,835±0,165	-
ZE26	1,159±0,151	-	ZY12	1,581±0,08	-	ZY32	1,826±0,12	-
ZE28	0,26±0,029	-	ZY13	1,567±0,102	-	ZY33	2,094±0,153	-
ZE30	0,231±0,053	-	ZY14	1,475±0,16	-	ZY34	1,818±0,134	-
ZE34	0,233±0,132	-	ZY15	1,766±0,084	-	ZY35	1,56±0,156	-
ZE38	1,033±0,114	1,549±0,13*	ZY16	1,671±0,145	-	ZY36	1,858±0,113	-
ZE45	0,24±0,041	-	ZY17	1,67±0,154	-	ZY37	1,661±0,111	-
ZE50	0,227±0,012	-	ZY18	0,974±0,134	-	ZY38	0,725±0,179	-
ZE52	0,142±0,03	-	ZY19	1,559±0,109	-	ZY39	1,972±0,136	-
ZE54	0,126±0,009	-	ZY20	1,482±0,147	-	ZY40	1,513±0,152	-
ZY1	1,716±0,136	-	ZY21	1,837±0,193	-	ZY41	2,018±0,068	-
ZY2	1,064±0,189	-	ZY22	0,764±0,191	-	ZY42	1,596±0,119	-
ZY3	1,781±0,163	-	ZY23	1,961±0,149	-	ZY43	1,609±0,11	-
ZY4	0,988±0,102	-	ZY24	2,072±0,178	-			
ZY5	1,815±0,169	-	ZY25	1,99±0,062	1,178±0,149*			

*', 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 4. Zeytin (karasu) izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolot	30 °C	37 °C	İzolot	30 °C	37 °C	İzolot	30 °C	37 °C
ZK1	2,041±0,123	0,599±0,132*	ZK9	2,147±0,11	-	ZK17	1,967±0,076	1,255±0,131*
ZK2	2,195±0,121	0,205±0,154*	ZK10	2,201±0,149	-	ZK18	2,066±0,15	0,548±0,141*
ZK3	2,106±0,063	0,551±0,086*	ZK11	2,145±0,157	-	ZK19	2,261±0,061	-
ZK4	2,081±0,06	1,062±0,062*	ZK12	2,254±0,102	-	ZK20	2,148±0,102	0,635±0,1*
ZK5	2,121±0,144	0,774±0,149*	ZK13	2,125±0,103	0,443±0,158*	ZK21	2,021±0,098	1,696±0,157*
ZK6	2,038±0,114	0,549±0,07*	ZK14	2,294±0,132	-	ZK22	1,802±0,104	1,624±0,1*
ZK7	2,173±0,098	0,666±0,108*	ZK15	2,287±0,082	-	ZK23	1,032±0,108	-
ZK8	2,081±0,141	-	ZK16	2,129±0,144	-	ZK24	2,205±0,119	-

*', 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 5. Kefir izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C
KK1	0,996±0,134	-	KK15	1,041±0,132	-	KK29	0,901±0,177	-
KK2	0,939±0,151	-	KK16	0,576±0,111	-	KK30	0,688±0,098	-
KK3	1,234±0,132	-	KK17	0,981±0,116	-	KK31	0,636±0,138	-
KK4	1,274±0,121	-	KK18	0,777±0,069	-	KK32	1,111±0,091	-
KK5	1,285±0,132	-	KK19	1,171±0,17	-	KK33	0,865±0,146	-
KK6	0,885±0,176	-	KK20	1,205±0,099	-	KK34	0,26±0,158	-
KK7	1,181±0,103	-	KK21	1,487±0,138	-	KK35	0,845±0,195	-
KK8	1,089±0,138	-	KK22	1,891±0,1	1,509±0,174*	KK36	0,726±0,15	-
KK9	1,048±0,182	-	KK23	1,865±0,172	-	KK37	0,728±0,123	-
KK10	0,842±0,107	-	KK24	1,122±0,154	-	KK38	0,694±0,146	-
KK11	1,371±0,142	-	KK25	1,039±0,096	-	KK39	1,068±0,111	-
KK12	0,741±0,15	-	KK26	0,915±0,125	-	KK40	1,12±0,167	-
KK13	1,089±0,107	-	KK27	0,704±0,067	-	KK41	1,071±0,185	-
KK14	1,424±0,172	-	KK28	0,954±0,081	-			

*', 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 6. Kefir izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C
KB1	2,083±0,071	1,753±0,112*	KB18	1,875±0,109	1,641±0,056	KB35	1,801±0,128	1,474±0,138*
KB2	1,846±0,101	1,898±0,125	KB19	1,95±0,08	1,729±0,144	KB36	1,935±0,135	1,424±0,076*
KB3	1,994±0,113	1,601±0,176*	KB20	1,876±0,102	1,611±0,126*	KB37	1,843±0,093	1,225±0,131*
KB4	1,91±0,118	1,667±0,129*	KB21	1,89±0,067	1,533±0,072*	KB38	1,866±0,112	1,485±0,174*
KB5	1,858±0,09	1,693±0,143	KB22	1,995±0,149	1,659±0,132*	KB39	1,993±0,135	1,596±0,135*
KB6	1,483±0,129	1,543±0,12	KB23	1,859±0,101	1,663±0,143*	KB40	1,919±0,102	1,445±0,107*
KB7	1,856±0,109	1,672±0,108*	KB24	1,701±0,154	1,566±0,081	KB41	1,83±0,162	1,504±0,053*
KB8	1,146±0,096	-	KB25	1,924±0,114	1,66±0,148*	KB42	1,875±0,138	1,572±0,181*
KB9	1,807±0,076	1,816±0,082	KB26	1,77±0,166	1,339±0,169*	KB43	1,881±0,13	1,342±0,146*
KB10	1,932±0,145	1,675±0,137*	KB27	1,459±0,135	1,532±0,178	KB44	1,907±0,141	1,517±0,127*
KB11	1,915±0,151	2,024±0,141	KB28	1,878±0,142	1,723±0,085	KB45	1,864±0,172	1,721±0,173*
KB12	1,983±0,098	1,738±0,151*	KB29	1,797±0,159	1,004±0,088*	KB46	2,132±0,064	1,435±0,141*
KB13	1,983±0,159	1,66±0,09*	KB30	1,791±0,115	1,681±0,163	KB47	1,844±0,163	1,617±0,134*
KB14	1,893±0,176	1,593±0,108*	KB31	1,626±0,147	1,306±0,12*	KB48	1,771±0,16	1,6±0,099
KB15	1,856±0,104	1,599±0,081*	KB32	1,841±0,159	1,256±0,125*	KB49	1,828±0,15	1,37±0,118*
KB16	1,997±0,149	1,689±0,07*	KB33	1,935±0,106	1,265±0,16*			
KB17	1,851±0,083	1,566±0,096*	KB34	1,895±0,145	1,581±0,168*			

*', 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 7. Sucuk izolatlarnn 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolatl	30 °C	37 °C	İzolatl	30 °C	37 °C	İzolatl	30 °C	37 °C
S1	0,341±0,091	-	S20	0,379±0,024	-	S39	1,568±0,044	-
S2	1,621±0,035	-	S21	0,296±0,036	-	S40	0,923±0,051	-
S3	0,246±0,055	-	S22	1,881±0,041	-	S41	1,784±0,031	-
S4	0,156±0,067	-	S23	0,558±0,014	-	S42	0,824±0,05	-
S5	1,773±0,011	-	S24	2,095±0,065	-	S43	0,959±0,076	-
S6	0,417±0,08	-	S25	2,084±0,049	-	S44	0,811±0,048	-
S7	1,721±0,081	-	S26	0,678±0,044	-	S45	0,398±0,044	-
S8	1,645±0,028	-	S27	1,031±0,05	-	S46	0,932±0,093	-
S9	2,017±0,092	-	S28	0,709±0,019	-	S47	1,465±0,052	-
S10	1,951±0,087	-	S29	0,237±0,082	-	S48	0,952±0,014	-
S11	1,101±0,026	-	S30	0,903±0,061	-	S49	0,231±0,087	-
S12	1,062±0,074	-	S31	1,125±0,076	-	S50	1,368±0,086	-
S13	0,617±0,071	-	S32	1,493±0,079	-	S51	1,295±0,036	-
S14	1,763±0,008	-	S33	0,215±0,022	-	S52	1,511±0,022	-
S15	1,978±0,037	-	S34	1,091±0,091	-	S53	1,557±0,037	-
S16	1,945±0,011	-	S35	0,171±0,069	-	S54	0,182±0,039	-
S17	1,782±0,006	-	S36	0,251±0,014	-			
S18	0,373±0,017	-	S37	0,143±0,05	-			
S19	0,462±0,068	-	S38	0,141±0,059	-			

Ek 8. Sirke izolatlarnn 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolatl	30 °C	37 °C	İzolatl	30 °C	37 °C	İzolatl	30 °C	37 °C
Sİ1	0,863±0,14	-	Sİ16	2,128±0,057	-	Sİ31	2,055±0,068	-
Sİ2	2,047±0,102	-	Sİ17	2,138±0,095	-	Sİ32	2,155±0,1	-
Sİ3	0,816±0,131	-	Sİ18	1,324±0,144	-	Sİ33	2,101±0,137	-
Sİ4	2,073±0,147	-	Sİ19	2,109±0,106	-	Sİ34	2,143±0,059	-
Sİ5	2,131±0,065	-	Sİ20	2,179±0,099	-	Sİ35	2,106±0,096	-
Sİ6	1,232±0,133	-	Sİ21	0,857±0,087	-	Sİ36	2,047±0,053	-
Sİ7	0,852±0,061	-	Sİ22	2,111±0,094	-	Sİ37	0,859±0,072	-
Sİ8	2,153±0,061	-	Sİ23	0,926±0,125	-	Sİ38	2,052±0,065	-
Sİ9	1,977±0,146	-	Sİ24	1,988±0,077	-	Sİ39	0,731±0,119	-
Sİ10	2,108±0,077	-	Sİ25	2,071±0,05	-	Sİ40	2,077±0,096	-
Sİ11	2,043±0,079	-	Sİ26	2,011±0,081	-	Sİ41	2,138±0,115	-
Sİ12	2,176±0,08	-	Sİ27	0,913±0,087	-	Sİ42	2,088±0,134	-
Sİ13	2,067±0,126	-	Sİ28	0,793±0,086	-	Sİ43	2,131±0,099	-
Sİ14	2,098±0,09	-	Sİ29	0,766±0,15	-	Sİ44	0,746±0,11	-
Sİ15	2,068±0,104	-	Sİ30	0,696±0,108	-	Sİ45	2,088±0,102	-

Ek 9. Besiyeri/bulaşı izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C
B1	1,979±0,081	0,301±0,07*	B8	1±0,099	0,742±0,144*	B15	2,062±0,116	0,363±0,061*
B2	2,024±0,108	1,002±0,089*	B9	2,189±0,115	-	B16	2,099±0,119	1,148±0,067*
B3	1,919±0,066	-	B10	1,948±0,042	-	B17	0,619±0,09	-
B4	2,009±0,128	1,185±0,09*	B11	2,045±0,126	0,698±0,096*	B18	0,882±0,084	1,761±0,066*
B5	2,053±0,086	0,552±0,112*	B12	2,129±0,137	1,044±0,112*	B19	2,073±0,115	0,729±0,043*
B6	2,067±0,145	0,958±0,127*	B13	1,993±0,06	0,333±0,055*	B20	2,084±0,115	0,967±0,08*
B7	1,992±0,117	1,081±0,094*	B14	2,195±0,045	-			

*', 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 10. Yoğurt izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C
YO1	1,538±0,138	1,522±0,155	YO20	1,626±0,123	1,52±0,106	YO37	1,804±0,131	1,738±0,117
YO2	1,729±0,146	1,698±0,177	YO21	1,78±0,125	1,687±0,103	YO38	1,699±0,143	1,667±0,142
YO3	1,498±0,123	1,474±0,107	YO22	1,492±0,122	1,367±0,145	YO39	1,833±0,136	1,771±0,087
YO4	1,44±0,132	1,38±0,076	YO23	1,615±0,092	1,632±0,121	YO40	1,742±0,141	1,665±0,12
YO5	1,401±0,101	1,224±0,113*	YO24	1,53±0,108	1,479±0,095	YO41	1,803±0,097	1,734±0,097
YO6	1,778±0,134	1,619±0,113	YO25	1,658±0,19	1,489±0,109	YO42	1,771±0,098	1,67±0,144
YO7	1,68±0,12	1,549±0,182	YO26	1,805±0,139	1,737±0,103	YO43	1,796±0,107	1,687±0,123
YO8	1,445±0,13	1,338±0,155	YO27	1,709±0,084	1,728±0,114	YO44	1,739±0,114	1,732±0,175
YO9	1,698±0,141	1,527±0,124	YO28	1,72±0,156	1,687±0,134	YO45	1,753±0,166	1,65±0,167
YO10	1,75±0,122	1,668±0,111	YO29	1,732±0,102	1,605±0,098	YO46	1,782±0,135	1,696±0,099
YO11	1,834±0,12	1,816±0,092	YO30	1,757±0,129	1,589±0,133	YO47	1,785±0,113	1,638±0,137
YO12	1,704±0,182	1,688±0,14	YO31	1,829±0,084	1,779±0,149	YO48	1,819±0,087	1,733±0,098
YO13	1,464±0,178	1,425±0,089	YO32	1,503±0,074	1,495±0,084	YO49	1,758±0,095	1,671±0,126
YO14	1,511±0,128	1,353±0,171	YO33	1,655±0,153	1,564±0,127	YO50	1,776±0,162	1,74±0,145
YO15	1,834±0,138	1,741±0,111	YO34	1,718±0,149	1,602±0,075	YO51	1,881±0,069	1,811±0,12
YO16	1,805±0,138	1,778±0,107	YO35	1,788±0,15	1,622±0,137	YO52	1,734±0,135	1,738±0,147
YO17	1,464±0,092	1,57±0,085	YO36	1,796±0,141	1,738±0,126	YO53	1,73±0,107	1,76±0,115
YO18	1,677±0,127	1,744±0,079						
YO19	1,749±0,139	1,579±0,126						

*', 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 11. Peynir izolatlarının 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları

İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C
P1	2,164±0,173	0,597±0,115*	P21	2,114±0,186	-	P41	2,183±0,148	1,091±0,184*
P2	1,473±0,165	1,19±0,129*	P22	2,277±0,121	1,085±0,154*	P42	2,115±0,132	-
P3	1,963±0,121	0,823±0,13*	P23	1,92±0,132	-	P43	2,119±0,142	-
P4	2,168±0,168	0,895±0,109*	P24	2,121±0,121	-	P44	2,073±0,134	-
P5	2,132±0,077	-	P25	2,009±0,163	1,269±0,065*	P45	0,781±0,118	0,625±0,158
P6	2,126±0,169	0,659±0,172*	P26	2,162±0,181	-	P46	2,13±0,165	-
P7	1,704±0,102	1,747±0,083	P27	2,039±0,106	-	P47	2,255±0,105	0,708±0,141*
P8	2,215±0,189	1,483±0,159*	P28	2,069±0,091	-	P48	1,338±0,121	-
P9	2,253±0,068	0,588±0,162*	P29	2,06±0,105	-	P49	1,826±0,161	1,099±0,159*
P10	1,912±0,119	1,579±0,11*	P30	0,94±0,141	-	P50	1,051±0,118	-
P11	2,06±0,134	-	P31	2,313±0,118	1,085±0,113*	P51	2,096±0,134	1,104±0,152*
P12	1,665±0,169	-	P32	2,153±0,152	-	P52	1,414±0,149	0,288±0,111*
P13	2,02±0,082	1,026±0,063*	P33	1,931±0,156	-	P53	0,803±0,125	-
P14	2,198±0,095	1,167±0,072*	P34	1,575±0,09	1,523±0,125	P54	1,524±0,134	0,537±0,113*
P15	1,723±0,138	1,087±0,097*	P35	1,975±0,122	-	P55	0,6±0,057	0,271±0,155*
P16	1,673±0,096	-	P36	2,125±0,085	1,056±0,169*	P56	1,299±0,133	1,205±0,128
P17	1,741±0,136	1,824±0,136	P37	2,005±0,1	-	P57	1,439±0,164	1,249±0,136
P18	0,812±0,125	-	P38	1,862±0,177	0,558±0,127*	P58	1,877±0,076	-
P19	1,629±0,101	-	P39	2,258±0,126	0,593±0,135*	P59	1,675±0,14	1,661±0,177
P20	1,718±0,166	1,308±0,13*	P40	1,213±0,117	1,602±0,141*			

*', 30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 12. 37 °C sıcaklıkta iyi gelişim gösteren (OD > 1,000) izolatlar

Gilaburu	G4	G18	G20	G24	G31	G33	G34					
Zeytin	ZE20	ZE38	ZY25	ZY26	ZK4	ZK17	ZK21	ZK22				
Besiyeri	B2	B4	B7	B12	B16	B18						
Peynir	P2	P7	P8	P10	P13	P14	P15	P17	P20	P22	P25	P31
	P34	P36	P40	P41	P49	P51	P56	P57	P59			
Üzüm	Ü1	Ü2	Ü3	Ü4	Ü5	Ü6	Ü7	Ü8	Ü9	Ü10	Ü11	Ü12
	Ü13	Ü14	Ü15	Ü16	Ü17	Ü18	Ü19	Ü20	Ü21	Ü22	Ü23	Ü24
	Ü25	Ü26	Ü27	Ü28	Ü29	Ü30	Ü31	Ü32	Ü33	Ü34	Ü35	Ü36
	Ü37	Ü38	Ü39	Ü40	Ü41	Ü42	Ü43	Ü44	Ü45	Ü46	Ü47	
Yoğurt	YO1	YO2	YO3	YO4	YO5	YO6	YO7	YO8	YO9	YO10	YO11	YO12
	YO13	YO14	YO15	YO16	YO17	YO18	YO19	YO20	YO21	YO22	YO23	YO24
	YO25	YO26	YO27	YO28	YO29	YO30	YO31	YO32	YO33	YO34	YO35	YO36
	YO37	YO38	YO39	YO40	YO41	YO42	YO43	YO44	YO45	YO46	YO47	YO48
	YO49	YO50	YO51	YO52	YO53							
Kefir	KB1	KB2	KB3	KB4	KB5	KB6	KB7	KB8	KB9	KB10	KB11	KB12
	KB13	KB14	KB15	KB16	KB17	KB18	KB19	KB20	KB21	KB22	KB23	KB24
	KB25	KB26	KB27	KB28	KB29	KB30	KB31	KB32	KB33	KB34	KB35	KB36
	KB37	KB38	KB39	KB40	KB41	KB42	KB43	KB44	KB45	KB46	KB47	KB48
	KB49	KB22										

Ek 13. 30 °C ve 37 °C sıcaklıklardaki gelişim durumları istatistiksel olarak farksız olan izolatlar

İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C	İzolat	30 °C	37 °C
Kontrol	1,519±0,145	1,537±0,113	KB24	1,701±0,154	1,566±0,081	YO22	1,492±0,122	1,367±0,145
Ü1	2,071±0,123	2,044±0,173	KB27	1,459±0,135	1,532±0,178	YO23	1,615±0,092	1,632±0,121
Ü2	1,964±0,143	1,836±0,082	KB28	1,878±0,142	1,723±0,085	YO24	1,53±0,108	1,479±0,095
Ü3	2,165±0,127	2,051±0,149	KB30	1,791±0,115	1,681±0,163	YO25	1,658±0,19	1,489±0,109
Ü4	2,083±0,173	2,082±0,163	KB48	1,771±0,16	1,6±0,099	YO26	1,805±0,139	1,737±0,103
Ü5	2,098±0,124	2,172±0,092	P7	1,704±0,102	1,747±0,083	YO27	1,709±0,084	1,728±0,114
Ü6	2,085±0,167	1,831±0,121	P17	1,741±0,136	1,824±0,136	YO28	1,72±0,156	1,687±0,134
Ü7	2,005±0,145	2,191±0,144	P34	1,575±0,09	1,523±0,125	YO29	1,732±0,102	1,605±0,098
Ü9	1,931±0,131	1,888±0,184	P45	0,781±0,118	0,625±0,158	YO30	1,757±0,129	1,589±0,133
Ü14	2,111±0,141	2,122±0,114	P56	1,299±0,133	1,205±0,128	YO31	1,829±0,084	1,779±0,149
Ü15	1,922±0,191	1,981±0,146	P57	1,439±0,164	1,249±0,136	YO32	1,503±0,074	1,495±0,084
Ü16	2,048±0,107	1,931±0,157	P59	1,675±0,14	1,661±0,177	YO33	1,655±0,153	1,564±0,127
Ü17	2,038±0,188	1,989±0,152	YO1	1,538±0,138	1,522±0,155	YO34	1,718±0,149	1,602±0,075
Ü18	1,994±0,092	1,813±0,173	YO2	1,729±0,146	1,698±0,177	YO35	1,788±0,15	1,622±0,137
Ü23	1,977±0,157	1,891±0,186	YO3	1,498±0,123	1,474±0,107	YO36	1,796±0,141	1,738±0,126
Ü24	1,622±0,108	1,654±0,107	YO4	1,44±0,132	1,38±0,076	YO37	1,804±0,131	1,738±0,117
Ü27	1,927±0,127	1,811±0,068	YO6	1,778±0,134	1,619±0,113	YO38	1,699±0,143	1,667±0,142
Ü28	1,901±0,166	1,805±0,183	YO7	1,68±0,12	1,549±0,182	YO39	1,833±0,136	1,771±0,087
Ü30	2,004±0,173	1,842±0,138	YO8	1,445±0,13	1,338±0,155	YO40	1,742±0,141	1,665±0,12
Ü32	1,677±0,173	1,749±0,077	YO9	1,698±0,141	1,527±0,124	YO41	1,803±0,097	1,734±0,097
Ü33	2,077±0,162	1,874±0,128	YO10	1,75±0,122	1,668±0,111	YO42	1,771±0,098	1,67±0,144
Ü34	1,924±0,165	1,792±0,084	YO11	1,834±0,12	1,816±0,092	YO43	1,796±0,107	1,687±0,123
Ü35	2,046±0,176	1,845±0,123	YO12	1,704±0,182	1,688±0,14	YO44	1,739±0,114	1,732±0,175
Ü37	1,925±0,131	1,851±0,183	YO13	1,464±0,178	1,425±0,089	YO45	1,753±0,166	1,65±0,167
G2	0,548±0,108	0,538±0,116	YO14	1,511±0,128	1,353±0,171	YO46	1,782±0,135	1,696±0,099
G18	1,539±0,153	1,397±0,153	YO15	1,834±0,138	1,741±0,111	YO47	1,785±0,113	1,638±0,137
G19	0,624±0,165	0,453±0,124	YO16	1,805±0,138	1,778±0,107	YO48	1,819±0,087	1,733±0,098
Z20	1,668±0,093	1,661±0,145	YO17	1,464±0,092	1,57±0,085	YO49	1,758±0,095	1,671±0,126
KB2	1,846±0,101	1,898±0,125	YO18	1,677±0,127	1,744±0,079	YO50	1,776±0,162	1,74±0,145
KB5	1,858±0,09	1,693±0,143	YO19	1,749±0,139	1,579±0,126	YO51	1,881±0,069	1,811±0,12
KB6	1,483±0,129	1,543±0,12	YO20	1,626±0,123	1,52±0,106	YO52	1,734±0,135	1,738±0,147
KB9	1,807±0,076	1,816±0,082	YO21	1,78±0,125	1,687±0,103	YO53	1,73±0,107	1,76±0,115
KB11	1,915±0,151	2,024±0,141						

30 °C ve 37 °C sıcaklıklarda gelişim durumları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $\alpha=0,05$ düzeyinde önemsizdir

Ek 14. İzolatların farklı pH değerlerine sahip besiyerlerinde gelişim durumları

İzolat	pH 6,5	pH 8,0	pH 2,5	İzolat	pH 6,5	pH 8,0	pH 2,5
Kontrol	1,761±0,033	1,742±0,049	1,349±0,025	Ü31	1,765±0,081	1,711±0,079	0,105±0,057
GT4	1,426±0,104	1,353±0,131	-	Ü32	1,076±0,11	1,622±0,103	0,087±0,074
GT18	1,578±0,12	1,504±0,086	-	Ü33	1,769±0,077	1,78±0,088	0,314±0,084
GT20	1,716±0,075	1,662±0,071	-	Ü34	1,812±0,125	1,708±0,103	0,386±0,041
GT24	1,565±0,111	1,531±0,072	-	Ü35	1,738±0,104	1,834±0,104	0,165±0,05
GT31	1,747±0,069	1,628±0,067	-	Ü36	1,881±0,08	1,557±0,105	0,786±0,044
GT33	1,784±0,051	1,638±0,074	-	Ü37	1,727±0,074	1,781±0,073	0,281±0,08
GT34	1,496±0,086	1,437±0,101	-	Ü38	1,749±0,101	1,671±0,084	0,531±0,045
ZK4	2,146±0,085	2,001±0,13	-	Ü39	1,805±0,103	1,645±0,108	0,145±0,037
ZK17	1,923±0,123	1,889±0,132	-	Ü40	1,579±0,083	1,663±0,127	0,813±0,054
ZK21	1,946±0,081	1,964±0,123	-	Ü41	1,767±0,106	1,754±0,116	0,307±0,066
ZK22	1,793±0,125	1,676±0,119	-	Ü42	1,334±0,082	1,335±0,119	0,089±0,041
ZE20	1,928±0,088	1,912±0,13	-	Ü43	1,192±0,108	1,468±0,107	0,062±0,059
ZE38	1,547±0,15	1,514±0,132	-	Ü44	1,489±0,099	1,673±0,086	0,981±0,032
ZY25	2,01±0,115	1,938±0,123	-	Ü45	1,718±0,104	1,608±0,096	0,129±0,072
ZY26	1,718±0,093	1,703±0,119	-	Ü46	1,809±0,137	1,361±0,061	0,306±0,061
B2	1,681±0,146	1,684±0,13	-	Ü47	1,738±0,083	1,385±0,103	0,325±0,09
B4	1,588±0,089	1,508±0,132	-	YO1	1,556±0,062	1,652±0,091	-
B7	2,095±0,097	2,078±0,123	-	YO2	1,742±0,082	1,619±0,108	-
B12	1,721±0,104	1,539±0,119	-	YO3	1,458±0,1	1,706±0,058	-
B16	1,79±0,071	1,775±0,086	-	YO4	1,467±0,09	1,764±0,111	1,026±0,081
B18	1,584±0,091	1,528±0,093	-	YO5	1,407±0,112	1,602±0,067	1,209±0,08
KK22	1,877±0,088	1,525±0,13	-	YO6	1,762±0,092	1,762±0,101	-
P2	1,838±0,085	1,893±0,13	-	YO7	1,642±0,067	1,767±0,086	-
P7	1,529±0,109	1,422±0,091	1,208±0,085	YO8	1,491±0,086	1,928±0,107	-
P8	1,948±0,062	1,423±0,125	-	YO9	1,693±0,124	1,743±0,096	1,234±0,06
P10	1,872±0,096	1,632±0,093	-	YO10	1,742±0,09	1,695±0,111	1,03±0,08
P13	1,737±0,071	1,728±0,057	-	YO11	1,804±0,117	1,809±0,101	1,052±0,064
P14	1,86±0,109	1,429±0,097	-	YO12	1,69±0,081	1,705±0,118	-
P15	1,462±0,092	1,382±0,1	-	YO13	1,458±0,113	1,758±0,069	1,024±0,059
P17	1,424±0,108	1,435±0,103	1,177±0,053	YO14	1,46±0,094	1,883±0,097	-
P20	1,821±0,104	1,713±0,123	-	YO15	1,812±0,128	1,776±0,134	1,035±0,069
P22	1,525±0,102	1,907±0,105	-	YO16	1,774±0,117	1,663±0,088	-
P25	1,791±0,091	1,791±0,131	-	YO17	1,472±0,131	1,668±0,115	1,05±0,035
P31	1,67±0,108	1,587±0,089	-	YO18	1,679±0,086	1,757±0,113	1,241±0,04
P34	1,596±0,122	1,453±0,076	1,332±0,047	YO19	1,751±0,109	1,786±0,082	1,094±0,063
P36	1,885±0,067	1,958±0,105	-	YO20	1,639±0,093	1,697±0,068	1,198±0,073
P40	1,574±0,105	1,622±0,094	-	YO21	1,784±0,112	1,699±0,094	1,085±0,045
P41	1,824±0,12	1,596±0,126	-	YO22	1,46±0,109	1,748±0,108	1,214±0,049
P49	1,559±0,095	1,501±0,094	-	YO23	1,649±0,134	1,632±0,099	1,027±0,084
P51	1,946±0,082	1,671±0,103	-	YO24	1,56±0,104	1,641±0,096	1,154±0,087
P56	1,851±0,099	1,943±0,115	-	YO25	1,692±0,107	1,754±0,112	1,246±0,068
P57	1,611±0,098	1,876±0,113	-	YO26	1,792±0,1	1,795±0,123	0,99±0,067
P59	1,655±0,068	1,644±0,092	-	YO27	1,734±0,066	1,73±0,097	1,152±0,062

Ek 14. İzolatların farklı pH değerlerine sahip besiyerlerinde gelişim durumları (devamı)

İzolat	pH 6,5	pH 8,0	pH 2,5	İzolat	pH 6,5	pH 8,0	pH 2,5
Ü1	1,964±0,091	1,887±0,118	0,744±0,05	YO28	1,756±0,087	1,728±0,061	1,527±0,082
Ü2	1,693±0,122	1,865±0,098	0,234±0,054	YO29	1,73±0,09	1,752±0,081	1,099±0,071
Ü3	1,727±0,087	1,886±0,102	0,149±0,054	YO30	1,744±0,128	1,776±0,094	1,237±0,072
Ü4	1,704±0,128	1,667±0,125	0,782±0,038	YO31	1,814±0,056	1,786±0,059	1,281±0,022
Ü5	1,802±0,056	1,781±0,107	0,667±0,029	YO32	1,503±0,132	1,748±0,1	1,227±0,044
Ü6	1,902±0,107	1,812±0,119	0,562±0,079	YO33	1,7±0,12	1,764±0,084	1,333±0,082
Ü7	1,853±0,124	1,691±0,072	0,644±0,058	YO34	1,747±0,129	1,735±0,123	1,033±0,048
Ü8	1,794±0,107	1,663±0,099	0,763±0,032	YO35	1,765±0,084	1,799±0,073	1,16±0,095
Ü9	1,291±0,086	1,885±0,126	0,46±0,058	YO36	1,81±0,103	1,822±0,117	1,102±0,08
Ü14	1,914±0,075	1,818±0,087	0,208±0,042	YO37	1,757±0,072	1,741±0,08	-
Ü15	1,701±0,086	1,796±0,131	1,512±0,052	YO38	1,713±0,09	1,823±0,093	1,064±0,073
Ü16	1,767±0,094	1,62±0,071	1,086±0,084	YO39	1,824±0,073	1,833±0,126	1,351±0,056
Ü17	1,785±0,099	1,734±0,054	1,874±0,085	YO40	1,757±0,06	1,812±0,071	1,201±0,042
Ü18	1,792±0,076	1,646±0,113	0,917±0,039	YO41	1,831±0,097	1,787±0,106	1,202±0,048
Ü19	1,773±0,091	1,749±0,066	0,698±0,04	YO42	1,797±0,085	1,819±0,135	1,317±0,053
Ü20	1,715±0,101	1,687±0,096	0,602±0,073	YO43	1,782±0,077	1,709±0,106	1,351±0,048
Ü21	1,673±0,06	1,702±0,133	0,037±0,05	YO44	1,768±0,135	1,767±0,108	1,346±0,042
Ü22	1,788±0,11	1,688±0,109	0,013±0,061	YO45	1,795±0,096	1,784±0,068	1,273±0,068
Ü23	1,57±0,133	1,778±0,105	0,095±0,076	YO46	1,755±0,069	1,76±0,128	1,229±0,043
Ü24	1,899±0,127	1,631±0,146	0,092±0,051	YO47	1,805±0,107	1,774±0,086	1,256±0,054
Ü25	1,632±0,127	1,65±0,105	0,119±0,064	YO48	1,798±0,106	1,837±0,108	1,454±0,058
Ü26	1,615±0,127	1,686±0,107	0,073±0,077	YO49	1,786±0,114	1,771±0,099	1,191±0,035
Ü27	1,023±0,148	1,69±0,088	0,117±0,056	YO50	1,82±0,107	1,742±0,147	1,434±0,064
Ü28	1,36±0,097	1,667±0,077	0,085±0,063	YO51	1,898±0,105	1,791±0,125	1,416±0,07
Ü29	1,361±0,1	1,855±0,112	0,109±0,08	YO52	1,717±0,114	1,686±0,132	1,265±0,071
Ü30	1,925±0,085	1,558±0,13	0,088±0,069	YO53	1,722±0,126	1,727±0,124	1,169±0,06

Ek 15. pH 2,5 ortamında iyi gelişim gösteren izolatlar

	pH 6,5	pH 8,0	pH 2,5		pH 6,5	pH 8,0	pH 2,5
Kontrol	1,761±0,033 ^A	1,742±0,049 ^A	1,349±0,025 ^B	YO28	1,756±0,087 ^A	1,728±0,061 ^A	1,527±0,082 ^{B**}
ZE20	1,928±0,088 ^A	1,912±0,13 ^A	1,345±0,066 ^B	YO29	1,73±0,09 ^A	1,752±0,081 ^A	1,099±0,071 ^{B**}
Ü15	1,701±0,086 ^A	1,796±0,131 ^A	1,512±0,052 ^{B*}	YO30	1,744±0,128 ^A	1,776±0,094 ^A	1,237±0,072 ^B
Ü16	1,767±0,094 ^A	1,62±0,071 ^B	1,086±0,084 ^{C**}	YO31	1,814±0,056 ^A	1,786±0,059 ^A	1,281±0,022 ^B
Ü17	1,785±0,099 ^{AB}	1,734±0,054 ^B	1,874±0,085 ^{A**}	YO32	1,503±0,132 ^{B*}	1,748±0,1 ^A	1,227±0,044 ^C
P7	1,529±0,109 ^A	1,422±0,091 ^{A**}	1,208±0,085 ^B	YO33	1,701±0,12 ^A	1,764±0,084 ^A	1,333±0,082 ^B
P17	1,424±0,108 ^{A**}	1,435±0,103 ^{A**}	1,177±0,053 ^{B**}	YO34	1,747±0,129 ^A	1,735±0,123 ^A	1,033±0,048 ^{B**}
P34	1,596±0,122 ^A	1,453±0,076 ^{B**}	1,332±0,047 ^B	YO35	1,765±0,084 ^A	1,799±0,073 ^A	1,16±0,095 ^{B**}
YO4	1,467±0,09 ^{B**}	1,764±0,111 ^A	1,026±0,081 ^{C**}	YO36	1,81±0,103 ^A	1,822±0,117 ^A	1,102±0,08 ^{B**}
YO5	1,407±0,112 ^{B**}	1,602±0,067 ^A	1,209±0,08 ^C	YO38	1,713±0,09 ^A	1,823±0,093 ^A	1,064±0,073 ^{B**}
YO9	1,693±0,124 ^A	1,743±0,096 ^A	1,234±0,06 ^C	YO39	1,824±0,073 ^A	1,833±0,126 ^A	1,351±0,056 ^B
YO10	1,742±0,09 ^A	1,695±0,111 ^A	1,03±0,08 ^{C**}	YO40	1,757±0,06 ^A	1,812±0,071 ^A	1,201±0,042 ^B
YO11	1,804±0,117 ^A	1,809±0,101 ^A	1,052±0,064 ^{C**}	YO41	1,831±0,097 ^A	1,787±0,106 ^A	1,202±0,048 ^B
YO13	1,458±0,113 ^{B**}	1,758±0,069 ^A	1,024±0,059 ^{C**}	YO42	1,797±0,085 ^A	1,819±0,135 ^A	1,317±0,053 ^B
YO15	1,812±0,128 ^A	1,776±0,134 ^A	1,035±0,069 ^{B**}	YO43	1,782±0,077 ^A	1,709±0,106 ^A	1,351±0,048 ^B
YO17	1,472±0,131 ^{B**}	1,668±0,115 ^A	1,05±0,035 ^{C**}	YO44	1,768±0,135 ^A	1,767±0,108 ^A	1,346±0,042 ^B
YO18	1,679±0,086 ^A	1,757±0,113 ^A	1,241±0,04 ^B	YO45	1,795±0,096 ^A	1,784±0,068 ^A	1,273±0,068 ^B
YO19	1,751±0,109 ^A	1,786±0,082 ^A	1,094±0,063 ^{B**}	YO46	1,755±0,069 ^A	1,76±0,128 ^A	1,229±0,043 ^B
YO20	1,639±0,093 ^A	1,697±0,068 ^A	1,198±0,073 ^B	YO47	1,805±0,107 ^A	1,774±0,086 ^A	1,256±0,054 ^B
YO21	1,784±0,112 ^A	1,699±0,094 ^A	1,085±0,045 ^{B**}	YO48	1,798±0,106 ^A	1,837±0,108 ^A	1,454±0,058 ^B
YO22	1,46±0,109 ^{B**}	1,748±0,108 ^A	1,214±0,049 ^C	YO49	1,786±0,114 ^A	1,771±0,099 ^A	1,191±0,035 ^{B*}
YO23	1,649±0,134 ^A	1,632±0,099 ^A	1,027±0,084 ^{B**}	YO50	1,82±0,107 ^A	1,742±0,147 ^A	1,434±0,064 ^B
YO24	1,56±0,104 ^A	1,641±0,096 ^A	1,154±0,087 ^{B**}	YO51	1,898±0,105 ^A	1,791±0,125 ^A	1,416±0,07 ^B
YO25	1,692±0,107 ^A	1,754±0,112 ^A	1,246±0,068 ^B	YO52	1,717±0,114 ^A	1,686±0,132 ^A	1,265±0,071 ^B
YO26	1,792±0,1 ^A	1,795±0,123 ^A	0,99±0,067 ^{B**}	YO53	1,722±0,126 ^A	1,727±0,124 ^A	1,169±0,06 ^{B**}
YO27	1,734±0,066 ^A	1,73±0,097 ^A	1,152±0,062 ^{B**}				

İlgili izolat için farklı harfle gösterilen (A, B, C) pH değerlerine ait ortalamalar arasındaki farklılık $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir.

İlgili pH değerleri için izolatların ortalamaları ile kontrol ortalaması arasındaki farklılıklar, *; $\alpha=0,05$ düzeyinde, **; $\alpha=0,01$ düzeyinde önemlidir

Ek 16. İzolatların yapay mide sıvısında % canlı kalma oranları

İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık
Kontrol	96±2,7 ^{abcd}	YO5	66±0 ^{opqr}	YO20	76±1,3 ^{ijkl}	YO29	91±1,48 ^{bcdef}	YO38	70±4,04 ^{klmnop}
ZE20	100±1,82 ^a	YO9	60±0 ^{qrs}	YO21	77±2,74 ^{hijk}	YO30	91±3,61 ^{bcdef}	YO39	70±0,89 ^{ijklmnop}
P7	56±4,58 ^s	YO10	76±2,7 ^{ijkl}	YO22	78±2,74 ^{ghij}	YO31	69±3,56 ^{klmnop}	YO40	74±1,14 ^{ijklmno}
P17	70±1,1 ^{klmnop}	YO11	63±5,26 ^{pqrs}	YO23	78±4,9 ^{ghij}	YO32	69±2,95 ^{lmnop}	YO41	76±5,67 ^{ijkl}
P34	60±1,79 ^{rs}	YO13	66±3,63 ^{nopqr}	YO24	71±1,92 ^{ijklmno}	YO33	85±2,24 ^{fgh}	YO42	91±2,59 ^{bcdef}
Ü15	99±2,12 ^{ab}	YO15	68±4,16 ^{lmnop}	YO25	89±2,07 ^{cdef}	YO34	93±1,95 ^{abcde}	YO43	86±0,71 ^{efg}
Ü16	98±2,28 ^{abc}	YO17	79±3,24 ^{ghi}	YO26	74±2,7 ^{ijklm}	YO35	77±3,49 ^{hijk}	YO44	78±4,6 ^{ghij}
Ü17	99±4,02 ^{ab}	YO18	66±4,28 ^{mnpqr}	YO27	89±3,54 ^{def}	YO36	68±4,71 ^{lmnop}	YO45	101±2,7 ^a
YO4	72±3,35 ^{ijklmno}	YO19	74±2,7 ^{ijklmn}	YO28	70±2,88 ^{klmnop}	YO37	97±2,28 ^{abc}	YO46	68±4,64 ^{lmnopq}

Farklı harfle gösterilen (a, b, c, d...) canlılık değerlerine ait ortalamalar arasındaki farklılık $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 17. İzolatların yapay safra sıvısında % canlı kalma oranları

İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık
Kontrol	94±7,14 ^{abc}	YO5	100±6,56 ^{ab}	YO20	70±5,38 ^{hi}	YO29	95±5,48 ^{ab}	YO38	98±3,77 ^{ab}
ZE20	100±5,5 ^{ab}	YO9	100±4,83 ^{ab}	YO21	95±4,51 ^{ab}	YO30	99±8,35 ^{ab}	YO39	91±1,83 ^{bcdef}
P7	100±3,74 ^{ab}	YO10	100±2,45 ^{ab}	YO22	94±7,35 ^{abc}	YO31	95±5,44 ^{ab}	YO40	102±4,57 ^a
P17	100±4,03 ^{ab}	YO11	100±1,5 ^{ab}	YO23	98±4,57 ^{ab}	YO32	98±1,83 ^{ab}	YO41	99±4,69 ^{ab}
P34	84±1,15 ^{cdefg}	YO13	100±5,29 ^{ab}	YO24	93±2,52 ^{abcde}	YO33	94±5,2 ^{abcd}	YO42	96±2,63 ^{ab}
Ü15	62±3,77 ⁱ	YO15	94±1,71 ^{abc}	YO25	92±4,79 ^{abcde}	YO34	99±6,95 ^{ab}	YO43	99±6,27 ^{ab}
Ü16	75±3 ^{gh}	YO17	82±2,87 ^{fg}	YO26	99±4,99 ^{ab}	YO35	101±3,42 ^{ab}	YO44	100±4,86 ^{ab}
Ü17	100±8,74 ^{ab}	YO18	83±2,5 ^{defg}	YO27	100±7,72 ^{ab}	YO36	101±4,24 ^{ab}	YO45	100±5,85 ^{ab}
YO4	100±3,16 ^{ab}	YO19	96±4,83 ^{ab}	YO28	98±3,86 ^{ab}	YO37	83±3,37 ^{efg}	YO46	92±3,16 ^{abcdef}

Farklı harfle gösterilen (a, b, c, d...) canlılık değerlerine ait ortalamalar arasındaki farklılık $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 18. İzolatların mide ve safra sıvısı denemelerinde gösterdikleri genel % canlılık oranları

İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık	İzolat	% Canlılık
Kontrol	90±5,56	YO5	66±4,5**	YO20	53±5,06**	YO29	86±5,07	YO38	69±6,99**
ZE20	100±5,56	YO9	60±2,71**	YO21	73±6,4*	YO30	91±9,98	YO39	64±1,41**
P7	56±4,69**	YO10	76±3,11*	YO22	73±6,86*	YO31	66±2,45**	YO40	74±4,5*
P17	70±2,94**	YO11	63±6,45**	YO23	76±7,27*	YO32	68±4,35**	YO41	75±7,07*
P34	50±2,5**	YO13	66±6,24**	YO24	66±3,59**	YO33	80±3,42	YO42	87±3,5
Ü15	61±4,9**	YO15	65±5,29**	YO25	82±5,74	YO34	92±5,6	YO43	85±4,99
Ü16	73±2,38**	YO17	65±4,43**	YO26	73±3,4*	YO35	78±5,38*	YO44	78±7,94*
Ü17	99±12,04	YO18	56±4,92**	YO27	89±8,96	YO36	69±7,44**	YO45	101±8,3
YO4	72±5,74**	YO19	71±4,04**	YO28	69±2,75**	YO37	81±5,35	YO46	63±6,73**

İlgili canlılık değerleri için izolatların ortalamaları ile kontrol ortalaması arasındaki farklılıklar, *, $\alpha=0,05$ düzeyinde, **, $\alpha=0,01$ düzeyinde önemlidir

Ek 19. İzolatların % agregasyon oranları

İzolat	2. saat	4. saat	24. saat	İzolat	2. saat	4. saat	24. saat
Kontrol	38±1,2 ^{Cefg}	50±0,8 ^{Bcd}	90±1,1 ^{Aab}	YO25	20±1,2 ^{Cjklmnop}	39±1 ^{Bfgh}	91±0,3 ^{Aab}
ZE20	15±1,1 ^{Clmnopqrs}	28±1 ^{Bopqrstuv}	77±0,9 ^{Ae}	YO26	15±1,1 ^{Clmnopqrs}	16±1,4 ^{Bwx}	92±0,9 ^{Aab}
P7	60±1,4 ^{Cabc}	71±0,7 ^{Ba}	91±0,8 ^{Ac}	YO27	43±0,7 ^{Cde}	46±0,7 ^{Bcde}	92±0,7 ^{Aab}
P17	29±1,4 ^{Cghij}	61±0,6 ^{Bb}	84±0,3 ^{Aab}	YO28	36±1 ^{Cefg}	36±0,9 ^{Bghi}	90±0,8 ^{Aab}
P34	17±1,3 ^{Cklmnopqr}	31±0,9 ^{Bklmnopq}	91±0,7 ^{Aab}	YO29	29±1,4 ^{Bghij}	33±0,7 ^{Bijk}	91±0,7 ^{Aab}
Ü15	30±1,1 ^{Cfghi}	38±1,4 ^{Bijklmn}	78±1,1 ^{Ade}	YO30	21±1,1 ^{Cijklmn}	31±0,6 ^{Bklmnop}	89±1,1 ^{Aab}
Ü16	23±1,6 ^{Cijklm}	46±1,7 ^{Bfgh}	81±1,4 ^{Acd}	YO31	17±1,2 ^{Cklmnopqr}	36±0,7 ^{Bijkl}	90±0,3 ^{Aab}
Ü17	19±1,6 ^{Cklmnopqr}	38±2,1 ^{Bklmnopq}	74±1,7 ^{Ae}	YO32	7±1,4 ^{Cs}	17±0,8 ^{Bx}	91±0,9 ^{Aab}
YO4	66±1,2 ^{Ca}	77±0,8 ^{Ba}	91±0,8 ^{Aab}	YO33	9±0,9 ^{Crs}	18±1,2 ^{Bvwx}	91±0,5 ^{Aab}
YO5	64±0,2 ^{Cab}	74±0,5 ^{Ba}	90±0,8 ^{Aab}	YO34	13±1,2 ^{Cnopqrs}	22±0,8 ^{Buvwx}	90±1,2 ^{Aab}
YO9	17±0,7 ^{Cklmnopqr}	43±0,9 ^{Bfg}	90±1,2 ^{Aab}	YO35	16±1,1 ^{Clmnopqrs}	25±1,3 ^{Bnopqrst}	89±0,6 ^{Aab}
YO10	10±1,1 ^{Cqrs}	27±0,7 ^{Bqrstuv}	89±1,1 ^{Ab}	YO36	11±0,9 ^{Cpqrs}	19±1,4 ^{Buvwx}	89±0,2 ^{Ab}
YO11	56±1,2 ^{Bbc}	59±0,3 ^{Bb}	90±0,9 ^{Aab}	YO37	52±1,4 ^{Bcd}	53±0,6 ^{Bc}	90±1,3 ^{Aab}
YO13	14±1,2 ^{Cmnopqrs}	28±0,9 ^{Bopqrstu}	88±1,1 ^{Ab}	YO38	14±0,7 ^{Cmnopqrs}	27±0,9 ^{Bstuvw}	91±0,8 ^{Aab}
YO15	15±0,6 ^{Cklmnopqrs}	31±0,7 ^{Bklmnopq}	93±0,9 ^{Aab}	YO39	39±1,5 ^{Cef}	47±0,6 ^{Bdef}	92±0,6 ^{Aab}
YO17	13±0,9 ^{Cnopqrs}	18±1,8 ^{Brstuvw}	89±0,7 ^{Ab}	YO40	18±1,3 ^{Bklmnopqr}	22±0,9 ^{Bwx}	91±1,1 ^{Aab}
YO18	17±0,9 ^{Cklmnopqr}	24±1,5 ^{Blmnopqr}	89±1,1 ^{Aab}	YO41	23±1,3 ^{Chijkl}	38±0,8 ^{Bhij}	89±1 ^{Aab}
YO19	22±1,1 ^{Cijklmn}	24±1,5 ^{Bmnopqrs}	91±1 ^{Aab}	YO42	11±1,2 ^{Copqrs}	27±1,2 ^{Buvwx}	92±0,4 ^{Aab}
YO20	33±1,1 ^{Cfgh}	35±0,9 ^{Bghi}	89±0,3 ^{Ab}	YO43	17±1,7 ^{Cklmnopqr}	28±0,8 ^{Bpqrstuv}	90±0,7 ^{Aab}
YO21	17±0,7 ^{Cklmnopqr}	27±1,4 ^{Bjklmno}	91±0,9 ^{Aab}	YO44	59±1,4 ^{Babc}	61±0,2 ^{Bb}	92±0,7 ^{Aab}
YO22	16±0,8 ^{Cklmnopqrs}	24±1,4 ^{Bopqrstu}	90±0,4 ^{Aab}	YO45	18±1,4 ^{Cklmnopqr}	28±0,8 ^{Bpqrstuv}	93±0,5 ^{Aa}
YO23	21±0,8 ^{Cijklmno}	34±0,6 ^{Bijklm}	89±1,2 ^{Ab}	YO46	19±1,2 ^{Cklmnopq}	27±1,2 ^{Btuvw}	92±0,6 ^{Aab}
YO24	26±0,9 ^{Chijk}	46±0,9 ^{Bef}	90±0,1 ^{Aab}				

İlgili izolatin farklı harfle gösterilen (A, B, C), 2., 4. ve 24. saatlerdeki agregasyon ortalamaları arasındaki farklılık $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir
İlgili agregasyon sürelerinde izolatların farklı harfle gösterilen (a, b, c, d...) agregasyon ortalamaları arasındaki farklılık $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 20. İzolatların % hidrofobisite oranları

İzolat	% Hidrofobisite	İzolat	% Hidrofobisite	İzolat	% Hidrofobisite	İzolat	% Hidrofobisite	İzolat	% Hidrofobisite
Kontrol	21±1,53 ^{ef}	YO5	4±1,15 ^{lmnop}	YO20	3±4,62 ^{mnop}	YO29	1±1,15 ^p	YO38	2±1,53 ^{op}
ZE20	66±5,03 ^a	YO9	2±2 ^{op}	YO21	3±1,53 ^{op}	YO30	10±0,58 ^{hijk}	YO39	2±4,93 ^{op}
P7	47±2,65 ^c	YO10	9±2,08 ^{ijklm}	YO22	1±0,58 ^p	YO31	15±0,58 ^{gh}	YO40	2±1,73 ^{op}
P17	1±1,15 ^p	YO11	2±2,31 ^{op}	YO23	14±1,53 ^{ghi}	YO32	4±1,73 ^{lmnop}	YO41	2±1 ^{op}
P34	26±2,08 ^e	YO13	1±3,46 ^{op}	YO24	10±0,58 ^{hijkl}	YO33	2±1,53 ^{op}	YO42	2±3,46 ^{op}
Ü15	54±2,65 ^b	YO15	4±5,21 ^{mnop}	YO25	17±2,52 ^{fg}	YO34	3±5,77 ^p	YO43	8±1,53 ^{ijklmno}
Ü16	56±4,51 ^b	YO17	1±0,58 ^p	YO26	13±3,51 ^{ghij}	YO35	9±0 ^{ijklmn}	YO44	1±1,15 ^p
Ü17	40±3,51 ^d	YO18	7±1,73 ^{klmnop}	YO27	5±1 ^{klmnop}	YO36	11±0,58 ^{hijk}	YO45	1±0,58 ^p
YO4	2±2,89 ^{op}	YO19	3±4,04 ^{nop}	YO28	4±1,53 ^{mnop}	YO37	1±1,15 ^p	YO46	2±4,04 ^{op}

Farklı harfle gösterilen (a, b, c, d...) hidrofobisite ortalamaları arasındaki farklılık $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 21. İzolatların antioksidan aktivite değerleri (%)

İzolat	Antioksidan Aktivite (%)	İzolat	Antioksidan Aktivite (%)	İzolat	Antioksidan Aktivite (%)	İzolat	Antioksidan Aktivite (%)
SB	30±1,9 ^a	YO 11	19±1,65 ^{ghijk}	YO 26	28±1,27 ^{abcd}	YO 38	19±2,61 ^{fghijk}
ZE20	22±0,48 ^{defghijk}	YO 13	24±3,23 ^{abcdeghi}	YO 27	20±1,08 ^{efghijk}	YO 39	30±2,69 ^{abc}
P7	24±0,87 ^{abcdeghi}	YO 15	26±2,44 ^{abcde}	YO 28	25±2,47 ^{abcdegh}	YO 40	19±1,52 ^{fghijk}
P17	26±3,02 ^{abcde}	YO 17	31±3,23 ^a	YO 29	16±0,05 ^{jk}	YO 41	20±1,86 ^{efghijk}
P34	26±0,71 ^{abcde}	YO 18	17±2,25 ^{jk}	YO 30	18±0,59 ^{ijk}	YO 42	22±0,75 ^{defghij}
Ü15	23±2,06 ^{cdefghi}	YO 19	20±2,98 ^{efghijk}	YO 31	25±1,95 ^{abcdegh}	YO 43	25±3,04 ^{abcde}
Ü16	22±0,57 ^{defghijk}	YO 20	19±2,72 ^{ghijk}	YO 32	22±2,67 ^{defghij}	YO 44	19±2,05 ^{fghijk}
Ü17	22±1,57 ^{defghij}	YO 21	19±2,92 ^{fghijk}	YO 33	22±0,82 ^{defghij}	YO 45	17±1,39 ^{ijk}
YO 4	25±0,26 ^{abcde}	YO 22	17±3,51 ^{ijk}	YO 34	15±0,34 ^k	YO 46	19±2,12 ^{ijk}
YO 5	26±0,4 ^{6abcde}	YO 23	19±1,6 ^{fghijk}	YO 35	30±2,61 ^{ab}		
YO 9	17±0,66 ^{jk}	YO 24	20±1,94 ^{efghijk}	YO 36	24±3,46 ^{bcdeghi}		
YO 10	18±2,34 ^{hijk}	YO 25	20±0,8 ^{efghijk}	YO 37	20±2,38 ^{efghijk}		

Farklı harfle gösterilen (a, b, c, d...) antioksidan aktivite ortalamaları arasındaki farklılık $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 22. İzolatların CFS'lerinin patojenleri baskılama seviyeleri (mm)

İzolat	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. enterica</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Kloramfenikol	35±1 ^{Aa}	35±1 ^{Aa}	36±1 ^{Aa}	34±1 ^{Aa}	35±1 ^{Aa}
<i>S. boulardii</i>	16±0,57 ^{ABe}	18±3,51 ^{ABcde}	20±0,57 ^{ABcd}	16±0 ^{Bb}	20±0 ^{ABbcd}
ZE20	17±0 ^{Ccde}	20±0,57 ^{Bbcde}	22±0,57 ^{ABcd}	16±0 ^{Cb}	20±1 ^{Bbcd}
P7	17±0,57 ^{BCcde}	21±1 ^{ABcde}	22±0,57 ^{Ab}	15±0,57 ^{Cb}	18±1 ^{Bbcd}
P17	16±0 ^{Be}	22±2,51 ^{ABcd}	21±1 ^{ABcd}	15±0,57 ^{Bb}	17±0,57 ^{Bd}
P34	19±0 ^{ABcde}	20±2,51 ^{ABcde}	19±0 ^{Acde}	15±0,57 ^{Bb}	19±1 ^{ABcd}
Ü15	18±0,57 ^{ABcde}	19±1,52 ^{ABcde}	19±1 ^{Acde}	16±0 ^{Bb}	18±0 ^{ABbcd}
Ü16	18±1 ^{ABcde}	18±0,57 ^{Ade}	19±0,57 ^{Ad}	15±1 ^{Bb}	18±1 ^{ABcd}
Ü17	17±0,57 ^{BCbcde}	22±1,52 ^{Abc}	20±0,57 ^{ABbcd}	15±1,52 ^{Bb}	20±0 ^{ABbcd}
YO4	19±1,52 ^{Bbcde}	22±0,57 ^{Abc}	19±0,57 ^{Bbcd}	14±1 ^{Cb}	19±0,57 ^{Bbcd}
YO5	20±0,57 ^{Abc}	17±0 ^{Be}	20±1,52 ^{ABcd}	16±0,57 ^{Bb}	21±0 ^{Ab}
YO9	19±0 ^{ABcde}	20±1,52 ^{ABcde}	19±1,52 ^{ABcd}	15±0,57 ^{Bb}	19±0,57 ^{ABcd}
YO10	17±1,52 ^{ABbcde}	19±1 ^{ABcde}	20±1 ^{ABcd}	15±0,57 ^{Bb}	18±1 ^{ABbcd}
YO11	19±0,57 ^{ABcde}	20±2 ^{ABcde}	21±0,57 ^{ABcd}	15±0,57 ^{Bb}	19±0 ^{ABcd}
YO13	19±1 ^{ABcde}	18±0 ^{ABcde}	21±1,52 ^{ABcd}	15±1,52 ^{Bb}	19±0 ^{ABbcd}
YO15	18±1 ^{BCbcde}	17±0 ^{Ce}	21±0 ^{ABcd}	16±0,57 ^{Cb}	19±1 ^{Bbcd}
YO17	17±0,57 ^{Cde}	19±1 ^{Bbcde}	22±0,57 ^{Ab}	15±0,57 ^{Cb}	19±1 ^{Bbcd}
YO18	19±0 ^{ABcde}	21±1,52 ^{ABcde}	21±1 ^{ABcd}	15±0 ^{Bb}	20±1 ^{ABcd}
YO19	18±0 ^{BCbcde}	22±1 ^{ABcd}	20±1 ^{ABbcd}	16±0 ^{Cb}	19±2 ^{Bbcd}
YO20	18±1 ^{Bbcde}	19±0,57 ^{ABbcde}	22±0,57 ^{Ab}	15±1,52 ^{Cb}	19±0 ^{ABbcd}
YO21	18±0,57 ^{Bbcde}	20±1 ^{ABcde}	19±0 ^{ABcd}	16±0,57 ^{Cb}	18±1 ^{Bbcd}
YO22	17±0,57 ^{Bde}	21±1,52 ^{ABcde}	21±1 ^{ABcd}	15±1 ^{Bb}	18±0,57 ^{Bcd}
YO23	18±1,52 ^{ABcde}	19±1 ^{ABcde}	19±0,57 ^{ABcd}	15±1 ^{Bb}	20±0 ^{ABcd}
YO24	17±1,52 ^{ABbcde}	20±1,52 ^{ABcde}	20±0 ^{ABcd}	15±0,57 ^{Bb}	18±0 ^{ABbcd}

Ek 23. İzolatların CFS'lerinin patojenleri baskılama seviyeleri (mm) (devamı)					
İzolat	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. enterica</i>	<i>L. monocytogenes</i>
YO25	17±0 ^{BCde}	22±2,51 ^{Abcd}	20±1,52 ^{ABbcd}	16±0,57 ^{Cb}	19±0 ^{ABCbcd}
YO26	19±0,57 ^{ABbcd}	19±1 ^{ABbcde}	20±0,57 ^{Abcd}	16±0,57 ^{Cb}	18±0 ^{BCbcd}
YO27	19±0,57 ^{Bbcde}	21±0,57 ^{Abcde}	20±1 ^{ABbcd}	16±1 ^{Cb}	20±1 ^{ABbcd}
YO28	17±0,57 ^{BCbcde}	20±0,57 ^{Abcde}	20±1 ^{Abcd}	16±1 ^{Cb}	19±1 ^{ABbcd}
YO29	19±1,52 ^{Abcd}	18±1,52 ^{Acde}	20±0,57 ^{Abcd}	15±0,57 ^{Bb}	19±0 ^{Abcd}
YO30	19±0,57 ^{ABbcde}	20±3 ^{Abcde}	20±0,57 ^{Abcd}	15±0 ^{Bb}	20±1 ^{Abcd}
YO31	19±0,57 ^{Abcd}	22±2 ^{Abcd}	21±0 ^{Abcd}	14±0,57 ^{Bb}	19±0,57 ^{Abcd}
YO32	19±1,52 ^{BCbcde}	22±0,57 ^{Abc}	20±0 ^{Bbcd}	14±0 ^{Db}	18±0,57 ^{Ccd}
YO33	18±0,57 ^{Bbcde}	20±0 ^{ABbcde}	22±1,52 ^{Abcd}	14±1 ^{Cb}	19±0 ^{Bbcd}
YO34	20±0 ^{BCb}	21±0,57 ^{Abcde}	19±0 ^{Ccd}	15±0,57 ^{Bb}	21±0,57 ^{ABbc}
YO35	20±0,57 ^{Bbc}	22±1 ^{Abcd}	22±0 ^{Abc}	15±0,57 ^{Cb}	18±0,57 ^{Bbcd}
YO36	19±0,57 ^{Abcd}	21±0,57 ^{Abcde}	22±1,52 ^{Abcd}	15±1 ^{Bb}	20±0 ^{Abcd}
YO37	19±0 ^{ABbcde}	21±0,57 ^{Abcde}	19±0,57 ^{ABbcd}	15±0 ^{Cb}	18±2 ^{Bbcd}
YO38	18±0,57 ^{Abcde}	18±0,57 ^{Acde}	21±1,52 ^{Abcd}	15±0 ^{Bb}	19±1 ^{Abcd}
YO39	18±1,52 ^{Bbcde}	19±1 ^{ABbcde}	21±0,57 ^{Abcd}	15±0 ^{Cb}	18±1 ^{Bbcd}
YO40	17±1 ^{ABcde}	17±0 ^{Ae}	20±1 ^{ABbcd}	16±1 ^{Bb}	19±2 ^{ABbcd}
YO41	18±1 ^{ABbcde}	20±2 ^{Abcde}	20±1 ^{Abcd}	15±1 ^{Bb}	19±1 ^{Abcd}
YO42	19±1,52 ^{ABbcde}	21±0,57 ^{Abcde}	20±1,52 ^{Abcd}	15±1,52 ^{Bb}	18±1 ^{ABbcd}
YO43	18±0 ^{BCbcde}	22±0,57 ^{Abcd}	20±1 ^{ABbcd}	16±1,52 ^{Cb}	20±1 ^{ABbcd}
YO44	17±0,57 ^{Cde}	23±1 ^{Ab}	20±1,52 ^{Bbcd}	15±1 ^{Cb}	20±0,57 ^{Bbcd}
YO45	19±0 ^{ABbcde}	20±1 ^{ABbcde}	21±0,57 ^{Abcd}	16±1,52 ^{Cb}	18±0 ^{Bbcd}
YO46	19±1 ^{ABbcde}	18±1 ^{Bcde}	21±1 ^{Abcd}	15±0,57 ^{Cb}	17±1 ^{BCd}

İlgili izolatın farklı patojenleri baskılama seviyeleri için farklı harfle gösterilen (A, B, C) ortalamalar arasındaki farklılık $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

İlgili patojenin farklı izolatlar tarafından baskılanma seviyeleri için farklı harfle gösterilen (a, b, c, d...) ortalamalar arasındaki farklılık $\alpha=0,05$ düzeyinde önemlidir

Ek 24. İzolatların D1/D2 bölgesi nükleotid dizileri

P7, P34, YO27, YO29, YO30, YO34, YO42, YO45 izolatlarının D1/D2 bölgesi nükleotid dizisi

5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACCGGGATTGCCTTAGTAACGG
CGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGCGTCTTCGACGTCCGAGTT
GTAATTTGAAGAAGGCGACTTTGTAGCTGGTCCTTGTCTATGTTTCCTTGGAACAG
GACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGATCCAGTTATTTGTAAAGT
GCTTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCC
ATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGG
GAAGGGCATTGATCAGACATGGCGTTTGCTTCGGCTTTCGCTGGGCCAGCATCA
GTTTTAGCGGTTGGATAAATCCTCGGGAATGTGGCTCTGCTTCGGTAGAGTGTTAT
AGCCCGTGGGAATACAGCCAGCTGGGACTGAGGATTGCGACTTTTGTCAAGGATG
CTGGCGTAATGGTTAAATGCCGCCCCGTCTTGAAACACGGACC-3'

5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAGCGG
CGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGCACCTTCGGTGTCCGAGTT
GTAATTTGAAGATTGTAACCTTGGGGTTGGCTCTTGTCTATGTTTCTTGGAACAGG
ACGTCACAGAGGGTGAGAATCCCGTGCGATGAGATGCCCAATCCTATGTAAGGT
GCTTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCC
ATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGG
GAAGGGTTTGAGATCAGACTCGATATTTTGTGAGCCTTGCCTTCGTGGCGGGGTG
ACCCGCAGCTTATCGGGCCAGCATCGGTTTGGGCGGTAGGATAATGGCGTAGGA
ATGTGACTTTGCTTCGGTGAAGTGTTATAGCCTGCGTTGATGCTGCCTGCCTAGAC
CGAGGACTGCGATTTTATCAAGGATGCTGGCATAATGATCCCAAACCGCCCGTCT
TGAAACACGGACC-3'

