

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GELENEKSEL YÖNTEMLERLE ÜRETİLMİŞ ZEYTİN VE ZEYTİN
ÜRÜNLERİNDEN MAYALARIN İZOLASYONU, TANIMLANMASI VE
BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Pınar CUMUR

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Suzan ÖZTÜRK YILMAZ

Haziran 2022

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GELENEKSEL YÖNTEMLERLE ÜRETİLMİŞ ZEYTİN VE ZEYTİN
ÜRÜNLERİNDEN MAYALARIN İZOLASYONU, TANIMLANMASI VE
BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Pınar CUMUR

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez / /2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Üye

Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Pınar CUMUR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Prof. Dr. Suzan Öztürk Yılmaz'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan, ilgisini ve önerilerini göstermekten kaçınmayan Arş. Gör. sayın Eda Kılıç Kanak'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim için beni motive eden ve süreç boyunca yardım, bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan Prof. Dr. Ali Tamer başta olmak üzere, tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmamın uygulama sürecinde yardımlarını, yol gösterici önerilerini ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Barış Otlu'ya teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca gösterdikleri sabır ve verdikleri her türlü maddi manevi destekleri ile beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan eşim İsa Keskin ve tüm aileme sonsuz teşekkürler ederim.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: 2020-7-24-33) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
ÖZET	xii
SUMMARY	xiii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1. Probiyotikler.....	4
2.1.1. Probiyotik tanım ve tarihçe	4
2.1.2. Prebiyotik tanım ve tarihçe	5
2.1.3. Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilmesi için gerekli şartlar	6
2.1.4. Probiyotiklerin çalışma mekanizmaları	6
2.1.5. Probiyotiklerin sağlığa yararları	7
2.1.6. Probiyotik olarak kabul edilen türler	11
2.2. Mayalar	12
2.2.1 Bir probiyotik olarak kabul edilen <i>S. boulardii</i>	14
2.2.1.1. <i>S. boulardii</i> 'nin etki mekanizmaları	15
2.2.1.2. <i>S. boulardii</i> 'nin antimikrobiyal etkileri	15
2.2.1.3. <i>S. boulardii</i> 'nin antitoksijenik etkileri	16
2.2.1.3.1. İmmün yanıtı artırma	16

2.2.1.3.2. Anti-inflamatuar etkileri	16
2.2.2. <i>S. boulardi</i> 'nin klinik faydaları	16
2.2.2.1. Antibiyotik kullanımına bağlı diyare	16
2.2.2.2. Seyahate bağlı diyare	17
2.2.2.3. Akut diyare	17
2.2.2.4. Tüple beslenmeye bağlı diyare	18
2.2.2.5. AİDS	18
2.2.2.6. <i>Helikobakter pylori</i> enfeksiyonu	18
2.2.2.7. İnflamatuar bağırsak hastalıkları	19
2.2.2.8. İrritabl bağırsak sendromu	19
2.2.3. Potansiyel probiyotik olarak <i>Yarrowia lipolytica</i>	19
2.2.3.1. <i>Y. lipolytica</i> izole edilen gıdalar	20
2.2.3.2. <i>Y. lipolytica</i> 'nın faydalı etkileri	21
2.2.3.3. Biyoteknolojik uygulamaları	22
2.2.3.4. <i>Y. lipolytica</i> 'nın probiyotik özellikleri ile ilgili çalışmalar	22
2.2.4. Potansiyel probiyotik olarak <i>Wickerhamomyces anomalous</i>	23
2.3. Zeytin, zeytinyağı ve maya ilişkisi	24
2.3.1. Zeytin	24
2.3.1.1. Fermente zeytinlerin mikrobiyatası	26
2.3.1.2. Sofralık zeytinlerden izole edilen maya türleri.....	26
2.3.1.3. Sofralık zeytin işlemede mayaların olumsuz yönleri	29
2.3.1.4. Sofralık zeytin işlemede maya kullanımının faydalı yönleri.....	30
2.3.1.4.1. Teknolojik uygulamalar	30
2.3.1.4.2. İnsan sağlığı üzerine etkileri	32
2.3.2. Zeytinyağı	33
2.3.2.1. Sızma zeytinyağının üretimi ve fizikokimyasal özellikleri	34
2.3.2.2. Zeytinyağı ve maya	35

2.3.2.3. Zeytinyağından izole edilen maya türleri	35
2.3.2.3.1. Maya türlerinin sızma zeytinyağı kalitesine etkisi.....	36
2.4. MALDITOF-MS	37
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	40
3.1. Materyal	40
3.1.1. Maya izolasyonunda kullanılan kaynaklar.....	40
3.1.2. Kullanılan bakteriler	41
3.1.3. Kullanılan besiyerleri	42
3.1.4. Kullanılan tamponlar, çözeltiler ve boyalar	42
3.1.5. Kullanılan araç ve gereçler	43
3.2. Metot	44
3.2.1. Mayaların izolasyonu	44
3.2.2. İzolatların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi	45
3.2.2.1. İzolatların otoagregasyon aktivitelerinin belirlenmesi	45
3.2.2.2. İzolatların koagregasyon aktivitelerinin belirlenmesi	45
3.2.2.3. İzolatların gastrointestinal koşullarda hayatta kalma becerisinin taranması	46
3.2.2.3.1. İzolatların mide sıvısı ortamında hayatta kalma becerisinin taranması	46
3.2.2.3.2. İzolatların pankreatik sıvı ortamında hayatta kalma becerisinin taranması	47
3.2.2.4. İzolatların hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi ...	48
3.2.2.5. İzolatların patojen bakteriler karşısında etkinliklerinin belirlenmesi	48
3.2.2.6. İzolatların antibiyotiklere karşı dirençlerinin belirlenmesi.....	48
3.2.2.7. İzolatların safra tuzuna dirençlerinin taranması.....	49

3.2.2.8. İzolatların hidrokarbonlara tutunma aktivitelerinin belirlenmesi	49
3.2.3. İzolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi	50
3.2.3.1. İzolatların katalaz enzim aktivitesinin taranması....	50
3.2.3.2. İzolatların proteaz enzim aktivitesinin taranması...	50
3.2.3.3. İzolatların amilaz enzim aktivitesinin taranması....	50
3.2.3.4. İzolatların esteraz enzim aktivitesinin taranması...	51
3.2.4. Probiyotik özellik gösteren mayaların moleküler identifikasyonu.....	51
3.2.4.1. Maya izolatlarının MALDI-TOF MS ile tanımlanması.....	51
3.2.4.2. Arbitrarily Primed PCR (AP-PCR).....	51
3.2.4.3. 26S rDNA Bölgesi dizi analizi.....	52
3.2.4.3.1. DNA izolasyonu.....	52
3.2.4.3.2. Amplifikasyon ürünlerinin elde edilmesi.....	52
3.2.4.3.3. Amplikonların saflaştırılması	52
3.2.4.3.4. Dizi analizi	53
3.2.4.3.5. BigDye Prepsitasyon	53
BÖLÜM 4.	
BULGULAR	55
4.1 İzolatların elde edilmesi	55
4.2. İzolatların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi	61
4.2.1. İzolatların otoagregasyon özelliklerinin belirlenmesi.....	61
4.2.2. İzolatların koagregasyon aktivitelerinin belirlenmesi.....	65
4.2.3. İzolatların gastrointestinal koşullarda hayatta kalma becerisinin taranması	73
4.2.3.1. İzolatların mide sıvısı ortamında hayatta kalma becerisinin belirlenmesi.....	73
4.2.3.2. İzolatların pankreatik sıvı ortamında hayatta kalma becerisinin belirlenmesi.....	75

4.2.4. İzolatların hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi	77
4.2.5. İzolatların patojen bakteriler karşısında etkinliklerinin belirlenmesi.....	78
4.2.6. İzolatların antibiyotiklere karşı dirençlerinin belirlenmesi.....	81
4.2.7. İzolatların safra tuzuna dirençlerinin belirlenmesi	82
4.2.8. İzolatların hidrokarbonlara tutunma özelliklerinin belirlenmesi	84
4.3. İzolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi	89
4.3.1. İzolatların katalaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi	89
4.3.2. İzolatların proteaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi	89
4.3.3. İzolatların amilaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi	89
4.3.4. İzolatların esteraz enzim aktivitelerinin belirlenmesi	89
4.4. En iyi probiyotik özellik gösteren izolatların seçilmesi	92
4.5. Probiyotik özellik gösteren izolatların moleküler identifikasyonu	92
4.5.1. Maya izolatlarının MALDI-TOF MS ile tanımlanması.....	92
4.5.2. Arbitrarily Primed PCR ile türler arası farklılıkların incelenmesi.....	95
4.5.3. 26S rDNA D1/D2 Bölgesi dizi analizi sonuçları.....	96
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE SONUÇ	98
KAYNAKLAR	113
EKLER	124
ÖZGEÇMİŞ	129

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
°C	: Derece santigrat
µl	: Mikrolitre
AAD	: Antibiyotikle ilişkili diyare
AP	: Arbitrarily primer
CaCl ₂	: Kalsiyum klorür
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
E. Coli	: Escherichia coli
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organisation)
FTS	: Fizyolojik tuzlu su
g	: Gram
Gİ	: Gastrointestinal
GİS	: Gastrointestinal sistem
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HCl	: Hidroklorik asit
IBD	: İnflamatuar bağırsak hastalıkları
IBS	: İrritable bağırsak sendromu
IgA	: İmmüoglobulin A
ISAPP	: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics
KCl	: Potasyum klorür
KH ₂ PO ₄	: Potasyum di hidrojen fosfat
KI	: Potasyum iyodür
KNO ₃	: Potasyum nitrat
L	: Litre
L. monocytogenes	: Listeria Monocytogenes
Lactobacillus GG	: Lactobacillus Rhamnosus GG

M	: Molar
ml	: Mililitre
mm	: milimetre
Na ₂ HPO ₄	: Di sodyum hidrojen fosfat
NaCl	: Sodyum klorür
nm	: Nanometre
OD	: Optikal dansite
OGYE	: Oxytetracylin glucose yeast extract agar base
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PDA	: Potato dextrose agar
pH	: Asitlik derecesi
rDNA	: Rekombinant deoksiribo nükleik asit
RKÇ	: Randoize kontrollü çalışma
rpm	: Revolutions per minute (dakikadaki devir sayısı)
S. aureus	: Staphylococcus aureus
S.Typhimurium	: Salmonella typhimurium
SDB	: Sabourand dextrose broth
TSB yeast	: Tropic soy broth with yeast extract agar base
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation)

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. MALDI-TOF MS'in bakteri ve mayaları şematik diyagramda tanımlama prensibi.....	38
Şekil 2.2. MALDI-TOF MS'in bakteri ve mayaları şematik diyagramda tanımlama prensibi.....	39
Şekil 3.1. Probiyotik mayaların izolasyonu için kullanılan kaynaklardan bazıları	41
Şekil 4.1. İzolatların 24. saatteki yüzde otoagregasyon aktiviteleri.....	62
Şekil 4.2. İzolatların 2 - 4 - 24. Saatlerde yüzde otoagregasyon ortalaması.....	62
Şekil 4.3. İzolatların <i>E. coli</i> ATCC 25922 ile koagregasyon aktiviteleri.....	65
Şekil 4.4. İzolatların <i>S. aureus</i> ATCC 25923 ile koagregasyon aktiviteleri.....	66
Şekil 4.5. İzolatların <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644 ile koagregasyon aktiviteleri.....	66
Şekil 4.6. İzolatların <i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028 ile koagregasyon aktiviteleri.....	67
Şekil 4.7. İzolatların mide sıvısı ortamında hayatta kalma oranı.....	73
Şekil 4.8. İzolatların pankreatik sıvı ortamında hayatta kalma oranı.....	75
Şekil 4.9. Mide suyu simülasyonu ve pankreatik sıvı simülasyonunun her ikisinde de yüksek aktivite gösteren izolatlar.....	75
Şekil 4.10. İzolatların safra tuzu varlığında gelişme oranı.....	82
Şekil 4.11. İzolatların % hidrofobik aktiviteleri.....	87
Şekil 4.12. İzolatların kloroforma karşı hidrofobik aktiviteleri.....	87
Şekil 4.13. İzolatların ksilene karşı hidrofobik aktiviteleri.....	88
Şekil 4.14. İzolatların etil asetata karşı hidrofobik aktiviteleri.....	88
Şekil 4.15. Maya izolatlarının fingerprints görüntüleri.....	95

Şekil 4.16. Y54 kodlu izolatin kromatogram sonuçları.....	96
Şekil 4.17. Y54 kodlu izolatin blast dizi karşılaştırması.....	96
Şekil 4.18. Y54 kodlu izolatin blast karşılaştırma sonucu.....	97



TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Probiyotik olarak kabul edilen türler	11
Tablo 2.2. Probiyotik olarak mayaları bakterilerden ayıran özellikler.....	13
Tablo 2.3. Sofralık zeytinlerden elde edilme şekline, zeytin çeşidine ve ülkeye göre yaygın olarak izole edilen moleküler yöntemlerle tanımlanan en belirgin maya türleri.....	27
Tablo 3.1. Probiyotik mayaların izolasyonu için kullanılan kaynaklar.....	40
Tablo 3.2. Kullanılan besiyerleri.....	42
Tablo 3.3. Kullanılan tamponlar, çözeltiler ve boyalar.....	42
Tablo 3.4. Probiyotik mayaların izolasyonunda kullanılan kaynakların harf kodları.....	44
Tablo 3.5. Dizi analizi reaksiyon karışımı.....	53
Tablo 3.6. BigDye Prepisitasyon protokolü için kullanılan kaynaklar.....	54
Tablo 4.1. Mayaların izolasyonunda kullanılan kaynakların isimleri, harf kodlamaları ve izolatların numaralandırılmaları.....	55
Tablo 4.2. İzole edilen mayaların petri kabındaki görünüşleri.....	58
Tablo 4.3. İzolatların 2. Saatteki ve 4. Saatteki otoagregasyon aktivite sonuçları.....	63
Tablo 4.4. İzolatların 24. Saatteki otoagregasyon aktivite sonuçları.....	64
Tablo 4.5. İzolatların patojen mikroorganizmalarla koagregasyon sonuçları.....	68
Tablo 4.6. İzolatların mide sıvısında hayatta kalma yüzde sonuçları.....	74
Tablo 4.7. İzolatlarının pankreatik sindirimde hayatta kalma yüzde sonuçları.....	76
Tablo 4.8. İzolatların hemolitik aktivite sonuçları.....	77
Tablo 4.9. İzolatların patojen bakterilere karşı inhibisyon etkileri.....	78
Tablo 4.10. İzolatların antibiyotiğe karşı direnç sonuçları.....	81

Tablo 4.11. İzolatların safra tuzuna direnç sonuçları.....	83
Tablo 4.12. İzolatların hidrokarbonlara tutunma aktivite sonuçları.....	84
Tablo 4.13. İzolatların katalaz, proteaz enzimatik aktivite sonuçları.....	90
Tablo 4.14. İzolatların amilaz, esteraz enzimatik aktivite sonuçları.....	91
Tablo 4.15. MALDI-TOF MS ile tanımlama işlemi yapılan izolatların tanıları	92
Tablo 4.16. Maya izolatlarının MALDI-TOF MS sonuç grafikleri.....	94



ÖZET

Anahtar kelimeler: Probiyotik maya, prebiyotik, *Saccharomyces boulardii*, agregasyon, gastrointestinal sistem, antibiyotik, antimikrobiyal

Günümüzde probiyotiklerin kullanımı gözle görülür şekilde artmaktadır. Bağırsakta patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyerek daha sağlıklı bir flora ortamı oluşturmaları, bağırsak bariyerini güçlendirmeleri, inflamasyonu inhibe etmeleri gibi pek çok sebep probiyotiklere olan ilgiyi gündemde tutmaya devam edecektir. Mayaların probiyotik özellikleri, günümüzde pek çok çalışma ile araştırılmaktadır. Bakterilerin antibiyotiklere karşı duyarlı olabilmeleri, toksin üretebilmeleri ve patojenite gösterebilmeleri gibi etkileri sebebiyle, probiyotik seçiminde tercih mayalara yönelmiştir. Çok sayıda ve çeşitli biyolojik faaliyetlere sahip olmaları nedeniyle mayalar hem gıda sektörü hem de sağlık sektöründe umut vaadedici adaylar haline gelmiştir. Fermente gıdalarda lezzeti artırmaları, yeni fonksiyonel gıda gelişimine katkıları ve bunlara ek olarak ürünlerin raf ömrünü artırmaya yönelik küf ve patojen mikroorganizmalar üzerine biyolojik kontrol ajanı görevi görmeleri, mayaların gıda biyoteknolojisinde geleceğinin parlak olduğunu göstermektedir. Probiyotik özellik gösteren mayaların sağlık açısından faydalı etkileri düşünüldüğünde, yeni probiyotik maya kaynakları ihtiyacı gündeme gelmekte ve günümüzde geleneksel yöntemlerle üretilmiş gıdalardan izole edilen mayaların probiyotik özelliklerini tespit etmek amaçlı yapılan çalışmalar artmış bulunmaktadır.

Bu çalışmada geleneksel yöntemlerle elde edilmiş zeytin ve zeytin ürünlerinden oluşan 56 farklı kaynaktan 106 adet maya izolatu elde edilmiştir. Bu maya izolatlarının probiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla; mayaların otoagregasyon ve koagregasyon becerileri, gastrointestinal koşullarda hayatta kalma becerileri, safra tuzuna karşı gösterdikleri direnç, antibiyotik varlığında hayatta kalma becerileri, patojen mikroorganizmalara karşı dirençleri, hemolitik aktiviteleri ve hidrokarbonlara tutunma becerileri analiz edilmiştir. Teknolojik özelliklerini belirlemek amacıyla ise; maya izolatlarının esterez, amilaz, katalaz ve proteaz enzim aktiviteleri analiz edilmiştir.

En iyi probiyotik özellik gösteren 25 adet maya izolatu seçilerek tanımlanması işlemi önce MALDI-TOF MS ile yapılmış, sonrasında 3 maya izolatının tanımlanmasına sekans analizi ile devam edilmiştir. İzolatların 4 tanesi *Wickerhamomyces anomalus*, 21 tanesi *Yarrowia lypolitica* olarak tanımlanmıştır. Tüm maya izolatlarının, türlerine ait farklı suşlar olduğu gösterilmiştir. Tanımlanan mayalar, daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere stoğa alınmıştır.

ISOLATION, IDENTIFICATION, AND DETERMINATION OF SOME PROBIOTIC PROPERTIES OF YEAST FROM OLIVES AND OLIVE PRODUCTS MADE BY TRADITIONAL METHODS

SUMMARY

Keywords: Probiotic yeast, prebiotic, *Saccharomyces boulardii*, aggregation, gastrointestinal tract, antibiotic, antimicrobial

Today, the use of probiotics is increasing visibly. Many reasons such as preventing the proliferation of pathogenic microorganisms in the intestine, creating a healthier flora environment, strengthening the intestinal barrier, inhibiting inflammation will continue to keep the interest in probiotics on the agenda. The probiotic properties of yeast are currently being investigated by many studies. Since bacteria can be sensitive to antibiotics, produce toxins and show pathogenicity, preference has been given to yeasts in the selection of probiotics. Due to their numerous and diverse biological activities, yeasts have become promising candidates both in the food industry and in the health sector. It acts as a biological control agent on mold and pathogenic microorganisms to increase flavor in fermented foods, contribute to the development of new functional foods, and in addition to these, increase the shelf life of products. Considering the beneficial effects of yeasts with probiotic properties in terms of health, the need for new probiotic yeast sources comes to the fore, and today, studies to determine the probiotic properties of yeast isolated from foods produced by traditional methods have increased.

In this study, 106 yeast isolates were obtained from 56 different sources consisting of olives and olive products obtained by traditional methods. In order to determine the probiotic properties; the aggregation ability of yeasts, ability to survive in gastrointestinal conditions, resistance to bile salt, ability to survive in the presence of antibiotics, resistance to pathogenic microorganisms, their hemolytic activity and ability to adhere to hydrocarbons were analyzed. In order to determine its technological features; Esterase, amylase, catalase and protease enzyme activities of yeast isolates were analyzed.

The identification of 25 yeast isolates with the best probiotic properties was first performed with MALDI-TOF MS, and then sequence analysis was continued for the identification of 3 yeast isolates. 4 of the isolates were identified as *Wickerhamomyces anomalus* and 21 as *Yarrowia lypolitica*. All yeast isolates have been shown to be different strains of their species. Identified yeasts were taken into stock for use in further studies.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

İnsan bağırsağı, insan vücudundaki toplam hücre sayısının % 95'ini oluşturan karmaşık ve dinamik bir mikrobiyal ekosistemi barındırır. Bu bağırsak mikroorganizmaları, bağışıklık sisteminin uyarılması, patojenik mikroorganizmalardan korunma ve sindirime yardımcı olma gibi çeşitli işlevlere sahiptir (Guarner ve Malagelada, 2003). Tahminler, yetişkin bir insanın kolonunda 40 trilyondan fazla bakteri hücresi bulunduğunu ve bunun yanı sıra az da olsa mantarlar ve protistlerin de mevcut olduğunu göstermektedir (Guarner ve ark. 2017).

Dengeli bir gastrointestinal flora, sağlığı geliştirici veya faydalı bakterilerin potansiyel olarak zararlı bakterilere üstün geldiği bir floradır. Bu dengenin bozulduğu durumlar; gastrointestinal sistem enfeksiyonları, kabızlık, irritabl bağırsak sendromu, inflamatuvar bağırsak hastalığı (Crohn's hastalığı ve ülseratif kolit), gıda alerjileri, antibiyotiğe bağlı diyare, kardiyovasküler hastalık ve bazı kanserlere (örneğin kolorektal kanser) neden olabilir. Ayrıca, yanlış kullanılan antibiyotikler; mikrobiyal direnç derecesini artırarak, bağırsak florasının dengesinin bozulmasına neden olmaktadır. Bu eğilimlerle doğrudan mücadele etmek için, Dünya Sağlık Örgütü şu anda mikroorganizmaların probiyotikler olarak profilaktik ve terapötik potansiyelinden yararlanmak gibi alternatif hastalık kontrol stratejilerinin uygulanmasını savunmaktadır (Vohra ve Satyanarayana, 2012).

Dünya Sağlık Örgütü, yaygın olarak reçete edilen antibiyotikler, antibiyotik direnci nedeniyle işe yaramaz hale geldiğinde, probiyotikleri bir sonraki en önemli bağışıklık savunma sistemi olarak kabul etmektedir (Kailasapathy ve Chin, 2000).

Probiyotik içerikli ürünler dünyanın birçok bölgesinde başarılı olmuştur. Geleneksel gıdalardan reçeteli ilaçlara kadar çeşitli ürün türleri ticari olarak mevcuttur (Guarner ve ark. 2017).

Probiyotik kavramı yeni olmamakla birlikte, yıllar içinde değişmiştir (Diez-Gutiérrez ve ark., 2020). Gıda endüstrisinde fonksiyonel gıdaların üretimi açısından popüler bileşenlerden biri olan probiyotikler takviye olarak da satılmaktadır. Günümüzde probiyotiklerin kullanımı, hayvanlarda büyüme, hayatta kalma ve sağlığı geliştirmeye varacak şekilde genişlemiştir. Kullanımdaki bu artış, dünya çapında hızla büyüyen probiyotik pazarının değerine de yansımıştır (Zucko ve ark., 2020). Bugün, insan klinik deneyleri için bir PubMed araştırması, probiyotikler üzerinde 1500'den fazla ve prebiyotikler üzerinde 350'ye yakın araştırmanın yayınlandığını göstermektedir (Guarner ve ark. 2017).

İlaç endüstrisinin geliştirdiği probiyotik ürünlerin insan araştırmalarında gösterdiği yararlı etkiler, yoğurt ve fermente sütlerin tüketiminde bir artışa yol açmış ve tıp camiasında, sağlık kurumlarında ve tüketicilerde daha geniş kabul görmesi nedeniyle halk arasında giderek daha popüler hale gelmiştir (Diez-Gutiérrez ve ark., 2020).

2015 Grand View Research raporu, küresel probiyotik pazarı 2013 yılında 32.06 milyar ABD doları değerinde belirtmiştir (Guarner ve ark. 2017).

Günümüzde kullanılan çoğu probiyotik, ya fermente gıdalardan ya da sağlıklı bir insanı kolonize eden mikroorganizmalardan elde edilir ve on yıllardır ürünlerde kullanılmaktadır (Guarner ve ark. 2017).

Tarihsel olarak, probiyotikler ilk olarak gastrointestinal sistem hastalıklarını önlemek veya tedavi etmek için kullanılmıştır (Routier, 2021). Bildirilen tek probiyotik maya sadece *S. boulardii* olduğundan, gen teknolojisi özellikle mayalarla yeni suşların geliştirilmesinde kesinlikle bir rol oynayacaktır. Buna ek olarak, endüstri merkezli araştırmalar, raf ömrünü ve bağırsak yoluyla hayatta kalma olasılığını uzatmaya, yapışma kapasitesini optimize etmeye ve istenen faydaların tüketiciye iletilmesini sağlamak için uygun üretim, taşıma ve paketleme prosedürleri geliştirmeye odaklanacaktır. Zamanla, enerji barları, tahıllar, meyve suları, bebek maması ve peynir gibi probiyotik içeren yeni gıda ürünlerinin yanı sıra hastalığa özgü tıbbi gıdalar ortaya çıkacaktır. Probiyotik içeren gıda ürünleri için kimlik standartlarının

oluşturulması, bu gıda ürünlerinin geliştirilmesini ve bulunabilirliğini arttırmaya hizmet edecektir (Vohra ve Satyanarayana, 2012).

Mayaların potansiyel probiyotik olarak bakterilere göre tercih edilmelerinin daha güvenli olması; asidik ortamda hayatta kalma oranların yüksek olması, antimikrobiyal madde üretebilmeleri ve patojen bakterilerle genetik materyal transfer etmemeleri gibi sebeplerle açıklanabilir. Bu durum endüstriyel açıdan, yeni ve güvenli probiyotik maya arayışını artırmakla birlikte araştırmacıların bu konu üzerine yoğunlaşmasına sebep olmuştur. Çalışmamızda, endüstrideki bu eksik hedef alınarak yeni ve güvenli potansiyel probiyotik maya elde etmek ve bu mayaların teknolojik aktivitelerini incelemek amacıyla, zeytin ve zeytin ürünleri ile çalışılmıştır.

BÖLÜM 2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Probiyotikler

2.1.1. Probiyotik tanımı ve tarihçesi

Probiyotik terimi, "yaşam için" anlamına gelen Yunanca'dan türetilmiştir (Vohra ve Satyanarayana, 2012).

Probiyotik kavramı 1900'lerde Nobel ödüllü Elie Metchnikoff'un Bulgar köylülerinin uzun ve sağlıklı yaşamlarının fermente süt ürünleri tüketmelerinin sonucu olduğunu varsaydığı ve daha sonra yoğurdun bağırsağı, diğer patojen bakterilerin zararlı etkilerinden korumak için gerekli organizmaları içerdiğine ikna olduğu zaman gelişti (Vohra ve Satyanarayana, 2012).

Genel olarak kabul edilen ilk tanım 1989'da Fuller tarafından; "Probiyotik; konakçı hayvanın bağırsak mikrobiyal dengesini geliştirerek faydalı bir şekilde etkileyen canlı bir mikrobiyal yem takviyesidir" şeklinde yapılmıştır (Vrese ve Schrezenmeir, 2008).

Probiyotikler, insan bağırsağında bulunan ve konakçıya pek çok yararlı etkileri ile bilinen canlı mikroorganizmalardır. Gastrointestinal sistemde konakçıya zarar vermemekle birlikte, mide asidi ve safra tuzu varlığında dayanıklı olmaları özelliklerine sahiptirler (Smith ve Jones, 2012).

Ayrı bir tanımda, probiyotikler genellikle "yeterli miktarda uygulandığında tüketicinin sağlığına fayda sağlayabilen canlı mikroorganizmalar" olarak ifade edilmiştir (Diez-Gutiérrez ve ark., 2020). Yeterli miktarın ne kadar olduğu tanımlanmamakla birlikte, metabolik olarak bakterilerin insan bağırsağında fayda

gösterebilmesi için, 1 gram gıda başına minimum 10^6 mikroorganizma olması gerektiği bilinmektedir (Gilliland, 1989). Bu mikroorganizmalar midenin asidik koşullarına ve ince bağırsakta bulunan yüksek safra asit konsantrasyonuna dayanabilmelidir (Nagpal ve ark., 2012).

2.1.2. Prebiyotik tanımı ve tarihçesi

Prebiyotik kavramı, probiyotiklerden daha yeni bir kavramdır ve ilk olarak 1995 yılında Gibson ve Roberfroid tarafından önerilmiştir. Bir prebiyotiğin kilit yönleri, konakçı tarafından sindirilemez olması ve doğal faydalı mikroplar üzerinde olumlu bir etki yoluyla birey için sağlık yararlarına yol açmasıdır. Prebiyotiklerin veya probiyotiklerin uygulanması veya kullanılması, trilyonlarca ortak mikrobun hâkim olduğu bağırsak ortamını insan sağlığı yararına etkilemeyi amaçlar. Hem probiyotiklerin hem de prebiyotiklerin bağırsakların ötesine uzanan faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir (Guarner ve ark. 2017).

İnsan bağırsağında probiyotik mikroorganizmaların büyümesini stimüle eden besinler prebiyotik olarak adlandırılırlar (Smith ve Jones, 2012). Bir prebiyotik, “konağın sağlığı üzerinde fayda sağlayan gastrointestinal mikrofloradaki hem bileşimde hem de/veya aktivitede spesifik değişikliklere izin veren seçici olarak fermente edilmiş bir bileşen” iken, pro- ve prebiyotiklerin sinerjik kombinasyonlarına sinbiyotikler denir. Günümüzde sadece bifidojenik, sindirilemeyen oligosakkaritler (özellikle inülin, hidroliz ürünü oligofruktoz ve (trans)galaktooligosakkaritler), prebiyotik sınıflandırma için tüm kriterleri karşılamaktadır (Vrese ve Schrezenmeir, 2008).

Prebiyotikler gıdalarda doğal olarak bulunabilen veya spesifik besin desteği olarak eklenebilen diyet lifleridir. Prebiyotik alımının artırılması, kolonda probiyotik miktarını artırabilir ve bağırsaktaki mikroorganizmaların bileşimini sağlıklı bir floraya dönüştürebilir (Smith ve Jones, 2012).

Prebiyotikler, üretimleri ve depolanmaları sırasında probiyotik canlılığı geliştirmenin bir yolu olarak araştırmalarda dikkat çekmektedir (Prisco ve Mauriello, 2016). Prebiyotik olan herhangi bir gıda , gastrointestinal sistemin üst kısmında hidrolize ve absorbe edilmemelidir (Smith ve Jones, 2012).

Gıdalara eklenen probiyotik bakterilerin genel işlevi; bağırsakta potansiyel patojen bakterileri ve/veya zararlı metabolitlerin azaltmak, gastrointestinal hareketliliği normalleştirmek ve bağışıklık tepkisini modüle etmek iken, prebiyotik olarak adlandırılan gıda bileşenlerinin işlevi ise; insanların doğal bağırsak florasının elverişli bakterilerini desteklemek ve aynı zamanda yutulan probiyotik bakterilerin hayatta kalma sürelerinin uzamasına yardımcı olmaktır (Vrese ve Schrezenmeir, 2008).

2.1.3. Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilmesi için gerekli şartlar

Probiyotik terimi için çeşitli tanımlar formüle edilmiştir, ancak hepsinin aşağıdaki özelliklerle bir ilişkisi vardır (Hill ve ark., 2014);

- Bir probiyotik ajan patojenik olmayan özellikler göstermelidir.
- Sindirim sisteminde hayatta kalma yeteneği olmalıdır.
- Bağırsak epiteline yapışabilmelidir.
- Bağırsak yolunun kolonizasyonu sağlayabilmelidir.
- Antimikrobiyal madde/maddeler üretebilmelidir.
- Toz, sıvı veya gıda formunda yeterli sağkalım (stabilite) göstermelidir.
- Konak üzerinde faydalı etki göstermelidir (Vohra ve Satyanarayana, 2012).

2.1.4. Probiyotiklerin çalışma mekanizmaları

Prebiyotikler, yararlı anaerobik bakteri sayısını artırarak ve potansiyel olarak patojenik mikroorganizma popülasyonunu azaltarak bağırsak bakterilerini etkiler.

Probiyotikler, mukozal bağışıklık mekanizmalarını etkileyerek, ortak veya potansiyel patojenik mikroplarla etkileşime girerek, kısa zincirli yağ asitleri gibi metabolik son ürünler üreterek ve kimyasal sinyal yoluyla konakçı hücrelerle iletişim kurarak bağırsak ekosistemini etkiler. Bu mekanizmalar, potansiyel patojenlerin antagonizmine, iyileştirilmiş bir bağırsak ortamına, bağırsak bariyerini güçlendirmeye, inflamasyonun aşağı regülasyonuna ve antijenik zorluklara karşı bağışıklık tepkisinin yukarı regülasyonuna yol açabilir. Bu fenomenlerin, probiyotiklerin en yaygın olarak tanınan kullanımlarından biri olan diyare insidansı ve şiddetinde azalma da dahil olmak üzere en faydalı etkilere aracılık ettiği düşünülmektedir (Guarner ve ark. 2017).

2.1.5. Probiyotiklerin sağlığa yararları

Probiyotik terapi; bulaşıcı, inflamatuvar, neoplastik ve alerjik birçok koşulun tedavisine öncülük etmiştir. Ancak bu ürünlerin rutin olarak kullanılmadan önce uygun şekilde değerlendirilmesi önemlidir (Vohra ve Satyanarayana, 2012).

Probiyotiklerin terapötik olduğu düşünülen yararlı etkileri arasında şunlar vardır;

Patojen mikroorganizmalara karşı antagonistik aktivite (Linares ve ark., 2016; Tsiouris ve Tsiouri, 2017; Sotoudegan ve ark., 2019): Patojen mikroorganizmalar çeşitli şekillerde baskılanabilir;

- Gıda karbonhidratlarından üretilen organik asitler (örn. laktik veya asetik asit), pH'ı düşürür ve *Escherichia coli* ve *Salmonella* cinsinin türlerinin gelişimini sınırlar (Rahimzadeh ve ark., 2014; Rahimzadeh ve ark., 2015). Ek olarak, sindirim sisteminin asitleşmesi bağırsak peristalsisini teşvik ediyor gibi görünmektedir.
- Probiyotikler, sıklıkla enfeksiyonlara neden olan patojenleri inhibe eden bakteriyosinler, antimikrobiyal maddeler üreterek patojenik bakterilerin büyümesini bastırıyor gibi görünmektedir (Tsiouris ve Tsiouri, 2017).
- Probiyotik suşlar, mukozal ve epitelyal yüzeylerle etkileşime girme ve patojen kolonizasyonunu önleme için yüksek bir kapasite sunar (Zhang ve

ark., 2019). Valdés-Varela ve ark. (2016), *Bifidobacterium*'un *Clostridium difficile* tarafından kolonizasyon üzerindeki etkisini analiz eden bir çalışma yürütmüştür. Antibiyotik tedavisini takiben *C. difficile* normal olarak bağırsakta serbest nişler işgal ederek değişen derecelerde ishali tetikler. Bununla birlikte, bu yazarlar, probiyotikler *Bifidobacterium longum* veya *Bifidobacterium breve*'nin uygulanmasından sonra, probiyotik bakterilerin serbest nişleri işgal ettiği ve patojenik bakterileri değiştirdiği için *C. difficile* miktarının azaldığını bulmuşlardır. Ek olarak, probiyotikler besinleri tüketerek rekabetçi bir inhibisyon etkisi uygulamışlardır, böylece bunları patojenik bakteriler için kullanılamaz hale getirerek istenmeyen mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonu önlemeye yardımcı olmuşlardır.

İmmünite stimülasyonu (Aureli ve ark., 2011; Cerbo ve ark., 2016);

- Bağırsak mikrobiyotasının dikkate değer özelliklerinden biri, doğal ve uyarlanabilir bağışıklık tepkisini uyarma ve düzenleme kapasitesidir. Mikrobiyota, koruyucu bariyerler, fagositler ve doğal öldürücü hücreler ile T ve B lenfositlerinden oluşan adaptif veya edinilmiş bağışıklık tepkisinden oluşan doğal bağışıklık tepkisine müdahale eder. Patolojiye bağlı olarak, bağışıklık sistemi bir veya diğer yanıtı aktive edecektir (Mishra ve Mishra, 2018).
- Probiyotik suşlar, hem doğal bağışıklıkta yer alan hücreler hem de spesifik bağışıklık ile ilgili hücreler üzerinde etkili olan ve aynı zamanda makrofajları aktive eden, konakçının bağışıklık sistemi üzerinde uyarıcı bir etkiye sahiptir. Tam mekanizmaları henüz aydınlatılmamış olmasına rağmen, sadece gastrointestinal sistemde (GI) hayatta kalabilen mikroorganizmaların makrofajları aktive edebileceği bilinmektedir (Dong ve ark., 2012; Miller ve ark., 2019). Ek olarak, probiyotik mikroorganizmaların varlığının antikor üretimini, özellikle bağırsak lümenindeki salgı immünoglobulin A'yı (IgA) desteklediği ve patojenik bakterilerin mukozal yüzeye yapışmasını engelleyebilen;
 - Bakterilerin aglütinasyonuna (kümeleşme/yapışma) neden olur
 - Bakterilerin yüzeyinde bulunan adezyon faktörlerini değiştirir

- Adezin- reseptör etkileşimlerine müdahale eder.
- Bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri nedeniyle, LAB bağırsak enfeksiyonlarını önleme, bağışıklık sistemi ile ilgili hasara karşı koruma ve immünomodülatörler olarak hareket etme potansiyeline sahiptir (Miller ve ark., 2019).

Toksik ürünlerin nötralizasyonu (Sotoudegan ve ark., 2019); Toksik bileşiklerin inaktivasyonu, probiyotik etkinin çok önemli bir başka yönüdür. Bağırsak mikrobiyotasında birikir ve burada amonyak, aminler ve indol gibi toksik maddelerin emilimini azaltırlar. Ayrıca safra tuzlarının ve yağ asitlerinin toksik ürünlere biyotransformasyonunu azalttığı görülmektedir.

Stres modülasyonu (Novik ve Savich, 2019); Stres, bağırsak mikrobiyotasındaki varyasyonları etkileyen faktörlerden biridir. Stres sindirim fizyolojisini değiştirir, sindirim sisteminde peristalsis ve HCl ve mukus salgılarını artırır ve böylece mikrobiyotayı ve buna bağlı aktiviteleri değiştirir.

Ürogenital sistemin korunması (Cerbo ve ark., 2016); Birçok çalışma, endojen *lactobacillus*'un ürogenital sistemdeki enfeksiyonun bağırsakta olduğu gibi önlenmesinde benzer bir rol oynadığını doğrulamıştır.

Bakteriyel aşırı büyüme, bağırsak hareketliliği bozuklukları ve bağırsak mikrobiyotası (Sotoudegan ve ark., 2019); Bakteriyel aşırı büyüme sendromu, genellikle daha önce anatomik değişikliklerin veya zayıf bağırsak hareketliliğinin varlığından dolayı ince bağırsakta anormal bakteriyel proliferasyon olarak tanımlanır. Çoğu durumda, sadece uzun süreli ishal, şişkinlik ve karın ağrısı gibi spesifik olmayan semptomlara neden olur. Bununla birlikte, bakteriler bağırsak mukozasına zarar verebilir, malabsorpsiyon sendromuna yol açar ve bu da besin kaybı nedeniyle sekonder yetersiz beslenmeye yol açar. Bağırsak lümenindeki gram negatif bakterilerin aşırı büyümesi, ince bağırsağın normal mikrobiyotasını yer değiştirerek malabsorpsiyon semptomlarından sorumlu bir dizi etkiye yol açar.

Adjuvan tedavi olarak probiyotik uygulama çalışmaları bu alanda umut verici bir terapötik yaklaşım oluşturmaktadır.

Probiyotiklerin farklı hastalıklarda etkisi ve etkileri (Sotoudegan ve ark., 2019); Artan sayıda çalışma, çölyak hastalığı (de Sousa Moraes ve ark., 2014) ve Crohn hastalığı (Gensollen ve Blumberg, 2017) gibi bağırsağın farklı enflamatuvar hastalıklarında bağırsak mikrobiyota değişkenliğini analiz etmiştir. Bağırsak mikrobiyotasının probiyotik mikroorganizmalar ile etkili modifikasyonunun, bağışıklık sistemini olumlu etkileyerek umut verici bir terapötik yaklaşım olduğu kabul edilir. Probiyotikler, bağırsak lenfoid dokusunu modüle etmede önemli bir rol oynar ve immünomodülatör bir etki gösterir; sonuç olarak, bazı otoimmün hastalıklarda veya profilaktik olarak terapötik bir uygulamaya sahip olabilirler (Sanders, 2000).

Probiyotikler;

- Laktoz intoleransı yönetiminde (Sanders, 2000),
- Kolon kanseri önlenmesinde (Saikali ve ark., 2004),
- Diyare, konstipasyon ve İBS gibi pek çok gastrointestinal hastalıkların tedavisinde (Hempel ve ark., 2012),
- Kolesterol seviyesinin düşmesinde (Ataie-Jafari ve ark., 2009),
- Kan basıncının düşürülmesinde (Sanders, 2000),
- İmmün fonksiyonların geliştirilmesi ve enfeksiyonların önlenmesinde (Reid, 2006),
- Antibiyotik kaynaklı diyarenin düzeltilmesinde (Hickson ve ark., 2007),
- İnflamasyonun azaltılmasında önemlidir (Isolauri ve ark., 2002).

Son olarak, literatürün ve meta analizlerin son sistematik incelemeleri, mevcut kanıtların periodontitis tedavisinde adjuvan olarak probiyotik kullanımına yönelik olumlu olduğu sonucuna varmıştır, ancak yine de kanıtların klinik önerileri formüle etmek için henüz yetersiz olduğunu düşünülmekte ve daha fazla temel ve klinik çalışma gerekmektedir (Routier ve ark., 2021).

2.1.6. Probiyotik olarak kabul edilen türler

İnsan bağırsağında pek çok mikroorganizma bulunmasına rağmen, sadece birkaç mikroorganizma suşu probiyotik özellik taşımaktadır (Smith, 2012). En yaygın olarak kullanılan probiyotikler, laktik asit bakterileri (*Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Streptococcus* spp. ve *Enterococcus* spp.) içerir. *Lactobacilli* ve *bifidobacteria*, hayvanlarda ve insanlarda normal bağırsak mikroflorasının büyük bir bölümünü oluşturan Gram pozitif laktik asit bakterilerdir (Vrese ve Schrezenmeir, 2008).

Bu probiyotikler tek başlarına veya birbirleriyle kombine olarak kullanılabilir, ancak tüm kombinasyonların stabil olmadığı unutulmamalıdır (Pais ve ark., 2020).

Lactobacilli ve *Bifidobacteria*'ya ek olarak daha az yaygın olarak kullanılan diğer probiyotik mikroorganizmalar, *Streptococcus*, *E. coli*, *Bacillus* ve *Saccharomyces* suşlarıdır (Vrese ve ark., 2001).

Probiyotik olarak en yaygın olarak *Lactobacillus* türleri (Tablo 2.1.) ve *Bifidobacterium* kullanılmakta olsa da bunlara ilave olarak *S. boulardii* mayası ve bazı *E. coli* ve *Bacillus* türleri de kullanılmaktadır. Yakın zamanda Avrupa Birliği'nde onaylanan *Clostridium butyricum* da yer almıştır (Guarner ve ark., 2017).

Tablo 2.1. Probiyotik olarak kabul edilen türler

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Saccharomyces</i>	Diğerleri
spp.	spp.	spp	spp.	
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>S. boulardii</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. lactis</i>	<i>S. salivarius subsp. thermophilus</i>		<i>Escherichia coli</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. breve</i>			<i>Prompionibacteri freudenrichii</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>			<i>Enterococcus</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>			
<i>L. salivarius</i>	<i>B. adolescentis</i>			
<i>L. lactis</i>				
<i>L. plantarum</i>				
<i>L. reuteri</i>				
<i>L. paracasei</i>				
<i>L. johnsonii</i>				

(Kaya, 2020)

2.2. Mayalar

Mayalar, şu anda bilim adamlarının ve endüstrinin artan ilgisini çeken büyük ve heterojen bir mikroorganizma grubunu oluşturmaktadır. Çeşitli biyolojik aktiviteler, onları gıda sektörüyle sınırlı olmayan geniş bir uygulama yelpazesi için umut verici adaylar haline getirmektedir. Fermente gıdalarda lezzet gelişimine büyük katkılarına ek olarak, istenmeyen bakterilere ve mantarlara karşı antagonistik aktiviteleri artık yaygın olarak bilinmektedir. Bu aktiviteler, besin maddeleri için rekabet güçleri, büyüme ortamlarının asitlenmesi, yüksek etanol konsantrasyonlarına toleransları ve antifungal öldürücü toksinler veya "mikosinler" gibi antimikrobiyal bileşiklerin ve antibakteriyel bileşiklerin salınması ile ilişkilidir. Probiyotik içeren gıdaların tasarımı öncelikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'a odaklanırken, *S. boulardii*'nin uzun süredir gastroenterit tedavisinde etkili olduğu bilinmektedir (Hatoum ve ark., 2012).

"Maya" terimi, orijinal olarak bira mayşesinin fermantasyonu sırasında oluşan köpüğü ifade eden Hollandaca "öz" kelimesinden türetilmiştir. Fransızca "levure" kelimesi gibi mayaya atıfta bulunan diğer kelimeler, mayanın ekmek hamurunun kabarmasına neden olan rolüne atıfta bulunur (Hatoum ve ark., 2012).

Fermantasyon, dünyadaki en eski gıda işleme ve muhafaza biçimlerinden biridir. Antik çağlardan beri mayalar ve metabolik ürünleri insanlar tarafından kullanılmak üzere sömürülmüştür, en önemlileri fırıncılık ve biracılıktır (Moslehi-Jenabian et al. 2010). Mayalar, çeşitli türlerin bakteri ve/veya ipliksi mantarlarla uyum içinde çalışabildiği çok çeşitli diğer ürünlerin fermantasyonuna katkıda bulunur (Vohra ve Satyanarayana, 2011).

Mayanın yiyecek ve içecek üretimi, kalitesi ve güvenliği üzerindeki etkisi, ekolojik ve biyolojik faaliyetleriyle yakından bağlantılıdır. Mayaların taksonomisi, ekolojisi, fizyolojisi, biyokimyası ve moleküler biyolojisinin anlaşılmasındaki son gelişmeler, yeni ürünlerde bu organizmaların varlığına olan ilginin artmasına neden olmuştur (Fernandez-Pacheco ve ark., 2021).

Mayanın inhibitör aktivitesi ilk olarak Hayduck (1909) tarafından keşfedilmiştir. Bir süre sonra, diğer araştırmacılar, mayaların diğer mayalara karşı, öldürücü toksinler veya “mikosinler” olarak bilinen ikincil metabolitlerin üretimini içeren antagonistik etkisini bildirdiler (Young ve Yagiu, 1978; Rosini ve Cantini, 1987; Walker ve diğerleri, 1995). Viljoen (2006), fermente gıda ve içeceklerde bulunan mayaların antimikrobiyal etkilerini özetlerken organik asitlerin, antibiyotik faktörlerin, uçucu asitlerin, hidrojen peroksitin ve üründe salgılanan diğer çeşitli substratların etkilerinden bahseder. Bununla birlikte, mayalar tarafından inhibisyon mekanizmalarını tanımlamaya yönelik nispeten az çalışma yapılmıştır (Hatoum ve ark., 2012).

Mayalar, insanların normal mikrobiyal florası dahil olmak üzere doğal ortamlarda, bitkilerde, havadaki partiküllerde, suda, gıda ürünlerinde ve diğer birçok ekolojik nişte yaygın olan ökaryotik mikroorganizmalardır (Kurtzman ve ark., 2011).

Mayalar ayrıca mikrobiyotanın < % 0,1'ini oluşturan mikrobiyal sistemin bir parçasıdır. Gastrointestinal yoldan elde edilen çoğu maya izolatları *Candida albicans*'tır, ancak başka mayalar da bulunur. Birçok faydalı özelliği ve çoğu maya türünün insan ve hayvanlar için patojen olmaması nedeniyle mayaların biyoteknolojik işlemlerde kullanımı artmaktadır. Sonuç olarak, mayalar giderek daha fazla araştırılmaktadır (Fernandez-Pacheco ve ark., 2021).

S. boulardii klinik etkileri olan tek maya ve çift kör çalışmalarda probiyotik etkinliği kanıtlanmış tek maya preparatıdır (Sazawal ve ark. 2006).

Tablo 2.2. Bir probiyotik olarak *S. boulardii*'nin özgüllüğünü açıklayan, mayayı bakterilerden ayıran ana özellikleri listeler.

Tablo 2.2. Probiyotik olarak mayaları bakterilerden ayıran özellikler

	Bakteri	Maya
İnsan florasında bulunma	% 99	< % 1
Hücre boyutu	1 µm	10 µm
pH	6,5-7,5	4.5-6.5

Tablo 2.2. (Devamı)

Sıcaklık °C	10-80	20-30
Antibiyotiklere karşı direnç	Hayır	Evet
Genetik materyal transferi	Evet	Hayır

(Fernandez- Pacheco ve ark., 2021).

2.2.1. Bir probiyotik olarak kabul edilen *S. boulardii*

Fransız bir bilim adamı olan Henri Boulard, Fransız Çinhindi'ndeki bazı insanların kolera salgınından etkilenmediğini gözlemledi. Bu insanların, lychee ve mangosteen özünden yapılmış belirli bir tür çay içtiğini bildirdi (McFarland, 2010).

Bu meyvelerin kabuklarından bir *Saccharomyces* suşu izole etti ve buna *S. boulardii* adını verdi. Suş, şu anda dünya çapında reçetesiz satılan bir probiyotik takviyesi olarak mevcuttur (Sen ve Mansell, 2020).

Metabolik ve fizyolojik olarak *S. boulardii*, *S. cerevisiae*'den farklıdır. Yapılan bir çalışmada *S. boulardii*'yi karakterize eden ve onu diğer *S. cerevisiae* suşlarından ayıran bir genin mutasyonu sonucu ortaya çıkan benzersiz ve spesifik bir alel gen tanımlandı. Çoğu *S. cerevisiae* suşu 30°C'de büyüyüp metabolize olurken, *S. boulardii* optimum olarak 37°C'de büyüyen termotolerant mayadır (Czerucka ve ark., 2002).

Birkaç bakteri probiyotik olarak tanımlanmıştır ve etki biçimleri bir dereceye kadar incelenmiştir, ancak mayalar da probiyotik özellikler sergileyebilir. Fırıncı mayası *S. cerevisiae*, insan sağlığı için önemli avantajlar sağlamazken, yakından ilişkili olan *S. boulardii*, ishal gibi akut gastrointestinal hastalıkların veya inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) gibi kronik hastalıkların tedavisini tamamlamada etkilidir (Pais ve ark., 2020).

S. boulardii, onu potansiyel bir probiyotik ajan yapan birçok özelliğe sahiptir (Vohra ve Satyanarayana, 2011);

- GI yolundan geçerken hayatta kalır.

- Kalın ve ince bağırsaktaki doğal florayı koruduğu ve restore ettiği gösterilmiştir.
- Patojenite göstermez.
- Optimum sıcaklığı hem in vitro hem de in vivo 37°C'dir.
- Bir dizi mikrobiyal patojenin büyümesini engeller.
- Ancak *S. boulardii*, basit ökaryotik hücreler grubuna (mantarlar ve algler gibi) aittir ve bu nedenle prokaryot olan bakteriyel probiyotiklerden farklıdır.

2.2.1.1. *S. boulardii*'nin etki mekanizmaları

S. boulardii mide asiditesine ve safra tuzlarına karşı dirençlidir. Tüm sindirim sistemi boyunca canlı olarak tespit edilebilir. Proteolize karşı da dirençlidir. Gastrointestinal yolda yüksek popülasyonlar elde edebilir ve sürdürebilir. Kolonu kalıcı olarak kolonize edebilir ve bağırsak yolundan kolayca dışarı çıkmaz (Vohra ve Satyanarayana, 2011).

2.2.1.2. *S. boulardii*'nin antimikrobiyal etkileri

E. coli, *Shigella*, *Salmonella* Typhimurium, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Entamoeba histolytica* gibi hayvan çalışmalarında *S. boulardii*'nin çeşitli enterik patojenlere ve enterobacteriaceae familyasının üyelerine karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (Czerucka ve Rampal 2002). Bunun nedeni, *S. boulardii*'nin hücre duvarının enterohemorajik *E. coli* ve *S. Typhimurium* gibi enteropatojenleri bağlama kabiliyetine sahip olmasıdır (Vohra ve Satyanarayana, 2011)

2.2.1.3. *S. boulardii*'nin antitoksijenik etkileri

2.2.1.3.1. İmmün yanıtı artırma

S. boulardii, sıçanın ince bağırsağında İmmünoglobulin A'nın (IgA) salgılanmasını indükler. IgA, gastrointestinal ve solunum yollarındaki istilacı mikroplara karşı koruma sağlar (Butts ve ark., 1990).

2.2.1.3.2. Anti-inflamtuar etkileri

Probiyotikler, inflamatuar süreçlerin temelini oluşturan epitel hücre ve mukozal bağışıklık sistemi işlev bozuklukları üzerinde olumlu etkiler yaparak inflamasyonu azaltabilir (Vohra ve Satyanarayana, 2011).

Probiyotikler düzenleyici T hücrelerini uyarır ve böylece aksi takdirde inflamasyonu indükleyecek olan efektör T hücrelerini inhibe eder. (Vandenplas ve Benninga, 2009).

2.2.2. *S. boulardii*'nin klinik faydaları

2.2.2.1. Antibiyotik kullanımına bağlı diyare

Antibiyotikle ilişkili diyare (AAD), antibiyotik uygulamasıyla ilişkili olarak ortaya çıkan başka türlü açıklanamayan diyare olarak tanımlanır. AAD ile en yaygın olarak ilişkilendirilen bakteriyel ajan *C. difficile*'dir (Bartlett ve ark., 1978). Diğer bulaşıcı organizmalar arasında *S. aureus*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella oxytoca*, *Candida* türleri, *E. coli* ve *Salmonella* türleri sayılabilir. Hemen hemen tüm antibiyotikler, özellikle anaeroblar üzerinde etkili olanlar ishale neden olabilir, ancak risk, aminopenisilinler, aminopenisilinler ve klavulanat kombinasyonu, sefalosporinler ve klindamisin ile daha yüksektir (McFarland ve ark., 1990; Barbut ve ark., 1997;). Surawicz ve arkadaşları (2000) tarafından yürütülen randomize kontrol denemesi hastanede yatan 180 hastada çeşitli sınıflara ait antibiyotikler ile

tedavi sırasında uygulanan ve 2 hafta devam eden *S. boulardii*'nin etkinliğini değerlendirmiştir. *S. boulardii* alan hastalarda diyare insidansı önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. (plaseboda % 10'a karşı % 22, P = 0.038).

2.2.2.2. Seyahate bağlı diyare

Gezgin ishali, özellikle gelişmekte olan ülkelere seyahat edenler arasında iyi bilinen bir halk sağlığı sorunudur. Enterotoksijenik *E. coli*, *Shigellae* ve *Salmonella* vakaların yaklaşık % 80'inden sorumludur (Sanders ve Tribble, 2001). Kollaritsch ve ark. (1993), dünyanın çeşitli ülkelerini ziyaret eden 1.016 yolcуда ishalin önlenmesinde *S. boulardii*'nin etkinliğini değerlendirdi. Diyare insidansı, plasebo alan hastalarda % 40, *S. boulardii* 250 mg/gün alan hastalarda % 34 (P = 0.019) ve *S. boulardii* 1 g/gün alan hastalarda % 29 (P < 0.005) idi. Ayrılmadan 5 gün önce başlayarak önlemede ne kadar çok *S. boulardii* alınır, ishaldeki azalmanın o kadar yüksek olduğu bildirildi. McFarland (2007), 12 farklı çalışmayı analiz eden gezgin ishalinin önlenmesine yönelik probiyotiklerin bir meta-analizinde, iki probiyotik, *S. boulardii* ve bir *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* karışımının önemli etkinliğe sahip olduğu sonucuna varmıştır.

2.2.2.3. Akut diyare

İshal, su içeriğinde, hacminde ve genellikle dışkı sıklığında artışla birlikte bir bireyde bağırsak hareketlerinde değişiklik olarak tanımlanır (WHO, 1995). Oral rehidrasyon tedavide önemli olmasına rağmen, ishal ataklarında önemli bir kısalma veya dışkı hacminde azalma ile sonuçlanmaz, bu da ek tedavilere artan bir ilgi uyandırır.

Son zamanlarda, Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği ve Avrupa Pediatrik Enfeksiyon Hastalıkları Derneği Uzman Çalışma Grubu, akut gastroenterit yönetiminde probiyotiklerin klinik etkinliğini ele aldı. *Lactobacillus* ve *S. boulardii* gibi seçilmiş probiyotiklerin diyare tedavisinde etkili bir yardımcı olabileceğini belirtmiştir (Guarino ve ark., 2008).

2.2.2.4. Tüple beslenmeye bağlı diyare

İshal, enteral tüple beslenmeyle ilişkili yaygın bir komplikasyondur ve hali hazırda ciddi şekilde hasta olan bir hastada beslenme kaybına neden olabilir. Enteral tüple beslenen hastalarda diyare sıklığı % 50-60 gibi yüksek oranlarda bildirilmiştir (Whelan ve ark., 2009) ve komplikasyonlar arasında yaşamı tehdit eden asidoz, artan morbidite ve mortalite ve artan sağlık giderleri sayılabilir. Tempe ve ark. (1983), 11-21 gün boyunca *S. boulardii* veya plaseboya randomize edilen 40 enteral beslenen hastayı karşılaştırdı ve plaseboya kıyasla (% 16.9) *S. boulardii* verilen hastada önemli ölçüde daha az hastada (% 8.7) diyare geliştiğini buldu.

2.2.2.5. AIDS

S. boulardii'nin diyareden muzdarip olan evre IV AIDS hastalarının iyileşme oranını plaseboya kıyasla önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir. Ortalama olarak, *S. boulardii* alan hastalar kilo alırken, plasebo grubu 18 aylık deneme boyunca kilo vermiştir. AIDS'e bağlı ishali olan 35 hastayı kapsayan randomize, çift kör bir çalışma, 7 gün boyunca günde 3 g verilen *S. boulardii*'nin ishali çözmedeki etkinliğini göstermiştir. *S. boulardii* ile 1 haftalık tedaviden sonra hastaların yüzde altmış biri, plasebo grubunda ise % 12'sinin ishalsiz oldyğu bildirilmiştir (Saint-Marc ve ark., 1995).

2.2.2.6. Helikobakter pylori enfeksiyonu

Helicobacter pylori'nin yetişkinlerde ve çocuklarda kronik gastrit ve peptik ülserle neden olduğu ve yetişkinlerde mide malignitesi için bir risk faktörü olduğu iyi bilinmektedir. Çalışmalar, probiyotiklerin tedaviye bağlı yan etkileri ve ishal, epigastrik ağrı, mide bulantısı ve tat bozuklukları gibi bireysel semptomları azalttığını ortaya koymuştur. Bir randomize kontrol çalışması (RKÇ) , *S. boulardii*'yi değerlendirmiş ve *H. pylori* üçlü eradikasyon tedavisi alan hastalara eş zamanlı verildiğinde diyare riskini azalttığını bulmuştur (Duman ve ark., 2005). Yetişkinlerde yürütülen daha sonra yayınlanan randomize kontrol çalışmalarda *S. boulardii* takviyesinin *H. pylori* durumundan bağımsız olarak tedavi sonrası dispepsiyi azalttığı

belirtilmiştir. Ancak *S. boulardii*'nin *H. pylori* eradikasyon oranı üzerinde anlamlı bir etkisi olmamıştır (Cindoruk ve ark., 2007).

2.2.2.7. İnflamtuar bağırsak hastalıkları

IBD'li hastalarda *S. boulardii*'nin etkisinin değerlendirildiği çift kör bir çalışma, orta derecede aktiviteye sahip Crohn's hastalığından muzdarip 20 hasta üzerinde uygulanmış, sülfasalazin veya mesalazin (mesalamin) ve kortikosteroidler ile geleneksel tedaviye *S. boulardii* eklenmesinin bağırsak hareketlerini önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur (Plein ve Hotz, 1993).

2.2.2.8. İrritabl bağırsak sendromu

S. boulardii ayrıca irritabl bağırsak sendromu (IBS) olan hastalarda da olumlu sonuçlar göstermiştir. İshalin baskın olduğu IBS hastalarında gerçekleştirilen çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada, *S. boulardii* günlük dışkı sayısını azaltmış ve dışkı kıvamını iyileştirmiştir (Maupas ve ark., 1983). Orta derecede aktiviteye sahip Crohn's hastalığı olan hastalar üzerinde yapılan çift kör bir çalışma, *S. boulardii*'nin geleneksel tedaviye geçişi bağırsak hareketlerini önemli ölçüde azaltmıştır (Plein ve Hotz, 1993). Ayrıca *S. boulardii*'nin , geleneksel terapi ile birlikte tek başına geleneksel terapiye kıyasla nüksün önlenmesinde daha etkili olduğu bildirilmiştir (Guslandi ve ark., 2000; Moslehi-Jenabian ve ark., 2010).

2.2.3. Potansiyel probiyotik olarak *Yarrowia lipolytica*

Yarrowia lipolytica, filogenetik olarak *S. cerevisiae* veya diğer maya türlerinden farklı ve hemiascomitöz olağanüstü bir mayadır (Barth, 2013).

Lipazlar, esterazlar, proteazlar, fosfatazlar, sitrik asit ve çeşitli hücre dışı proteinler gibi katma değeri yüksek ürünler üretme kapasitesi ve yoğun salgılama aktivitesine sahip katı bir aerobik maya olan *Y. lipolytica*, üzerinde yoğun bir şekilde çalışılmış geleneksel olmayan ve *Yarrowia* genusuna ait tek türdür. Türün gelişmiş formu ilk

olarak 1960'lı yılların sonlarında Wickerham tarafından *Candida lipolytica* şeklinde tanımlanmıştır. Gelişmiş formu, *Endomycopsis lipolytica*, daha sonra *Saccharomyces lipolytica* ve nihayet *Y. lipolytica* olarak yeniden sınıflandırılmıştır (Neuls ve ark., 2021; Barth ve Gaillardin, 1997). *Y. lipolytica*, bu cinsi tanımlayan David Yarrow'a ithaf edilmiştir (Barth, 2013) ve orijinal olarak ekşimiş tereyağı gibi lipid açısından zengin malzemelerden izole edilmesi nedeniyle tür adı olarak "*lipolytica*" yı almıştır (Liu ve ark., 2015)

Y. lipolytica'nın 5-10°C'lerde geliştiği gözlenmiş, optimum ve maksimum gelişme sıcaklıkları sırasıyla 25-30°C ve 33-37 °C olarak bildirilmiştir (Barth, 2013). Maya, laktik ve sitrik asidi kullanabilmekte, sitrik veya laktik asit konsantrasyonun % 1 olduğu ortamlarda gelişebilmektedir (Kesenkaş ve Akbulut, 2006). Genellikle hidrofobik substrat içeren ortamlarda yaşar. Sınırlı sayıda şeker, alkol, şeker alkolü ve organik asit kullanır ve tuz varlığı, düşük sıcaklıklar, asidik ve alkali pH ortamında gelişebilir (Zinjarde, 2014).

Hücre içi yağ birikimi, hidroksil veya dikarboksilik asitlerin üretimi ve ayrıca büyük miktarlarda organik asitlerin salgılanması gibi özellikler, potansiyel bir bazik madde üreticisi olarak ilgiyi bu mayaya odaklamaktadır (Barth, 2013).

2.2.3.1. *Y. lipolytica* izole edilen gıdalar

Literatürde *Y. lipolytica* suşlarının, hücre dışı lipolitik ve proteolitik aktivitelerinin güçlü olması nedeniyle daha çok yağ, protein ve şeker içeren ortamlardan izole edildiği bildirilmektedir (Kesenkaş ve Akbulut, 2006). Bu sebeple en çok; peynir gibi süt ürünlerinde bunun yanında soya sosu ve et içeren salatalarda da görülmektedirler. *Y. lipolytica*, lipaz ve proteaz üretme potansiyeli nedeniyle, süt ürünleri, peynir, yoğurt, et, kümes hayvanları ve zeytinyağı gibi lipidden zengin veya proteinden zengin ortamlardan izole edilebilir (Liu ve ark., 2015). Erdem (2015), süt ürünleri ve zeytinde bulunan maya türlerinin tanımlanması ile ilgili yaptığı çalışmasında; kaymaktan izole ettiği 64 adet maya türünün 5 tanesi *Y. lipolytica* olarak tanımlanmıştır.

Bu ve diğ er mayaları, üzerinde iyi ç alışılmış iki maya türü olan *S. cerevisiae* ve *Schizosaccharomyces pombe*'den ayırmak için, yapay "geleneksel olmayan mayalar" grubu oluşturulmuş ve ilk olarak "Geleneksel olmayan mayaların genetiği" konulu konferansın başlığında kullanılmıştır (Barth, 2013).

Probiyotik *S. cerevisiae*'nin geniş ticari kullanımına rağmen, *D. hansenii*, *K. lactis*, *Sterigmatomyces halophilus*, *Pichia pastoris* ve *Y. lipolytica* gibi diğ er deneysel ve endüstriyel olarak üretilmiş maya türleri, hayvansal üretim sistemleri üzerinde kayda değer probiyotik etkiler göstermiştir (Guardiola ve ark., 2021).

Y. lipolytica, birçok ekosistemden izole edilmiş bir mayadır. şu anda, biyokütlesi ve bazı türetilmiş bileşikleri, Avrupa ve Amerika Ajansları tarafından genel olarak güvenli (GRAS) olarak kabul edilmiştir. Ç alışmalar, bu mayanın güvenli olduğunu ve memeliler, kuşlar, balıklar, kabuklular ve yumuşakçalar için probiyotik ve besleyici özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Guardiola ve ark., 2021). *Y. lipolytica*'nın özel fizyolojik özellikleri ve genel olarak güvenli (GRAS) statüsünün kabul edilmesi, bu dimorfik mayayı biyoteknolojik uygulamalar için önemli kılmaktadır. Hücre iç i yağ birikimi, hidroksil veya dikarboksilik asitlerin üretimi ve ayrıca büyük miktarlarda organik asitlerin salgılanması gibi özellikler, potansiyel bir bazik madde üreticisi olarak ilgiyi bu mayaya odaklamaktadır (Barth, 2013).

2.2.3.2. *Y. lipolytica*'nın faydalı etkileri

- Hayvanlar üzerinde sağlığa faydalı etkileri arasında üretken performans, bağışıklık geliştirme, redoks dengesi ve hastalıklara karşı direnci artırma,
- Yağ asidi kompozisyonunu, hematobiyokimyasal parametreleri, olgunlaşmayı ve gastrointestinal sistemin mikrobiyal popülasyonlarını iyileştirme (Guardiola ve ark., 2021),
- Peynirde olgunlaşmayı sağlama (Kesenkaş ve Akbulut, 2015),
- Aromatik bileşikler ve/veya metil ketonlar, alkoller, laktonlar ve esterler gibi aroma maddeleri oluşumuna öncü bileşikleri üretebilme (Kesenkaş ve Akbulut, 2015),

- Probiyotik etkilere sahip olma,
- Bağırsak olgunlaşmasının hızlanmasını sağlama
- Dokosaheksaenoik asit ve eikosapentaenoik asit üretimi (Guardiola ve ark., 2021)

2.2.3.3. Biyoteknolojik uygulamaları

- Biyoteknolojik uygulamalar esas olarak çoklu doymamış yağ asitlerinin yanı sıra çeşitli metabolitlerin (ör. organik asit, aromatik bileşik, polialkol) ve enzimlerin (ör. alkalın proteaz, lipaz, fosfataz, esteraz) üretimine odaklanmıştır. Örneğin endüstri, dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asit (EPA) üretmek ve bunları bebek sütüne dahil etmek için üstün özelliklere sahip *Y. lipolytica* suşlarını benimsemiştir.
- Son çalışmalar *Y. lipolytica*'nın hayvanlar için probiyotik potansiyellerini vurgulamıştır (Guardiola ve ark., 2021).

2.2.3.4. *Y. lipolytica*'nın probiyotik özellikleri ile ilgili çalışmalar

Yapılan bir çalışmada; hindiler için karma yemlere eklenen *Y. lipolytica*'nın, hindilerin bağırsıklıkları ve bağırsak mikroflora kompozisyonları üzerinde yaygın olarak kullanılan probiyotik bir maya olan *S. cerevisiae* türünden daha faydalı olup olmayacağı incelenmiş ve *Y. lipolytica*'nın bağırsak mikrobiyotasını olumlu yönden etkilediği, bağırsaktaki patojen mikroorganizmaların sayısını *S. cerevisiae*'ya göre daha yüksek oranda azalttığı bildirilmiştir (Czech ve ark., 2020).

Domuz yavruları için yemlere eklenen *Y. lipolytica* ve *S. cerevisiae*'nin hematolojik kan indeksleri ve bağırsak mikrobiyotası üzerine etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada ise, mayalara ek olarak probiyotik bakteri eklenmiştir. Mayaların aktiviteleri hem probiyotik ilave edilmeden mukayese edilmiş, hem de probiyotik eklendikten sonra mukayese edilmiştir. Çalışma sonucunda ise, *Y. lipolytica*'nın, *S. cerevisiae* mayasından daha faydalı etkileri olduğu bildirilmiştir. Bir probiyotik ile kombinlenen *Y. lipolytica*'nın, bağırsak içeriğindeki *E. coli* ve koliform bakterilerin

üremesini azalttığı görülürken, bu etkinin bir probiyotik bakteri ile kombinlenen *S. cerevisiae* ile görülmediği bildirilmiştir (Czech ve ark., 2018).

Reyes-Becerril ve ark. (2021), *Y. lipolytica*'nın D1 ve N6 suşlarının potansiyel probiyotik özelliklerini, antioksidan kapasitelerini ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. *Y. lipolytica* D1 ve N6 suşlarının, farklı konsantrasyonlarda tuz varlığında ve safra tuzu varlığında gelişim gösterdiği, düşük pH'a karşı duyarlı olduğu ve suşların herbirinin kendine özgü antioksidan kapasite ve yağ asidi profiline sahip olduğu gösterilmiştir. Diyet uygulaması ile balıklara *Y. lipolytica* desteği verildiğinde, bu balıklarda normal intetsinal morfoloji, yüksek IgM seviyesi ve yüksek antioksidan enzim aktivitesi görülmüştür. Bu bulgular, *Y. lipolytica* D1 ve N6 suşlarının; serbest radikal temizleme kapasitesi, farklı patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özellikler göstermesi, balıklarda bağışıklık parametrelerini iyileştirmesi ve *Vibrio parahaemolyticus* tehdidine karşı lökosit direnci göstermesi sebebi ile potansiyel ve faydalı probiyotikler olabileceğini düşündürmektedir.

Agarbatı ve ark. (2021), İtalya'nın Marche bölgesindeki peynirlerden ve farklı mandıralardan izole ettikleri 92 adet mayayı tanımlamışlardır. Bu mayalar yaygın olarak *D. hansenii* (% 58), *C. zeylanoides* (% 25) ve *Y. lipolytica* (% 5,5) iken, *Candida*, *Kluyveromyces*, *Maniliella* ve *Yamadazyma* cinslerine ait türler azınlıkta görülmüştür. Bu türlerin bazı fonksiyonel ve probiyotik özellikleri değerlendirildiğinde, *Y. lipolytica* ve *C. parapsilosis* biyotiplerinin bazılarının yüksek antioksidan özellik gösterdiği, *D. hansenii* ve *C. zeylanoides* biyotiplerinin çoğu probiyotik ve teknolojik özellik gösterdiği belirtilmiştir.

2.2.4. Potansiyel probiyotik olarak *Wickerhamomyces anomalus*

Eskiden *Pichia anomala*, *Hansenula anomala*, *Candida pelliculosa* olarak bilinen *W. anomalus*, mayaların sınıflandırılmasında büyük değişikliklere neden olan gen dizilerinin filogenetik analizlerine dayalı olarak *Wickerhamomyces* cinsine atanmıştır. *W. anomalus*; gıda, çevre, endüstriyel ve tıbbi uygulamaları olan, biyoteknolojik olarak uygun bir maya türüdür (Padilla ve ark., 2018).

Bir *W. anomalus* suşunun besilik piliçlerin bazı fizyolojik göstergeleri üzerindeki probiyotik etkisini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada; diyetinde *W. anomalus* ilavesi olan olan hayvan grubunda sağlık durumlarının daha iyi olduğu, karkas ve göğüs ağırlığında artış, aşıllara verilen yanıtın iyileştiği gösterilmiştir. *W. anomalus* LV-6'nın besilik piliçlerin diyetlerine eklenmesiyle bazı fizyolojik göstergeler üzerinde probiyotik tepki oluşturduğu sonucuna varılabilir (Garcia ve ark., 2014).

Yerel olarak fermente edilmiş ekşi maya hamurlarından glüten hidrolize edici mikrobiyatayı izole etmek için yapılan başka bir çalışmada; izole edilen 19 bakteri ve 3 maya izolatının, gluteni parçalama yetenekleri incelenmiş ve probiyotik potansiyelleri değerlendirilmiştir. İzolatların otoagregasyon kapasitesi, β -galaktosidaz enzim aktivitesi, antibiyotik duyarlılığı, anti-patojenik etki, safra tuzuna toleransı, düşük pH'a toleransı ve yüzey hidrofobisiteleri değerlendirilmiştir. Kontrol suşu olarak *L. plantarum* ATCC 14917 kullanılmıştır. Tüm maya suşları *W. anomalus* olarak tanımlanmıştır ve çalışmada kullanılan bakterilere göre düşük pH, safra tuzuna tolerans ve hidrofobikliği tolere etmede daha iyi sonuçlar göstermiştir. Bu da, *W. anomalus* QAUWA03 suşunun ekşi hamur fermantasyonu için probiyotik olarak kullanılma potansiyeli sergilediğini göstermektedir (Sakandar ve ark., 2018).

Erdem (2015), süt ürünleri ve zeytinde bulunan maya türlerinin tanımlanması ile ilgili yaptığı çalışmasında; zeytinden izole ettiği 83 adet maya türünün 15 tanesi *P. anomola* olarak tanı almıştır.

Başka bir çalışmada *W. anomalus* suşlarının, yüksek proteaz aktivitesi, β -galaktosidaz aktiivtesi ve β -glükosidaz enzim aktivitelesi gösterdiği belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2021; Cosme ve ark., 2022).

2.3. Zeytin, Zeytinyağı ve Maya İlişkisi

2.3.1. Zeytin

Uluslararası Zeytinyağı Konseyi'nin (IOCC); uygun meyve çeşidinden elde edilen ve doğal acılıklarının giderilmesi adına işlenen ve fermentasyon/ısıtma işlemiyle koruyucularla korunan, tüketilene kadar tuzlu su ile veya salamura olmadan depolanabilen gıda maddesi olarak tanımladığı zeytin; *olea europaea* ağacının bir meyvesi olarak bilinmektedir. Sahip olduğu yüksek yağ içeriği, acı bir bileşen olan oleuropeine ve düşük şeker konsantrasyonu, zeytinlerin doğrudan tüketilmesini engellemekte ve yenilebilir hale getirmek için bölgeden bölgeye önemli ölçüde farklılık gösterebilen bir dizi işlemi gerektirmektedir (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).

Sofralık zeytin, gıda endüstrisinin en önemli fermente gıdalarındandır. Sofralık zeytin üretimine katkısı en fazla olan ülkeler İspanya, Türkiye, Mısır, Yunanistan, İtalya ve Akdeniz ülkeleridir. Dünya çapında yaygın olan sofralık zeytin işleme, üretici ülkeler için de önemli bir ekonomik kaynak teşkil etmektedir (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).

Sofralık zeytinlerle ilgili en önemli endüstriyel çalışmalar ; üretimin yaklaşık % 60'ını oluşturan alkali ile işlenmiş yeşil zeytinler, alkali oksidasyonla olgunlaşmış zeytinler ve işlenmemiş veya doğrudan salamura edilmiş zeytinlerdir (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).

Sofralık zeytin üretiminde, zeytin fermentasyonu boyunca, ürünün güvenilirliğini, kalitesini ve lezzetini belirleyen çeşitli mikroorganizmalar önemli rol oynamaktadır. Bunlar içinde ön plana çıkan mikroorganizmalar *Enterobacteriaceae*, *Propionibacteriaceae*, laktik asit bakterileri ve mayalardır (Fernández Díez ve ark., 1985; Fernández ve ark., 1997).

Bakteri ve maya grubunun aynı anda varlığı, ürünün bozulmasına sebep olarak nihai ürünün güvenliğini tehlikeye atma riski doğurması sebebiyle negatif olarak kabul

edilebilmektedir. Bu mikroorganizmaların, oleuropeini parçalayarak meyvelerin acı tata sahip olmasına yol açmaları da söz konusudur. Bu sebeplere dayanarak, sofralık zeytin işleme sırasında mayalar hem arzu edilen tat ve kaliteyi sağlama, hem de bozulmaya neden olan mikroorganizmalar olarak hareket ederek çifte rol oynamaktadırlar (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).

2.3.1.1. Fermente zeytinlerin mikrobiyatası

Kendiliğinden fermentasyon, laktik asit bakterilerine ve/veya mayalara dayanır, üç aşamaya ayrılır (Bevilacqua ve ark., 2015).

İlk adım; tuzlu suda asitlenme sayesinde, yabani maya ve bakterilerin istenmeyen fermentasyonlarının neden olduğu hoş olmayan tat ve kokuyu önlemek adına çok önemlidir. 15 güne kadar sürebilen ve birincil fermentasyon olarak adlandırılan ikinci aşamada, *Streptococcus* ve *Leuconostoc* en fazla bulunan bakterilerdir. pH'ın 5'e düşmesi ile birlikte *Lactobacillus brevis* ve *L. plantarum* gibi aside dayanıklı türler hakimdir ve düşük pH'ı tolere edemedikleri için gram negatif mikroorganizmalarda azalma olur (Di Cagno ve ark., 2013). Üçüncü aşama, ikincil fermentasyon olarak isimlendirilir ve 2 aydan daha fazla sürebilmektedir. Bu aşamadaki en önemli mikroorganizma, çok çeşitli suda çözünür karbonhidratları fermente edebilen *L. plantarum*'dur (Arroyo-Lopez ve ark., 2008).

2.3.1.2. Sofralık zeytinlerden izole edilen maya türleri

Zeytin işleme ile ilişkili mayaların tanımlanmasında rutin olarak moleküler yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknikler, klasik biyokimyasal tekniklere göre daha yüksek bir doğruluk derecesi sağlamakla birlikte, daha hızlı ve uygulaması daha kolaydır.

Moleküler yöntemler kullanarak, Arroyo López ve ark. (2006) İspanyol yeşil terbiyeli sofralık zeytinlerden (kostik tuzsuz) *S. cerevisiae*, *Issatchenkia occidentalis* ve *Geotrichum candidum* türlerini ve olgun siyah zeytinlerin muhafaza aşamasından *Candida boidinii* ve *Hanseniaspora guilliermondii* türlerini tanımlamışlardır. Tablo

2.3.'te sofralık zeytinlerden elde edilme şekline, zeytin çeşidine ve ülkeye göre yaygın olarak izole edilen, moleküler yöntemlerle tanımlanan en belirgin maya türleri verilmiştir.

Coton ve ark., (2006) Fransız siyah zeytinlerinde *W. anomalous anomalous*, *C. boidinii* ve *Debaryomyces etchelsii*'yi baskın türler olarak belirlemiştir.

Romo-Sánchez ve ark., (2010), İspanyol taze zeytin meyvelerinden, ezilmiş zeytinlerden ve Arbequina ve Cornicabra çeşitlerinden zeytin prinasından maya biyoçeşitliliğini incelemiştir. *Pichia caribbica*, *Lachancea fermentati* ve *Nakazawaea holstii* en sık izole edilen türler olurken, bunu *Paramysidia mississippiensis*, *Kluyveromyces thermotolerans* ve *Saccharomyces rosinii* izlemiştir.

Nisiotou ve ark., (2010), Yunan siyah zeytinlerinin doğal fermantasyonunun başlangıcında *Metschnikowia pulcherrima*'nın baskın maya türü olduğunu ve bunu *Debaryomyces hansenii* ve *Aureobasidium pullulans*'ın izlediğini bildirmiştir. Ayrıca, *Candida olivae* olarak adlandırılan bu tür fermantasyonla ilişkili yeni bir maya türü bulmuşlardır. Fermantasyon ilerledikçe tür heterojenliği değişmiş ve *Pichia membranifaciens* ile birlikte *W. anomalous* gelimiştir.

Aponte ve ark., (2010), Sicilya yeşil sofralık zeytinlerin tüm fermantasyon süresi boyunca *Candida parapsilosis*, *Pichia guilliermondii* ve *Pichia kluyveri*'nin varlığını ortaya koymuştur.

Rodriguez-Gómez ve ark., (2010), asitlenmiş tuzlu sularda Manzanilla ve Hojiblanca çeşitlerinin zeytin depolanmasıyla ilişkili maya mikroflorasını incelediğinde, her iki çeşitte de tanımlanan en önemli iki tür, depolama süresince mevcut olan *S. cerevisiae* ve *Pichia galeiformis* iken, *C. boidinii*'yi işlemin sonraki aşamalarında tespit edilmiştir. *P. membranifaciens* türü, Hojiblanca çeşidinin sadece erken depolama aşamalarında tespit edilmiştir.

Tablo.2.3. Sofralık zeytinlerden elde edilme şekline, zeytin çeşidine ve ülkeye göre yaygın olarak izole edilen moleküler yöntemlerle tanımlanan en belirgin maya türleri.

Ülke	Zeytin çeşidi	Üretim şekli	En sık görülen maya türleri
İspanya	Malaga alorena	Salamura kırık yeşil zeytin	<i>S. cerevisiae</i> , <i>I. occidentalis</i> , <i>G. candidum</i> ,
İspanya	Malaga alorena	Salamura kırık yeşil zeytin	<i>C. apicola</i> , <i>C. diddensiae</i> , <i>P. galeiformis/manshurica</i> , <i>P. membranifaciens</i>
İspanya	Gordal ve Manzanilla	Salamura yeşil zeytin	<i>C. tropicalis</i> , <i>W. anomalus</i> <i>P. galeiformis</i> ,
	Arbequina	Salamura yeşil zeytin	<i>C. boidinii</i> , <i>C. sorbosa</i> , <i>C. membranifaciens</i> , <i>K. lactis</i> , <i>P. membranifaciens</i> , <i>W. anomalus</i> , <i>P. kluyveri</i> , <i>R. glutinis</i>
	Hojiblanca ve Manzanilla	Olgunlaştırılmış depo zeytin	<i>C. boidinii</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>H. gilliermondii</i> , <i>P. galeiformis</i> , <i>P. membranifaciens</i>
	Arbequina ve Cornicabra	Zeytin ezmesi	<i>P. caribbica</i> , <i>L. fermentati</i> , <i>N. holstii</i> <i>S. cerevisiae</i>
Portekiz	NBMA	Salamura yeşil zeytin	<i>P. membranifaciens</i> , <i>P. fermentas</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>C. oleophila</i>
	Manzanilla	Salamura kırık yeşil zeytin	<i>C. matriensis</i> , <i>Z. mrakii</i> , <i>S. cerevisiae</i>
Fransa	NBMA	Salamura siyah zeytin	<i>W. anomalus</i> , <i>C. boidinii</i> , <i>D. etchellsii</i>

Tablo 2.3. (Devamı)

Ülke	Zeytin çeşidi	Üretim şekli	En sık görülen maya türleri
Yunanistan	Conservolea	Salamura siyah zeytin	<i>M. pulcherrima</i> , <i>D. hansenii</i> , <i>A. pullulans</i> , <i>P. membranifaciens</i> , <i>W. anomalus</i> , <i>C. olivae</i>
İtalya	Brandofino, Castriciana, Nocellara del Belice, Passalunara	Salamura yeşil zeytin	<i>C. parapsilosis</i> , <i>P. guilliermondii</i> , <i>P. kluyveri</i>
	Nocellara dell Etna, Tonda di Cagliari,	Salamura yeşil zeytin	<i>S. cerevisiae</i> , <i>W. anomalus</i> , <i>C. diddensiae</i> , <i>I. orientalis</i> , <i>P. guilliermondii</i>

(Arroyo- Lopez ve ark., 2012)

2.3.1.3. Sofralık zeytin işlemede mayaların olumsuz yönleri

Fermentasyonun en önemli amacı, *Lactobacillus pentosus* ve *L. plantarum* türlerinin suşları tarafından üretilen laktik asit üretimi yoluyla meyvelerin korunmasını sağlamaktır. *Clostridium botulinum* sporlarının çimlenmesi ve *enterobacteriaceae*'nin büyümesini önlemek için, güvenli ve stabil bir ürünün düşük pH'a (<4,3) sahip olması gerekmektedir. Laktik asit bakterileri, mayaları yendiğinde, genellikle bu hedefe ulaşılır. Fakat , bazı durumlarda, mayalar baskın hale gelebilir ve laktik asit bakterileri ile besin rekabeti ve buna bağlı olarak daha düşük asit üretimi nedeniyle daha hafif bir tat ve daha az kendini korumaya sahip bir ürün oluşmasına neden olabilir (Arroyo- Lopez ve ark., 2012).

Fermentatif mayaların aşırı büyümesi, zeytinlere nüfuz edebilen ve meyvelerde kabarcık oluşumu nedeniyle meyvelere zarar verebilen, Alambrado olarak bilinen bir bozulma olan güçlü bir CO₂ üretimine de yol açabilmektedir (Fernández Díez ve ark., 1985).

Zeytin ile ilgili bazı maya suşlarının bir diğer olumsuz özelliği, proteazlar, ksilanazlar ve pektinazlar gibi meyvelerin yumuşamasına neden olabilecek enzimlerin üretilmesidir (Arroyo- Lopez ve ark., 2012). Bautista-Gallego ve ark. (2011), belirli *P. galeiformis* suşlarının önemli bir hücre dışı proteaz aktivitesi gösterdiğinden bahsetmiştir.

Mayaların büyümesi özellikle sofralık zeytin paketlemede zararlıdır. Paketlenmiş zeytinler, nihai üründe elde edilen alışılmış düşük pH ve yüksek tuz konsantrasyonuna rağmen maya bozulmasına maruz kalabilir (Fernández ve ark., 1997). Mayalar, ambalajda kalıntı şeker (veya başka bir besin) konsantrasyonu varsa büyüebilir, burada popülasyon seviyeleri 6 log₁₀ CFU/mL'nin üzerine çıkarak tuzlu suların bulanıklaşmasına neden olabilir (Arroyo López ve ark., 2005).

2.3.1.4. Sofralık zeytin işlemede maya kullanımının faydalı yönleri

2.3.1.4.1. Teknolojik uygulamalar

Sofralık zeytinlerde mayaların kullanılması teknolojik süreci çeşitli şekillerde iyileştirebilir:

- Meyvelerin organoleptik özelliklerinin geliştirilmesi; Bu mikroorganizmalar gliserol, etanol, yüksek alkoller, esterler ve sofralık zeytin işleme sırasında lezzet oluşumunda ve doku bakımında önemli bir rol oynayabilecek diğer uçucu bileşikleri üretirler (Arroyo-López ve ark., 2008; Garrido ve ark., 1995).
- Polifenollerin bozulması; Zeytinlerdeki acı tattan sorumlu olan glikozit olan oleuropeini kimyasal olarak parçalamak için zeytinler kostik (NaOH) ile muamele edilmelidir. Sofralık zeytin ile ilgili bazı mikroorganizmaların oleuropeini kullanabildikleri daha önce yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Biyolojik olarak fenolik bileşikleri tüketebilen mayaların varlığı (kısmen β-glukosidaz aktivitelerinden dolayı), meyvedeli acılığı gidermek için küllü su arıtımı sırasında üretilen büyük miktarlarda zeytin atık suyunu azaltabilir ve

aynı zamanda daha doğal bir ürün elde edilmesini sağlayabilir (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).

- Biyokontrol ajanları; Mayalar, biyokontrol ajanları olarak işlev gören mantarların ve diğer istenmeyen maya türlerinin büyümesini engelleyebilen, öldürücü faktörler olarak da adlandırılan etanol ve toksik proteinler veya glikoproteinler üretir (Viljoen, 2006). *Debaryomyces*, *Pichia* ve *Candida*, sofralık zeytinlerden izole edilen önemli sayıda öldürücü suşa sahip cinslerdir. Özellikle *W. anomalus* ve *P. membranifaciens*, önemli sayıda mikroorganizmaya, özellikle mantarlara karşı kanıtlanmış inhibitör aktiviteleri nedeniyle, bu açıdan umut verici perspektiflere sahip türlerdir. Böylece, ambalaj stabilitesini sağlamak ve daha sağlıklı ürünler elde etmeye yardımcı olmak için gerekli olan tuz ve koruyucu madde gereksinimlerini azaltabilirler (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).
- Laktik asit bakterileri'nin büyümesinin iyileştirilmesi; Sofralık zeytinlerde, *D. hansenii*'nin aynı siyah zeytin suyuna 48 saat önce aşılmasıyla *L. plantarum* gelişimini iyileştirdiği gözlemlenmiştir (Tsapatsaris ve Kotzekidou, 2004). Mayalar, vitaminler, amino asitler ve pürinler gibi maddeleri sentezleyen aktif mikroorganizmalar veya optimal büyüme için daha karmaşık bir ortama ihtiyaç duyan *Lactobacillus* türlerinin büyümesi için gerekli olan kompleks karbonhidratları parçalayan aktif mikroorganizmalar gibi görünmektedir (Viljoen, 2006). Ruiz Barba ve Jiménez Diaz (1995), sofralık zeytin ile ilgili bazı maya türlerinin (*P. membranifaciens*, *Pichia farinose*, *Pichia salictiana* ve *Candida diddensiae*) çeşitli vitaminleri (nikotinik ve pantotenik asitler, biotin ve B6 vitamini) sentezlediğinden bahsetmiştir.
- Antioksidan etki; Katalaz pozitif mayalar, zeytinlerin doymamış yağ asidi oksidasyonuna ve peroksit oluşumuna karşı korunmasına katkıda bulunur. Bu özellik, hidrojen peroksit varlığında mayaların kabarcık oluşturmasıyla kolayca tespit edilir. Katalaz aktivitesi sofralık zeytin ile ilgili mayalarda yaygındır ve *S. cerevisiae*, *W. anomalus*, *P. membranifaciens*, *P. galeiformis*, *Pichia fermentans* ve *Kluyveromyces lactis* türlerinin birçok suşunun bu özelliğe sahip olduğu kanıtlanmıştır (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).

2.3.1.4.2. İnsan sağlığı üzerine etkileri

- Probiyotik aktivite; Mayalar potansiyel probiyotik etkileri olan ilginç mikroorganizmalardır. Şimdiye kadar klinik etkileri olan ve çift kör klinik çalışmalarda probiyotik etkinliği kanıtlanmış ilk maya olan *S. boulardii* dışındaki probiyotik özelliklere sahip diğer maya suşlarını bulmak için büyük ilgi vardır. Yapılan ilk araştırmalarda yüksek safra tuzu konsantrasyonlarını ve düşük pH değerlerini tolere eden çeşitli *Torulaspota delbrueckii* ve *D. hansenii* suşları bulunmuş ve bu suşların kültür filtratlarının *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* ve *S. Typhimurium* gibi gıda kaynaklı patojenleri de inhibe ettiği görülmüştür. Diğer çalışmalar, benzer özelliklere sahip ancak farklı bir inhibisyon spektrumuna sahip çeşitli *P. membranifaciens* ve *Candida oleophila* suşları bulmuşlardır *K. lactis*, *D. hansenii*, *T. delbrueckii* ve *S. cerevisiae* gibi birçoğu sofralık zeytin işlemede de bulunan önemli sayıda maya türü, gastrointestinal sistemden geçişe, enteropatojenlerin inhibisyonuna, yapışmaya karşı tolerans göstermiştir (Arroyo-Lopez ve ark., 2012). Özellikle, *S. cerevisiae*'nin etanol üretimi ile simüle edilmiş gastrointestinal koşullar altında *E. coli* bakterisinin hayatta kalmasını azaltabildiği kanıtlanmıştır (Etienne-Mesmin ve ark., 2011). Bu nedenle söz konusu özelliklere sahip zeytin mayası suşlarının araştırılması umut verici bir işittir (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).
- Fitat komplekslerinin biyolojik bozunması; Fitik asit veya fitat, olgun bitki tohumlarında fosforun birincil depolanma şeklidir ve yağlı tohumlar, baklagiller ve birçok tahıl tanesinde bol miktarda bulunur. Fitat; kalsiyum, çinko, magnezyum ve demir gibi iki değerlikli minerallerle çözünmeyen kompleksler oluşturan güçlü şelatlama kapasitesi nedeniyle antibesinsel etkilere sahiptir. İnsanlarda fitat komplekslerinin bozunması için gastrointestinal sistemde gerekli enzimler bulunmadığından, bu antibesinsel bileşiklerin fosforilasyonu mayalar tarafından katalize edilebilir. Fitazlar, serbest inorganik fosfat, inositol fosfat esterleri ve mineraller salan spesifik olmayan fosfataz enzimleridir. Bu enzimler birçoğu sofralık zeytinlerden izole edilen *Issatchenkia orientalis*, *W. anomalus*, *S. cerevisiae*, *T.*

delbrueckii ve *K. lactis* gibi maya türlerinde yaygındır (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).

- Folatlar ve vitaminler ile biofortifikasyon; Hücresel replikasyon ve büyüme için çok önemli olan folatlar, nükleotidlerin biyosentezinde temel kofaktörlerdir. Yeterli folat alımı kardiyovasküler hastalık ve kanser riskini azaltabilir. Mayalar, folat biyosentez yolunu içerir ve doğal folatlar üretir, ancak memeliler bunları sentezleme yeteneğinden yoksundur ve bu nedenle diyetle alınması gerekir. *S. cerevisiae* ve *Candida glabrata*, yüksek folat biyosentezine sahip türlerdir (Moslehi-Jenabian ve ark., 2010). Sofralık zeytinlerden izole edilen ve *C. diddensiae*, *P. membranifaciens*, *Pichia salictaria*, *Peronospora farinosa* ve *C. oleophila* türlerine ait çeşitli maya suşları da biotin, pridoksin, nikotinik ve pantetonik asit, tiamin ve riboflavin gibi önemli miktarda vitamin üretme kapasitesi göstermiştir (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).
- Biyoaktif bileşiklerin ve doğal antioksidanların üretimi; Birkaç *Candida* ve *Saccharomyces* türü, ilginç antioksidan özelliklere sahip karotenoidler, sitrik asit, d-eritro askorbik asit, tokoferoller ve glutatyon gibi doğal antioksidanlar üretir (Abbas, 2006).
- Mikotoksinlerin biyolojik olarak parçalanması veya biyolojik olarak emilmesi; Mikotoksinler, esas olarak *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* cinslerine ait mantarlar tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir. En önemli mikotoksinler aflatoksinler, okratoksinler, sitrinin, fumonisinler, deoksinivalenol, zearaleon ve trikotesenlerdir. Bu bileşiklerin bazılarının sofralık zeytinlerde bulunduğu rapor edilmiştir). *S. cerevisiae*, mikotoksinlerin hücre duvarı bileşenlerine yapışması veya daha az toksik veya toksik olmayan ürünlere bozunması nedeniyle belirli bir detoksifikasyon kapasitesi göstermiştir (Arroyo-Lopez ve ark., 2012).

2.3.2. Zeytinyağı

Sızma zeytinyağı, Akdeniz diyetinin temel bir bileşenidir ve duyuşal ve besin değeri ile dünya çapında tanınmaktadır (Justino ve ark., 2012).

2.3.2.1. Sızma zeytinyağının üretimi ve fizikokimyasal özellikleri

Erken olgunlaşma döneminde hasat edilen zeytinler önce yapraklarından arındırılır, ardından yıkamaya tabi tutulur ve son olarak geleneksel yağ değirmenlerinde veya iki veya üç fazlı değirmenlerde işlenir. Zeytinler geleneksel bir değirmen kullanılarak işlendiğinde, değirmen taşları kullanılarak bir hamur elde etmek için zeytinler ezilir ve malaksasyon işlemine tabi tutulur. Malaksasyon işlemi; yağ damlacıklarının daha büyük damlacıklar halinde birleşmesi ve yağın ayrılmasını sağlamak için hamurun yoğurulmasıdır. Daha sonra, sıvıyı macunumsu katıdan ayırmak için, hidrolik presler kullanılarak presleme işlemi yapılır. Son olarak, yağ fraksiyonu, santrifüjleme işlemi ile sulu fazdan ayrılır (Amirante ve ark., 2010).

Yeni üretilen sızma zeytinyağında asılı kalan katı partiküller, süzme veya kapların dibine çöktürme ile elimine edilebilir. Sızma zeytinyağı, doğrudan zeytinlerden ve sadece mekanik yollarla elde edilen bir zeytinyağıdır (Ciafardini ve Zullo, 2018).

Sızma zeytinyağı esas olarak oleik asit, palmitik asit ve diğer yağ asitlerinden elde edilen trigliseritlerin yanı sıra diğer monogliseritler ve serbest yağ asitlerinden oluşan bir karışımdan oluşur (Ciafardini ve Zullo, 2018).

Zeytinyağı aynı zamanda organoleptik özelliklerinin belirlenmesinde önemli rol oynayan tirozol, hidroksitirozol, oleocanthal ve oleuropein esterleri gibi fenolik bileşikler ihtiva eder. (Gutiérrez Rosales ve ark., 1992).

Kimyasal bileşim; ürünün mikrobiyota bileşimini etkileyebilecek çeşide, bölgeye, rakıma, hasat zamanına ve ekstraksiyon işlemine göre değişir. Uluslararası Zeytin Konseyi (IOC) ve Avrupa Toplulukları (EC), sızma zeytinyağının kalitesini; serbest yağ asidi içeriği, peroksit değerleri, ve duyu skor da dahil olmak üzere kimyasal parametrelerine göre tanımlamıştır (Ciafardini ve Zullo, 2018).

2.3.2.2. Zeytinyağı ve maya

Sızma zeytinyağında mayaların varlığı ve aktivitesi son yirmi yılda keşfedilmiştir, bu nedenle zeytinyağının mikrobiyolojisi üzerine yapılan çalışmalar nispeten azdır ve esas olarak bazı biyoteknolojik yönlere odaklanmıştır (Ciafardini ve ark., 2006; Romo-Sánchez ve ark., 2010; Zullo ve ark., 2010).

Zeytinyağının tokoferoller, karotenoidler ve polar fenolik bileşikler gibi kimyasal bileşenleri göz önüne alındığında beslenme ve sağlık yararları tespit edilmiştir (Petroni ve ark., 1995; Visioli ve ark., 1995).

Son araştırmalar, taze üretilmiş sızma zeytinyağının, mayalar da dahil olmak üzere zengin bir mikrobiyota tarafından temsil edilen biyotik bir fraksiyon içerdiğini göstermiştir (Ciafardini ve Zullo, 2002). Yeni üretilen sızma zeytinyağında bu mayaların varlığı, esas olarak ekstraksiyon işlemi sırasında zeytinlerin karposferinden zeytinyağına göç etmelerinden kaynaklanmaktadır (Ciafardini ve ark., 2017).

Zeytinlerin karposferindeki bazı mayalar yağlı habitatta uzun süre yaşayamazken, diğerleri ürünün kimyasal bileşimine göre seçici bir şekilde çoğalarak zeytinyağının tipik mikrobiyotası haline gelir (Ciafardini ve ark., 2004; Zullo ve ark., 2010). Bazı mayalar, muhafaza sırasında yağın organoleptik özelliklerini iyileştirdikleri için faydalı olarak kabul edilirken, diğerleri, trigliseritlerin hidrolizi yoluyla yağın kalitesine zarar verebilecekleri için zararlı olarak kabul edilir (Zullo ve ark., 2010).

2.3.2.3. Zeytinyağından izole edilen maya türleri

Sızma zeytinyağı, herhangi bir rafine işlemine tabi tutulmadan doğrudan zeytinlerden üretildiği için tüm raf ömrü boyunca tipik mikrobiyotasını koruyabilir. Farklı sızma zeytinyağı türleri temelde aynı yağ asitlerini içerir, ancak alifatik ve triterpenik alkoller, steroller, hidrokarbonlar, uçucu bileşikler ve antioksidanlar gibi küçük bileşenlerin konsantrasyonunu aynı oranda içermez (Servili ve ark., 2004).

Candida diddensiae ve *Nakazawaea wickerhamii* türlerine ait mayalar, süpermarketlerde bulunan ticari sızma zeytinyağında bulunmuştur (Ciafardini ve Zullo, 2018).

Moraiolo ve Frantoio çeşitlerinden üretilen tek çeşit sızma zeytinyağında *Nakazawaea molendini-olei*, *Yamadazyma terventina* ve *Pichia manshurica* (Mari ve diğerleri, 2016) maya türleri bulunurken, Taggiasca çeşidinden taze üretilmiş sızma zeytinyağında *C. oleophila*, *C. diddensiae*, *Candida norvegica*, *W. anomalus* ve *D. hansenii* bulunmuş fakat altı aylık depolamadan sonra sadece *W. anomalus*'un hayatta kaldığı belirtilmiştir (Ciafardini ve ark., 2017).

İspanya'da üretilen zeytinyağından *Groenewaldozyma auringiensis* ve *L. fermentati* olarak bilinen diğer türler de izole edilmiştir (Péter ve ark., 2017).

İnsan sağlığı ile ilgili olarak, ticari sızma zeytinyağında *Meyerozyma guilliermondii* ve *C. parapsilosis* olarak tanımlanan bazı fırsatçı patojen maya türleri keşfedilmiştir. Ancak sızma zeytinyağında tespit edilen canlı hücre sayısının azlığı göz önüne alındığında, bunların varlığı tüketiciler için bir risk teşkil etmemektedir. Ancak fırsatçı bir patojen olan *C. parapsilosis* lipolitik aktiviteye sahiptir ve peynir gibi çeşitli ürünlerden izole edilebilir zeytinyağındaki varlığı, lipolitik aktivitesi ile ilişkili olabilir (Ciafardini ve Zullo, 2018).

2.3.2.3.1. Maya türlerinin sızma zeytinyağı kalitesine etkisi

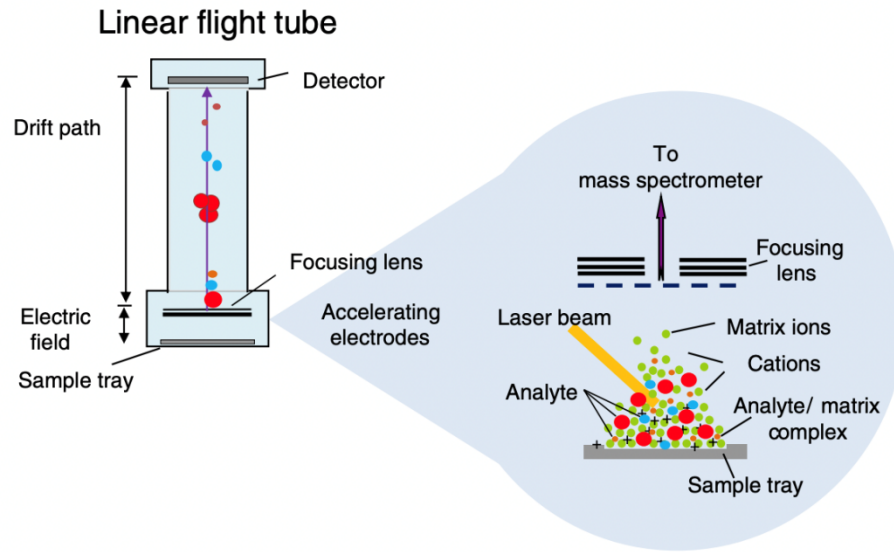
Sağlıklı zeytin mikrobiyotası; hasat sonrası depolama, işleme aşaması ve depolanması sırasında zeytinyağının genel kalitesinin iyileştirilmesine ve korunmasına büyük ölçüde katkıda bulunur. Bazı yağ kökenli maya türleri, acı glikozit oleuropein ve türevi oleuropein aglikon üzerinde etkili olan β -glukosidaz ve esteraz enzimlerinin üretimi yoluyla acılık giderme sürecini teşvik ederek yeni üretilen sızma zeytinyağının duyuusal özellikleri üzerinde olumlu bir etki gösterebilir (Ciafardini ve Zullo, 2018).

2.4. MALDI TOF-MS

Kütle spektrometrisi kullanılarak mikroorganizmaları tanımlamaya yönelik ilk girişimler 1975 yılında gerçekleştirilmiştir (Anhalt ve Fenselau, 1975). Sadece 1980'lerde MALDI-TOF MS'nin keşfiyle, daha büyük ribozomal proteinler de dahil olmak üzere nispeten büyük biyomoleküllerin analizi mümkün olmuştur (Hillenkamp ve Karas, 1990).

Kütle spektrometresi, çeşitli bileşiklerin kütle/yük oranını analiz etmek için kullanılan analitik bir tekniktir. Biyomoleküllerin analizi için bugüne kadar en yaygın olarak kullanılan yöntem, uçuş kütle spektrometresinin (MALDI-TOF MS) matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon süresidir. Kısa lazer darbeleri ile kristalize numune materyalinin iyonizasyonuna dayanır (Wieser ve ark., 2012). Molekülleri iyonize etmek için organik, aromatik ve zayıf asidik bir matriks kimyasalı kullanılmaktadır. Matriks; lazer ışınını tutup ortamın ısınmasını, moleküllerin buharlaşmasını, yüzeyden kolayca ayrılmasını ve hidrojen iyonlarını hücrelerden gelen moleküllere aktararak onların (+) yüklü olmasını sağlayan bir kimyasaldır. 4-hydroxy- α -cyanocinnamic acid (“alphacyano” veya 4HCCA), 2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB), 3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamic acid (sinapinic acid) MALDI TOF MS sisteminde kullanılacak matrikslerdir. İyonlar hızlandırılır ve uçuş süreleri bir vakum uçuş tüpünde ölçülür (Çuhadar, 2019).

Şekil 2.1.'de MALDI-TOF MS'nin bakteri ve mayaları şematik diyagramda tanımlama prensibi verilmiştir. Lazer etkisi, matris malzemesine gömülü olan ve hedef plakaya uygulanan bakteri/mayanın (ribozomal) proteinlerinin termal desorpsiyonuna neden olur (analitler kırmızı, açık mavi ve turuncu küreler olarak gösterilir, matris yeşil küreler olarak verilir). Bir elektrik alanında iyonlar kütlelerine ve elektrik yüklerine göre hızlandırılır. Sürüklenme yolu, daha fazla ayrılmaya izin verir ve vakum tüpünün üstünde algılanan desorbe edilmiş parçacıkların uçuş süresinde ölçülebilir farklılıklara yol açar. Uçuş anından itibaren polipeptitlerin tam kütlesi hesaplanabilir. (Wieser ve ark., 2012).

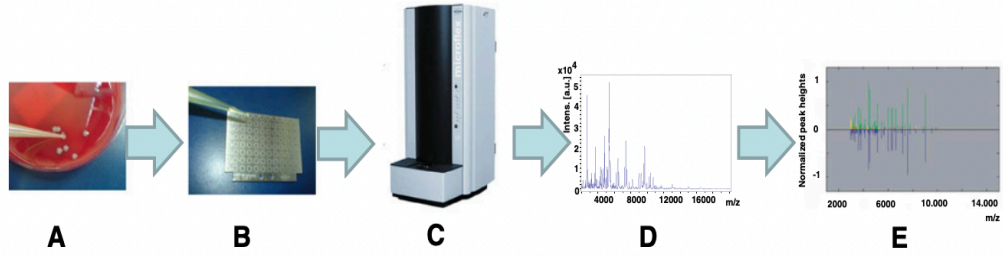


Şekil 2.1. MALDI-TOF MS'in bakteri ve mayaları şematik tanımlama prensibi (Wieser ve ark., 2012).

MALDI-TOF MS çok hassas bir teknik olduğundan, analiz için az miktarda mikrobiyal biyokütle yeterlidir (bakteriler için 10⁴ ila 10⁶ CFU). Bir mikroorganizmayı tanımlamak için, numune 1 µL matris çözeltisi ile karıştırılır ve kuruması için hedef plakanın çelik yüzeyine yerleştirilir. Matris çözeltisi (sinnamik asit veya bir benzoik asit türevi), hedef plaka üzerindeki numune ile birlikte kristalleşir (Şekil 2.2.). Tipik bir hedef plaka, 16 ila 384 numune tutabilir. Yüklenen hedef plakası makineye yerleştirilir ve daha sonra ölçüm odasına nakledilir. Kütle spektrometresi içinde sürekli olarak yüksek bir vakum sağlanmalıdır. Bununla birlikte, yüklenen hedef plakanın yerleştirilmesinden sonra, sisteme hava verilir ve numune analizi gerçekleştirilmeden önce vakumun yeniden sağlanması gerekir. Yeterli bir vakum oluşturulduğunda, tek tek numuneler kısa lazer darbelerine maruz bırakılır. Lazerin enerjisi, matriks ile birlikte mikroorganizmayı buharlaştırarak (ribozomal) proteinlerin iyonlaşmasına yol açar. Yaklaşık 20 kV'luk bir potansiyel tarafından oluşturulan bir elektromanyetik alan, iyonları uçuş tüpüne girmeden önce hızlandırır. Analitlerin uçuş tüpünün sonundaki dedektöre ulaşma süresi (TOF) hassas bir şekilde ölçülür. İyonizasyon derecesi ve proteinlerin kütlesi, bireysel TOF'larını belirler. Bu TOF bilgisine dayanarak, karakteristik bir spektrum kaydedilir ve belirli bir tür için benzersiz olan özel bir örnek parmak izi oluşturur.

MALDI-TOF MS ve geleneksel biyokimyasal farklılaştırma yöntemlerinin her ikisinin de izole edilmiş alt kültürlenmiş bakteri ve mayaların tanımlanmasında yüksek doğrulukta olduğu gösterilebilir (Wieser ve ark., 2012).

Şekil 3.3'te MALDI-TOF MS uygulama akış şeması verilmiştir. Alt kültürlenmiş koloniler temiz bir hedefe (a) uygulanır. Numuneler matris solüsyonu ile kaplanır ve havayla kurutulur (b). MALDI-TOF MS'de ölçüm yapılır (c); bir analite özgü kütle spektrumu elde edilir (d); veri tabanındaki spektrumlarla oluşturulan kütle spektrumunun otomatik olarak eşleştirilmesi yoluyla analit tanımlaması (e) gerçekleştirilir.



Şekil 2.2. MALDI-TOF MS uygulama şeması (Wieser ve ark., 2012).

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Maya İzolasyonunda Kullanılan Kaynaklar

Bu çalışmada geleneksel yöntemlerle üretilmiş, ısıtma işlemi görmemiş 26 adet farklı zeytinyağı, 27 adet farklı zeytin, 1 adet zeytin ezmesi ve 1 adet siyah, 1 adet yeşil olmak üzere 2 adet dilimli zeytin ile birlikte toplamda 56 farklı zeytin ve zeytin ürünü numunesi kullanılmıştır. Tablo 3.1.'de maya izolasyonu için kullanılan kaynakların isimleri verilmiştir. Her numuneye ayrı kodlama yapılmıştır. Şekil 3.1.'de kullanılan kaynaklarının bazıları gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Probiyotik mayaların izolasyonu için kullanılan kaynaklar

Örnek türü	Alındığı bölge	Örnek türü	Alındığı bölge
Zeytinyağı	Aydın*	Yeşil zeytin	Marmaris
Zeytinyağı	Balıkesir 1	Yeşil (kırma) zeytin	Hatay
Zeytinyağı	Balıkesir 2*	Yeşil (kırma) zeytin	Hatay 2
Zeytinyağı	Manisa	Yeşil zeytin	Hatay 3
Zeytinyağı	Hatay*	Yeşil zeytin	Hatay 4
Zeytinyağı	Muğla-Ortaca*	Yeşil zeytin	Edremit
Zeytinyağı	Muğla*	Siyah zeytin	Edremit
Zeytinyağı	Akçay*	Yeşil zeytin	İzmir
Zeytinyağı	Akhisar*	Siyah zeytin	Gemlik
Zeytinyağı	Gemlik	Siyah zeytin	Balıkesir
Zeytinyağı	Düzce*	Pembe zeytin	Sakarya
Zeytinyağı	Datça 1*	Yeşil zeytin	Sakarya 1
Zeytinyağı	Datça 2	Yeşil Zeytin	Sakarya 2
Zeytinyağı	Marmaris	Yeşil zeytin	Sakarya 3
Zeytinyağı	Akçakoca*	Siyah zeytin	Sakarya 1
Zeytinyağı	Bozdoğan 1*	Siyah zeytin	Sakarya 2

Tablo 3.1. (Devamı)

Örnek türü	Alındığı bölge	Örnek türü	Alındığı bölge
Zeytinyağı	Bozdoğan 2*	Siyah zeytin	Sakarya 3
Zeytinyağı	Bozdoğan 3*	Siyah zeytin	Sakarya 4
Zeytinyağı	Pamukören*	Siyah zeytin	Sakarya 5
Zeytinyağı	Germencik	Siyah zeytin	Sakarya 6
Zeytinyağı	Karacasu*	Siyah zeytin	Sakarya 7
Zeytinyağı	Sakarya*	Siyah zeytin	Sakarya 8
Zeytinyağı	İzmir 1*	Siyah zeytin	Sakarya 9
Zeytinyağı	İzmir 2*	Siyah zeytin	Sakarya 10
Zeytinyağı	İskenderun 1*	Kalamata zeytin	Sakarya
Zeytinyağı	İskenderun 2*	Yeşil zeytin	Çanakkale
Siyah zeytin ezmesi	Market	Dilimli siyah zeytin*	Market
Yeşil zeytin	Aydın	Dilimli yeşil zeytin	Market

*Maya izole edilemeyen kaynaklar



Şekil 3.1. Probiyotik mayaların izolasyonu için kullanılan kaynaklardan bazıları

3.1.2. Kullanılan Bakteriler

Bu çalışmada mayaların antimikrobiyal aktivitelerinin ve koagregasyon aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan *S. Typhimurium* ATCC 14028, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 saf kültürleri Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan kültürleri Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerine % 15 gliserol ilave edilerek -18°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.3. Kullanılan Besiyerleri

Çalışmada kullanılan besiyerleri Tablo 3.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Kullanılan besiyerleri

Besiyeri kodu	Besiyeri içeriği		
Besiyeri 1 :	Sabouraud % 2 Dextrose Broth (SDB)		
Besiyeri 2:	Potato Dextrose Agar (PDA)		
Besiyeri 3 :	Tropic Soy Broth with Yeast Extract (TSB + yeast)		
Besiyeri 4 :	Oxytetracyclin-Glucose-Yeast Extract Agar Base (OGYE)		
Besiyeri 5:	Müller Hinton Agar		
Besiyeri 6:	Proteaz Aktivite Ortamı	Skim milk	10 g
		Glikoz	1 g
		Pepton	5 g
		Yeast extract	2,5 g
		Agar	15
		Distile su	1000 ml
Besiyeri 7:	Amilaz Aktivite Ortamı	Nişasta	5 g
		Pepton	5 g
		Yeast extract	5 g
		Agar	20 g
		MgSO ₄ 7H ₂ O	0,5 g
		FeSO ₄ 7H ₂ O	0,01 g
		NaCl	0,01 g
		Distile su	1000 ml

3.1.4. Kullanılan tamponlar, çözeltiler ve boyalar

Çalışmada kullanılan tamponlar, çözeltiler ve boyalar Tablo 3.3.'te verilmiştir.

Tablo 3.3. Kullanılan tamponlar, çözeltiler ve boyalar

Çözelti/Tampon adı	İçerik	
Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)	Sodyum Klorür (NaCl)	8,5 g
	Distile su	1000 ml

Tablo 3.3. (Devamı)

Çözelti/Tampon adı	İçerik	
% 0,9'lük NaCl çözeltisi	Sodyum Klorür (NaCl)	9 g
	Distile su	1000 ml
% 0,3'lük Safra Tuzu Çözeltisi	Safra	3 g
	Distile su	1000 ml
Fosfat Sitrat Tamponu	0,2 M sitrik asit çözeltisi (19,21 g/L) 0,2 M dibazik sodyum fosfat çözeltisi (53,65 g/L)	
% 3'lük H ₂ O ₂	H ₂ O ₂	3 g
	Distile su	100 ml
Kristal Viyole Boyası	Kristal viyolet	1 g
	Fenol kristali	2 g
	Etil alkol (% 96)	10 ml
	Distile su	100 ml
Gram İyodür Boyası	İyot	7 g
	Potasyum İyodür (KI)	3 g
	Distile su	100 ml
Mide İçeriği Simülasyonu	Sodyum Klorür (NaCl)	2,05 g
	Potasyum di hidrojen fosfat (KH ₂ PO ₄)	0,6 g
	Kalsiyum Klorür(CaCl ₂)	0,11 g
	Potasyum Klorür(KCL)	0,37 g
	Distile su	1000 ml
Pankreatik Sıvı Simülasyonu	Ssfra tuzu	3 g
	Pankreatin	0,1 g
	Na ₂ HPO ₄	26,9 g
	NaCl	8,5 g
	Distile su	1000 ml

3.1.5. Kullanılan araç ve gereçler

Bu çalışmada, etüv (Elektro-Mag M 6040 BP), Hettich Universal 320R soğutmalı santrifüj, otoklav (WiseClave WAC-80), distile su cihazı (Nüve ND8), su banyosu (WiseBath WSB-30), çalkalamalı inkübatör (İldam Marka İL-Çİ 55), inkübatör (MIN-120 D), ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (IKA C- MAG-HS7), Eppendorf Research plus mikropipet, hassas terazi (Radwag AS 220.R2), vortex (IKA MS3 Basic), UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu UVmini-1240) kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Mayaların İzolasyonu

Mayal suşlarının izolasyonu Kurtzman ve ark. (2011) yöntemine göre yapılmıştır. Ph'sı % 90'lık 1 ml laktik asit ile 2-3'e düşürülen 90 ml Sabourand % 2 Dextrose Broth (SDB) besiyeri ortamına, örneklerden 10 g aktararak, 120 rpm'de çalkalamalı inkübatörde 27°C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. 3 günün sonunda zenginleştirmesi yapılan örneklerin 1'er ml'si, içerisinde steril 9 ml fizyolojik tuzlu su (FTS) bulunan tüplere steril pipetler yardımıyla alınarak 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} 'lik seyreltmeler hazırlanmıştır. Yapılan her seyreltmeden 1 ml alınarak dökme yöntemi ile içerisinde OGYE agar bulunan petrilere ekimler yapılmış ve 27°C'de 2 gün inkübasyona bırakıldıktan sonra, elde edilen saf kültürler seçilip, TSB+ yeast ortamında geliştirilmiş ve uzun süre saklanabilmesi için % 20'lik steril gliserol içeren ependorf tüplerine (1000µl aktif izolat + 200 µl gliserol) aktararak -60°C'de muhafaza edilmiştir. Kullanılan kaynaklara verilen harf kodları Tablo 3.4.'te verilmiştir.

Tablo 3.4. Probiyotik mayaların izolasyonunda kullanılan kaynakların harf kodları

Örnek türü	Kaynak	Kod	Örnek türü	Kaynak	Kod	Örnek türü	Kaynak	Kod
Zeytinyağı	Aydın*	Y1	Zeytinyağı	Germencik*	Y20	Yeşil zeytin	Çanakkale	Z13
Zeytinyağı	Balıkesir 1	Y2	Zeytinyağı	Bozdoğan 2*	Y21	Dilimli yeşil zeytin	Market	Z14
Zeytinyağı	Marmaris	Y3	Zeytinyağı	Bozdoğan 3*	Y22	Dilimli siyah zeytin*	Market	Z15
Zeytinyağı	Manisa	Y4	Zeytinyağı	Karacasu*	Y23	Pembe zeytin	Sakarya	Z16
Zeytinyağı	Hatay*	Y5	Zeytinyağı	Sakarya*	Y24	Yeşil Zeytin	Sakarya 2	Z17
Zeytinyağı	Muğla/Ortaca*	Y6	Zeytinyağı	İzmir 2*	Y25	Yeşil zeytin	Sakarya 3	Z18
Zeytinyağı	Muğla*	Y7	Siyah zeytin	Sakarya 10	Y26	Siyah zeytin	Sakarya 1	Z19
Zeytinyağı	İskenderun1*	Y8	Yeşil zeytin	Aydın	Z1	Kalamata zeytin	Sakarya	Z20
Zeytinyağı	İskenderun 2*	Y9	Yeşil zeytin	Marmaris*	Z2	Siyah zeytin	Sakarya 2	Z21
Zeytinyağı	Akçay*	Y10	Kırma zeytin	Hatay 2*	Z3	Siyah zeytin	Sakarya 3	Z22
Zeytinyağı	Akhisar*	Y11	Yeşil zeytin	Edremit	Z4	Siyah zeytin	Sakarya 4	Z23
Zeytinyağı	Gemlik*	Y12	Siyah zeytin	Edremit	Z5	Siyah zeytin	Sakarya 5	Z24
Zeytinyağı	Düzce*	Y13	Kırma zeytin	Hatay	Z6	Siyah zeytin	Sakarya 6	Z25
Örnek türü	Kaynak	Kod	Örnek türü	Kaynak	Kod	Örnek türü	Kaynak	Kod
Zeytinyağı	Dağa 1*	Y14	Zeytin	İzmir 1	Z7	Siyah zeytin	Sakarya 7	Z26
Zeytinyağı	Balıkesir 2*	Y15	Yeşil zeytin	Hatay 3	Z8	Siyah zeytin	Sakarya 10	Z27
Zeytinyağı	Dağa 2	Y16	Siyah zeytin	Gemlik	Z9	Siyah zeytin	Sakarya 8	Z28
Zeytinyağı	Akçakoca*	Y17	Siyah zeytin	Balıkesir	Z10	Siyah zeytin	Sakarya 9	Z29
Zeytinyağı	Bozdoğan 1*	Y18	Yeşil zeytin	Hatay 4	Z11	Siyah zeytin ezmesi	Market	Z30
Zeytinyağı	Pamukören*	Y19	Yeşil zeytin	Sakarya 1	Z12			

3.2.2. İzolatların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi

3.2.2.1. İzolatların otoagregasyon aktivitelerinin belirlenmesi

Kos ve ark., (2003) metoduna göre yapılan bu analizde; maya izolatları TSB yeast sıvı besi ortamında 37°C'de 48 saat inkübe edilerek aktiveleştirildikten sonra 9000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen maya pelleti iki defa % 0,9'luk NaCl çözelti ile yıkandıktan sonra aynı çözelti içinde tekrar çözündürülmüştür. Elde edilen çözeltinin optikal yoğunluğu spektrootometrede 600 nm'de $0,6 \pm 0,02$ 'ye ayarlanmıştır. Çözelti oda sıcaklığında 0 saat, 2. saat, 4 saat ve 24 saat bekletildikten sonra çözeltinin üst kısım fazından 0,1 mL alınarak, OD'si spektrofotometrede 600 nm'de tekrar okunmuştur. İzolatların oto agregasyon aktiviteleri, aşağıdaki eşitlik kullanılarak (Denklem 3.1) hesaplanmıştır.

$$\% \text{Otoagregasyon} = 1 - \left(\frac{A_t}{A_0} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

A₀ = İzolarların inkübasyon öncesi spektrometrede okunan değerlerinin gösterirken, A_t = izolatların t zaman sonunda spektrometrede okunan değerlerini göstermektedir.

3.2.2.2. İzolatların koagregasyon aktivitelerinin belirlenmesi

Maya izolatlarınının *E. coli* ATCC 25922 , *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 25923, *S. Typhimurium* ATCC 14028 suşları ile koagregasyon özelliklerinin belirlenmesi Rinkinen ve ark, (2003) yöntemine göre yapılmıştır. İzolatlar, TSB yeast sıvı besi ortamlarında 37°C'de 48 saat inkübe edilerek aktiveleştirilmiştir. Aktif kültürler, 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen maya pelletleri iki defa % 0,9'luk NaCl çözeltisi ile yıkandıktan sonra, aynı çözelti içinde tekrar çözülmüştür. Her bir örneğin OD'si spektrootometrede 600 nm'de $0,6 \pm 0,02$ 'ye ayarlanmıştır. Eşit miktarlardaki maya kültürü ile test bakteri örnekleri (*E. coli* ATCC 25922 , *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 25923, *S. Typhimurium* ATCC 14028) aynı tüp içinde 10-15 saniye Vortex ile karıştırıldıktan sonra, oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası kültür

karişimlarının üst kısmından 0,1 mL alınarak, OD değerleri 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuştur. Maya izolatlarının koagregasyon aktiviteleri, aşağıdaki eşitlik kullanılarak (Denklem 3.2) hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Koagregasyon} = \frac{(A_x + A_y) - 2 \times A_{\text{mix}}}{(A_x + A_y)} \times 100 \quad (3.2)$$

A_x = Sadece maya örneğine ait spektrometre değerini, A_y = sadece patojen mikroorganizmalara ait spektrometre değerini, A_{mix} = maya örneği ve patojen mikroorganizma karişımına ait spektrometre değerini göstermektedir.

3.2.2.3. İzolatların gastrointestinal koşullarda hayatta kalma becerisinin belirlenmesi

3.2.2.3.1. İzolatların mide sıvısı ortamında hayatta kalma becerisinin belirlenmesi

Mayaların mide sıvısı ortamında hayatta kalma becerilerinin taranması Bonatsou ve ark. yöntemine göre yapılmıştır (Bonatsou ve ark., 2018). pH 2.0'da (pH, 1 M HCl ile ayarlandı) bir tampon çözeltide, (NaCl (2.05 g / L), KH_2PO_4 (0.60 g / L), CaCl_2 (0.11 g / L) ve KCl (0.37 g / L)) içeren sentetik mide suyu hazırlanmıştır. Ortamın sterilizasyonundan sonra gastrik çözeltiyi elde etmek için pepsin (0.0133 g / L) ve lizozim (0.01 g / L) eklenmiştir. (Bonatsou et al., 2015.) Maya kültürlerinin PDA'de (25'de 24 saat) büyümesi sağlanıp, sıvı besiyerinde geliştirildikten sonra santrifüjlenmiş ve (5000 gr, 10 dk, 4 ° C) çökelti iki kez steril % 0.9 (ağırlık / hacim) NaCl çözeltisi ile yıkandıktan sonra steril % 0.9 (ağırlık / hacim) NaCl'de tekrar süspansiyon haline getirilmiştir. Daha sonra, hücreler gastrik çözeltide tekrar süspansiyon haline getirilerek, OD değeri 0,5 ($\lambda = 600 \text{ nm}$)'e eşitlenmiş ve peristaltik hareketleri simüle etmek için 200 rpm'de orbital çalkalayıcıda 2,5 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. İzolatların mide sıvısı ortamında hayatta kalma yüzdeleri, aşağıdaki eşitlik kullanılarak (Denklem 3.3) hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Canlılık} = \frac{A(\text{son})}{A(\text{ilk})} \times 100 \quad (3.3)$$

A_{ilk} = İzolatların inkübasyon öncesi spektrometre değerlerini gösterirken, A_{son} = izolatların 2,5 saat sonundaki spektrometre değerlerini göstermektedir.

3.2.3.3.2. İzolatların pankreatik sıvı ortamında hayatta kalma becerisinin belirlenmesi

Mayaların pankreatik sıvı ortamında hayatta kalma becerilerinin taranması Bonatsou ve ark yöntemine göre yapılmıştır (Bonatsou ve ark., 2018). pH 8.0' de (1 M HCl ile ayarlanmış), safra tuzları (3.0 g / L), pankreatin (0.1 g / L), Na_2HP0_4 (26.9 g / L) ve NaCl (8.5 g / L) ile formüle edilmiş bir tampon çözelti kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Bonatsou et al.,2015). Bir önceki gastrik sindirim adımından toplanan hücreler santrifüjlenerek, iki kez steril % 0,9'luk NaCl çözeltisinde yıkandıktan sonra ve simüle pankreas sıvısı solüsyonunda süspansiyon edilmiştir. Süspansiyonun çalkalanmasından sonra (200 rpm, 37°C'de 3,5 saat), çökelti % 0,9'luk NaCl çözeltisinde yıkanmıştır (Oliviera et al., 2017). PDA kültür ortamı üzerinde inkübe edilerek her sindirim simülasyonunun başında ve sonunda hücre canlılığını değerlendirilmiştir. İzolatların pankreatik sıvı ortamında hayatta kalma yüzdeleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak (Denklem 3.4) hesaplanmıştır.

$$\% \text{Canlılık} = \frac{A_{(son)}}{A_{(ilk)}} \times 100 \quad (3.4)$$

$A_{(ilk)}$ = İzolatların inkübasyon öncesi spektrometrede değerlerini, $A_{(son)}$ = izolatların 3.5 saat sonra spektrometrede okunan değerlerini göstermektedir.

3.2.2.4. İzolatların hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi

Maya suşları; % 5 defibrin koyun kanı içeren kanlı agar plaklara çizildikten sonra, 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. 48 saat sonundaki zon oluşumları gözlemlenerek değerlendirme yapılmıştır (Luo ve ark. 2001).

3.2.2.5. İzolatların patojen bakteriler karşısında etkinliklerinin belirlenmesi

Mayaların patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi Syal ve Vohra (2013)'nın kullandığı yöntem modifiye edilerek, disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. *E. coli* ATCC 25922 , *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 25923, *S. Typhimurium* ATCC 14028 suşları TSB sıvı besi ortamında, 37°C'de 24 - 48 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. Her bir petriye izolatın inokülasyonu için steril boş diskler yerleştirilmiştir. İzolatlar Müller-Hinton Agarda 25°C'de 24 saat aktive edildikten sonra 2 McFarland bulanıklığına ayarlanarak maya kültürlerinden boş disklere 10 µL emdirilmiştir. Plakalar 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra petrilere diskler etrafındaki inhibisyon zonunun çapı ölçülmüştür.

3.2.2.6. İzolatların antibiyotiklere karşı dirençlerinin belirlenmesi

Antibiyotik toleransı testi için seçilen maya suşları TSB yeast sıvı besiyeri ortamında 25°C'de 24 saat aktive edilmiştir. Önceden hazırlanmış PDA içeren petrilere üzerine aktif kültürlerden yoğunlukları 2 McFarland bulanıklığına eşdeğer olacak şekilde ayarlanarak petrilere 100 µL ilave edilip yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi eritromisin, gentamisin ve vancomycin antibiyotik diskleri kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Petrilere 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra disk etrafında oluşan zonlar milimetrik olarak ölçülmüştür (Todorov ve ark., 2008).

3.2.2.7. İzolatların safra tuzuna dirençlerinin belirlenmesi

Saf maya izolatları, safra içermeyen TSB yeast sıvı besiyeri ortamına ve % 0,3 safra eklenen TSB yeast ortamlarına ayrı ayrı ekilerek, 48 saat 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda izolatların safra karşısındaki büyümeleri karşılaştırılmıştır (Syal ve Vohra, 2013).

İzolatların safra tuzuna gösterdikleri direnç karşısında hayatta kalma yüzdeleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak (Denklem 3.5) hesaplanmıştır

$$\% \text{Canlılık} = \frac{A_s}{A_0} \times 100 \quad (3.5)$$

A_0 = İzolatların safra bulunmayan ortamdaki spektrometre değerlerini, A_s = izolatların safra bulunan ortamdaki spektrometre değerlerini göstermektedir.

3.2.2.8. İzolatların hidrokarbonlara tutunma aktivitelerinin belirlenmesi

Maya izolatlarının hidrokarbonlara tutunması Zárate ve ark. (2000)'nın yöntemine göre belirlenmiştir. İzolatlar, TSB yeast sıvı besiyerlerinde 37°C'de 48 saat inkübe edilerek aktiveleştirilmiştir. Aktif kültürler, 9000 rpm'de 15 dakika santrüfjü edilip, elde edilen pelletler, % 0,9'luk NaCl çözeltisi ile yıkanmış ve 0,1 M KNO₃ (pH 6,2) tamponu içinde tekrar çözülerek ve spektrofotometrede OD'si 600 nm'de $0,6 \pm 0,02$ 'ye ayarlanmıştır (OD₁). Maya süspansiyonundan 2 mL alınarak, 0,5 mL p-ksilen (polar olmayan nötral çözücü), kloroform (monopolar asidik çözücü), etil asetat (monopolar bazik çözücü) hidrokarbonlarının üzerine konularak, oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Oda sıcaklığında 10 dakikalık ön inkübasyondan sonra ayrılan iki faz 2 dakika vorteks ile karıştırılarak tekrar oda sıcaklığında 4 saat bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra sulu fazın OD'si spektrofotometrede 600 nm'de ölçülmüştür (OD₂). Maya izolatlarının hidrokarbonlara mikrobiyal tutunma aktivitesi, aşağıdaki eşitlik kullanılarak (Denklem 3.6) hesaplanmıştır.

$$\% \text{Hidrofobisite} = \frac{OD_1 - OD_2}{OD_1} \times 100 \quad (3.6)$$

OD₁ = Maya kültürlerinin optikal dansitesini gösterirken, OD₂ = karışık kültürün 4 saat sonundaki optikal dansitesini göstermektedir.

3.2.3. İzolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi

3.2.3.1. İzolatların katalaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi

Mayaların katalaz enzim aktiviteleri Whittenbury ve ark. (1964) yöntemine göre yapılmıştır. Suşlar başlangıçta PDA besiyeri ortamında geliştirilmiştir (48 saat, 27°C). Maya kolonilerine 1'er damla % 3 (v/v) hidrojen peroksit H₂O₂ ilave edilmiştir. Katalaz aktivitesi, kabarcık oluşumu ile belirlenmiştir.

3.2.3.2. İzolatların proteaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Suşlar başlangıçta PDA besiyeri ortamında geliştirilmiştir (48 saat, 27 °C). Proteaz aktivitesi, Strauss ve ark. (2001) tarafından açıklanan yöntemle, maya kolonileri 20 g / L kazein içeren PDA'ya yayılarak belirlenmiştir. İnkübasyon süresinden sonra (30°C'de 48 saat gün), koloninin etrafında zon oluşup oluşmadığı gözlemlenmiştir.

3.2.3.3. İzolatların amilaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Suşlar başlangıçta PDA besiyeri ortamında geliştirilmiştir (48 saat, 27 °C). Amilaz aktivite ortamı, nişasta agarı (5 g nişasta, 5g pepton, 5 g yeasy extract, 20 g agar, 0.5 g MgSO₄7H₂O, 0,01 g FeSO₄7H₂O, 0,01 g NaCl, 1000 ml distile su) kullanılarak hazırlanmıştır. İnkübasyondan sonra (48 saat, 30°C), besiyerleri iyot çözeltisi ile sulandırılmış ve koloninin etrafında kahverengi bir rengin ortaya çıkması pozitif bir sonuç olarak kabul edilmiştir (Samad, 1989).

3.2.3.4. İzolatların estreaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

PDA besiyeri, pH 7.3-7,4'te Tween 80 (% 1) ve fenol kırmızısı (% 0,01, ağırlık / hacim) ile desteklenmiştir. Aktif hale gelen maya izolatlarından ekim yapılarak 37°C'de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. Koloni etrafında zon oluşup oluşmadığı gözlemlenmiştir (Samad, 1989).

3.2.4. Probiyotik özellik gösteren izolatların moleküler identifikasyonu

3.2.4.1. Maya izolatlarının MALDI-TOF MS ile tanımlanması

Çalışmamızda elde edilen mayalardan en iyi probiyotik özellik gösteren 25 izolat seçilmiştir. PDA katı besiyerinde 48 saat, 25°C’de geliştirilen izolatlar, MALDI-TOF MS ile tanımlaması yapılmak üzere İnönü Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’na gönderilmiştir. Moleküler biyoloji laboratuvarında önce MALDI-TOF MS ile tanı alan izolatların, Arbitrarily Primed-PCR ile fingerprints sonuçlarına bakılmıştır.

3.2.4.2. Arbitrarily primed PCR (AP-PCR)

Çalışma kapsamında elde edilen izolatların AP-PCR ile karakterizasyonu İnönü Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’ndan hizmet alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir. 100 ng şablon DNA, 100 pmol M13 primer (5'-GAG GGT GGC GGT TCT-3'), 2,5 U Taq DNA polimeraz (Promega Corporation, ABD), 0,4 mM dNTP karışımı, 4 mM MgCl₂, 10X amplifikasyon tamponu içeren AP-PCR ana karışımı hazırlanmıştır. Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems, ABD) ile amplifikasyon gerçekleştirmek için aşağıdaki koşullar kullanılmıştır:

- 94°C'de 5 dakikalık, 40°C'de 5 dakikalık ve 72°C'de 5 dakikalık 2 döngü;
- 94 °C'de 1 dakikalık, 40°C'de 1 dakikalık ve 72 °C'de 2 dakikalık 40 döngü.

3.2.4.3. 26S rDNA D1/D2 bölgesi dizi analizi

Daha önce MALDI-TOF MS ile tanımlaması yapılan izolatların içerisinde, AP-PCR ile farklı bant profilleri veren 3 izolat seçilerek, ayrıntılı tanımlama işlemi için 26S rDNA D1/D2 bölgesi dizi analizi yapılmıştır. Y45, Y66, Y97 kodlu izolatlara sekans analizi uygulanmıştır. Bu analiz İnönü Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’ndan hizmet alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.3.1. DNA izolasyonu

Oxytetracyclin-Glucose-Yeast Extract Agar platelerde kültüre alınan maya izolatlarından DNA izolasyonu EZ1 DNA Tissue Kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak biorobot EZ1 DNA izolasyon cihazı (Qiagen, Almanya) ile yapılmıştır.

3.2.4.3.2. Amplifikasyon ürünlerinin elde edilmesi

Elde edilen DNA, NL1 (5'-GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAA AAG-3') ve NL4 (5'-GGT CCG TGT TTC AAG ACG G-3') primerleri kullanılarak amplifiye edilmiştir (Nejat ve ark., 2018).

3.2.4.3.3. Amplikonların saflaştırılması

Polymerase Chain Reaction (pcr) sonucunda hedef gene ait primerler ile elde edilen amplikonlar, jelden nükleik asit saflaştırma kitiyle, özgün olmayan bağlanmalardan ve primer artıkları gibi artefaktlardan arındırılmıştır. Bu amaçla ticari bir saflaştırma kiti (Qiaquick PCR purification Kit, Qiagen, Almanya) üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanılmıştır. Saflaştırma sonunda elde edilen ürünlerin saflığı % 1,5'lük agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiş ve yeterli miktarda DNA içeren saflaştırılma ürünleri dizileme reaksiyonunda kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır. Bu analiz İnönü Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan hizmet alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.3.4. Dizi analizi

Amplikonların dizi analizi Bigdye Terminator V3.1 cycle sekanslama kiti kullanılarak ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABD) cihazında yapılmıştır. Dizi analizi için Applied Biosystems™ 310 Genetic Analyzer cihazı kullanılmıştır. Bu cihazla uyumlu BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kiti kullanılarak zincir sonlandırma (cycle sequencing) işlemi yapılmıştır. Tüm izolatlar için DNA dizi analizi, sekans reaksiyonu çift yönlü olarak her iki primerle

uygulanmıştır. Dizi analizi tepkimesi için reaksiyon şartları Tablo 3.5.'te özetlenmiştir. Bu analiz İnönü Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan hizmet alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.5. Dizi analizi reaksiyon karışımı

Komponent	Miktar (µl)
5x Cycle Sequencing Buffer (AB)	3
BigDye	2
Primer (10 pmol/ µl)	0.32
H ₂ O	12.68
DNA	2
Toplam Hacim	20 µl

Bu şekilde hazırlanan karışım GeneAmp™ PCR System 9700 Thermal Cycler cihazına yüklendi ve aşağıdaki amplifikasyon koşulları takip edilmiştir :

95 °C	5 sn (denatürasyon)	} 60 siklus
50 °C	20 sn (bağlanma)	
60 °C	4 dk (primer uzaması)	

3.2.4.3.5. Big-dye prepsitasyon

Cycle Sequencing reaksiyonundan sonra BigDye prepsitasyon yapmak için Tablo 3.6.'daki stok solüsyonları uygun miktarlarda kullanılmıştır.

Tablo 3.6. BigDye Prepsitasyon prtokolü için kullanılan kimyasallar

A	Sodyum asetat pH 4.6	3000 mM
	Na-EDTA	100 mM
	Glikojen	20 mg/ml
	Su	
B	Sekans karışımı	
C	Etanol (-20 °C)	% 99

Tablo 3.6.'da verilen tampon ve kimyasallar ile takip edilen prespitasyon basamakları aşıda özetlenmiştir;

- B, buz üzerinde 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı.
- B'nin üzerine 12.39 µl A'dan ilave edildi.
- Daha sonra mikrosantrifüj tüpüne soğuk etanol eklenir eklenmez >18 k x g ivmesi ile 45 dakika santrifüj edildi, ardından süpernatant uzaklaştırıldı.
- İki defa 200 µl % 70 etanol (-20 °C) ile yıkama yapıldı, süpernatant uzaklaştırıldı.
- Pellet kurutuldu.
- Pellet 40 µl deiyonize formamid ile çözülür.

Çöktürülen ve kapiller jel elektroforezine hazır hale getirilen DNA, dizi analizi için cihaza yüklenmeden hemen önce 95 °C'de 5 dakika bekletilerek denatürasyon sağlanmıştır.

Dizi analizi sonucunda elde edilen diziler "National Center for Biotechnology Information Database"de (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) yer alan BLAST (Basic Local Alignment Tool) sunucusu kullanılarak veri bankasında kayıtlı diğer izolatlarla karşılaştırılmıştır.

BÖLÜM 4. BULGULAR

4.1. İzolatların Elde Edilmesi

56 farklı kaynaktan yürütülen izolasyon işlemi sonucunda toplam 106 maya izolatu elde edilmiştir. İzolasyon işlemi sonucunda elde edilen izolatlar ve kaynakları Tablo 4.1.'de verilmiştir. İzole edilen mayalar mikroskop ile incelenmiş ve petri kabındaki şekillerinin değerlendirilmesi Tablo 4.2.'de, mikroskopik görüntüleri ise Ek 1.' de verilmiştir.

Tablo 4.1. Mayaların izolasyonunda kullanılan kaynakların isimleri, harf kodlamaları ve izolatların numaralandırılmaları

Örnek türü	Kaynak	İzolatların kodları	İzolatların numaraları
			1
Zeytin	İzmir 1	Z7	2
			3
			4
Siyah zeytin	Gemlik	Z9	5
			6
Yeşil zeytin	Hatay 3	Z8	7
			8
			9
Yeşil zeytin	Edremit	Z4	10
			11
			12
			13
Yeşil zeytin	Hatay 4	Z11	14
			15
			16
			17
Siyah zeytin	Balıkesir	Z10	18
			19

Tablo 4.1. (Devamı)

Örnek türü	Kaynak	İzolatların kodları	İzolatların numaraları
			20
Siyah zeytin	Edremit	Z5	21
			22
			23
Yeşil (kırma) zeytin	Hatay	Z6	24
			25
			26
Yeşil zeytin	Sakarya 1	Z12	27
			28
			29
			30
Yeşil zeytin	Çanakkale	Z13	31
			32
Dilimli yeşil zeytin	Market	Z14	33
			34
Pembe zeytin	Sakarya	Z16	35
			36
Siyah zeytin	Sakarya 1	Z19	37
			38
Siyah zeytin	Sakarya 9	Z29	39
Zeytinyağı	Datça 2	Y16	40
			41
			42
Yeşil zeytin	Sakarya 3	Z18	43
			44
			45
Siyah zeytin	Sakarya 1	Z19	46
			47
Yeşil Zeytin	Sakarya 2	Z17	48
			49
			50
Siyah zeytin	Sakarya 9	Z29	51
			52
			53
Kalamata zeytin	Sakarya	Z20	53

Tablo 4.1. (Devamı)

Örnek türü	Kaynak	İzolatlara kodları	İzolatlara numaraları
			54
			55
Siyah zeytin	Sakarya 8	Z28	56
			57
			58
			59
Siyah zeytin	Sakarya 10	Z27	60
			61
			62
			63
Siyah zeytin	Sakarya 7	Z26	64
			65
			66
			67
			68
Siyah zeytin	Sakarya 5	Z24	69
			70
			71
			72
Siyah zeytin	Sakarya 6	Z25	73
			74
			75
			76
Siyah zeytin	Sakarya 4	Z23	77
			78
			79
			80
Siyah zeytin	Sakarya 3	Z22	81
			82
			83
			84
Siyah zeytin	Sakarya 2	Z21	85
			86
			87
			88
Siyah zeytin	Edremit	Z5	89

Tablo 4.1. (Devamı)

Örnek türü	Kaynak	İzolatların kodları	İzolatların numaraları
			90
			91
Zeytinyağı	İzmir 2*	Y25	92
			93
Siyah zeytin	Sakarya 10	Y26	94
			95
			96
Zeytinyağı	Sakarya*	Y24	97
			98
			99
Zeytinyağı	Balıkesir 1	Y2	100
Zeytinyağı	Manisa	Y4	101
			102
			103
Zeytinyağı	Marmaris	Y3	104
			105
			106

Tablo 4.2. İzole edilen mayaların petri kabındaki görünüşleri

Kod	Renk	Ton	Şekil
1	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
2	Koyu Beyaz	Mat	Yuvarlak
3	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
4	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
5	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
6	Beyaz	Mat	Yuvarlak
7	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
8	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
9	Beyaz	Mat	Yuvarlak
10	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
11	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
12	Beyaz	Mat	Kıvrımlı
13	Beyaz	Mat	Yuvarlak
14	Beyaz	Parlak	Yuvarlak

Tablo 4.2. (Devamı)

Kod	Renk	Ton	Şekil
15	Krem	Parlak	Yuvarlak
16	Beyaz	Mat	Kıvrımlı, içi şeffaf
17	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
18	Beyaz	Mat	Yuvarlak
19	Beyaz	Mat	Kıvrımlı, koyu beyaz
20	Beyaz	Mat	Kıvrımlı, iç kısım şeffaf
21	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
22	Krem	Mat	Yuvarlak
23	Beyaz	Mat	Kıvrımlı, iç kısım şeffaf
24	Krem	Mat	Yuvarlak
25	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
26	Krem-Beyaz	Parlak	Yuvarlak
27	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
28	Beyaz	Parlak Üzeri Mat	Yuvarlak
29	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
30	Beyaz	Mat	Yuvarlak
31	Beyaz	Parlak Üzeri Mat	Yuvarlak
32	Beyaz	Mat	Kıvrımlı, hafif yüksek
33	Beyaz	Mat	Yuvarlak
34	Koyu Beyaz	Mat	Yuvarlak
35	Beyaz	Mat	Yuvarlak
36	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
37	Koyu Beyaz	Mat	Yuvarlak
38	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
39	Beyaz	Mat	Yuvarlak
40	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
41	Krem	Parlak	Yuvarlak
42	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
43	Beyaz	Parlak Üzeri Mat	Yuvarlak
44	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
45	Beyaz	Mat	Yuvarlak
46	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
47	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
48	Beyaz	Parlak Üzerimat	Yuvarlak
49	Beyaz	Mat	Tepeli yuvarlak
50	Beyaz	Mat	Kıvrımlı
51	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
52	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
53	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
54	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
55	Krem	Parlak	Yuvarlak

Tablo 4.2. (Devamı)

Kod	Renk	Ton	Şekil
56	Beyaz	Mat	Kıvrımlı
57	Beyaz	Mat	Yuvarlak
58	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
59	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
60	Krem	Mat	Yuvarlak
61	Krem	Parlak	Yuvarlak
62	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
63	Beyaz	Mat	Kıvrımlı
64	Krem Üzeri Beyaz	Mat	Tepeli yuvarlak
65	Krem-Şeffaf	Mat	Yuvarlak
66	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
67	Beyaz	Mat	Kıvrımlı
68	Beyaz	Mat	Yuvarlak
69	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
70	Krem-Şeffaf	Mat	Yamuk
71	Beyaz	Mat	Yuvarlak
72	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
73	Krem	Mat	Yuvarlak
74	Krem Üzeri Beyaz	Mat	Yuvarlak
75	Beyaz	Mat	Yuvarlak, kenarları pütürlü
76	Koyu Beyaz	Mat	Yuvarlak
77	Koyu Beyaz	Mat	Tepeli yuvarlak
78	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
79	Krem Üzeri Beyaz	Mat	Yuvarlak, kenarları pütürlü
80	Krem	Parlak	Yuvarlak
81	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
82	Krem-Gri	Mat	Yuvarlak
83	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
84	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
85	Krem	Mat	Yuvarlak, kenarları pütürlü
86	Krem	Mat	Yuvarlak
87	Krem-Gri	Parlak	Yuvarlak
88	Beyaz	Mat	Yuvarlak
89	Beyaz	Mat	Yuvarlak
90	Açık Kahve	Mat	Yuvarlak
91	Beyaz,Opak	Mat	Yuvarlak
92	Beyaz,Opak	Mat	Yuvarlak
93	Açık Kahve,Opak	Mat	Yuvarlak
94	Açık Kahve, Saydam	Parlak	Yuvarlak
95	Beyaz	Mat	Yuvarlak

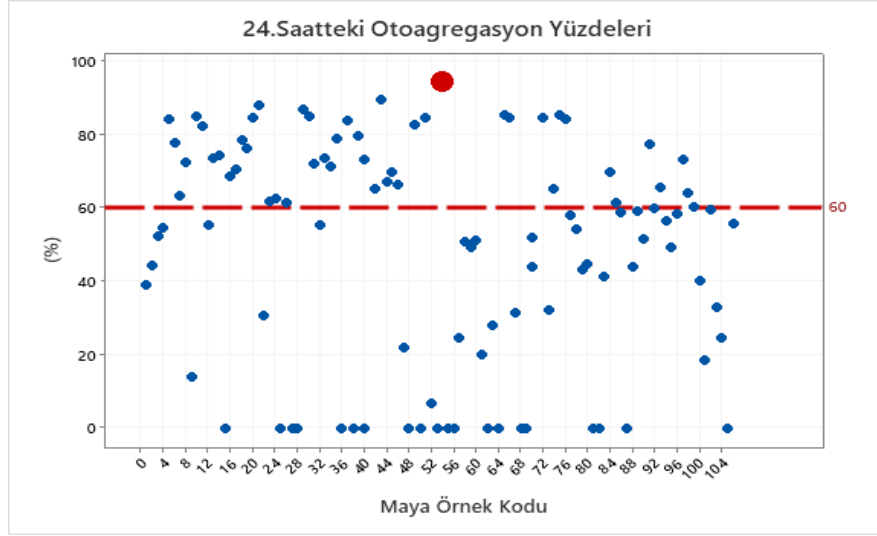
Tablo 4.2. (Devamı)

Kod	Renk	Ton	Şekil
96	Beyaz	Parlak	Yuvarlak
97	Krem	Mat	Köşeli yuvarlak
98	Açık Kahve	Mat	Yuvarlak
99	Beyaz	Parlak	Köşeli yuvarlak
100	Beyaz Opak	Mat	Yuvarlak
101	Beyaz	Parlak	Kıvrımlı yuvarlak
102	Krem	Parlak	Yuvarlak
103	Beyaz	Mat	Yuvarlak
104	Beyaz	Mat	Köşeli yuvarlak
105	Beyaz	Mat	Yuvarlak
106	Beyaz	Parlak	Yuvarlak

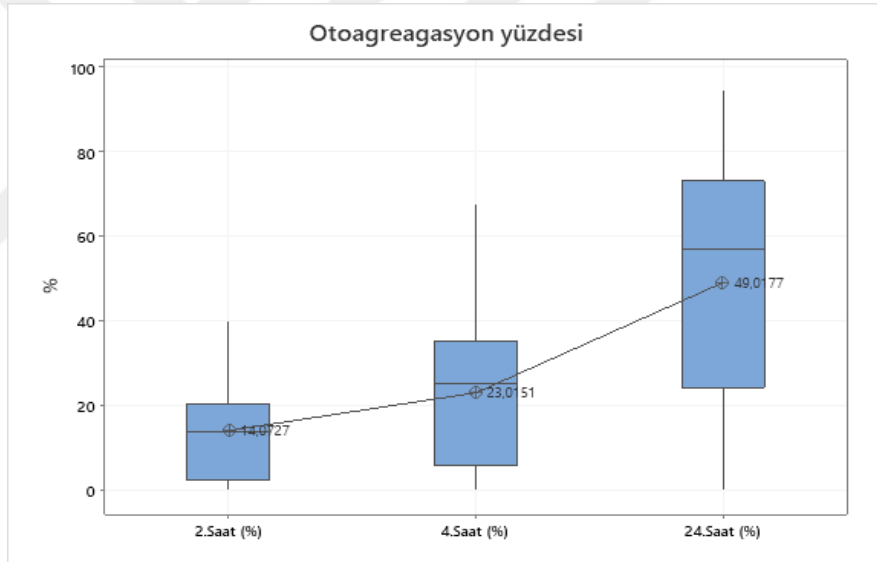
4.2. İzolatların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

4.2.1. İzolatların otoagregasyon özelliklerinin belirlenmesi

Yapılan analiz sonunda, % 60 ve üzeri sonuçlar başarılı olarak değerlendirilmiştir. 106 izolatın 46 tanesi başarılı sonuç göstermiştir. Sonuçlar Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.'te verilmiştir. Maya izolatlarının 24. Saatteki % otoagregasyon dağılımı Şekil 4.1.'de verilmiştir. % 60 ve üzeri aktivite gösteren izolatlar şekilde kırmızı çizginin üzerinde kalan izolatlardır. En yüksek sonucu % 94,31 ile Y54 kodlu izolat göstermiştir ve Şekil 4.1.'de maksimum değer kırmızı renk ile belirtilmiştir. 20 adet izolat % 0 olarak sonuç verirken, 40 adet izolat ise % 60'ın altında otoagregasyon aktivitesi göstermiştir. Şekil 4.2.'de maya izolatlarının 2, 4 ve 24 saat inkübasyon sonrası otoagregasyon sonuçlarının ortalamaları mukayese edilmiştir. Maya izolatlarının 2. Saatteki otoagregasyon oranı ortalama % 14 , 4. saatteki otoagregasyon oranı ortalama % 23, 24. saatteki otoagregasyon oranı ortalama % 49'dur.



Şekil 4.1. İzolatların 24. saatteki yüzde otoagregasyon aktiviteleri



Şekil 4.2. İzolatların 2 - 4 - 24. saatlerde yüzde otoagregasyon ortalaması

Tablo 4.3. İzolatların 2. saatteki ve 4. saatteki otoagregasyon aktivite sonuçları

Kod	% 2. Saat	% 4. saat	Kod	% 2. Saat	% 4. saat	Kod	% 2. Saat	% 4. saat	Kod	% 2. Saat	% 4. saat
1	08,70 ± 0,02	18,61 ± 0,28	27	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	53	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	79	12,83 ± 0,09	16,28 ± 0,11
2	12,59 ± 0,59	21,56 ± 0,05	28	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	54	00,43 ± 0,16	05,52 ± 0,05	80	02,84 ± 0,14	10,16 ± 0,18
3	14,70 ± 0,16	24,70 ± 0,01	29	15,97 ± 0,44	34,42 ± 0,27	55	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	81	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00
4	19,21 ± 0,29	29,01 ± 0,17	30	30,33 ± 0,05	48,97 ± 0,19	56	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	82	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00
5	22,20 ± 1,06	38,29 ± 0,01	31	16,73 ± 0,36	33,57 ± 0,25	57	15,19 ± 0,04	16,59 ± 0,03	83	31,72 ± 0,08	31,37 ± 0,05
6	17,03 ± 0,33	34,04 ± 0,36	32	28,25 ± 0,21	40,46 ± 0,09	58	35,97 ± 0,20	39,89 ± 5,02	84	22,44 ± 0,09	32,91 ± 0,09
7	23,40 ± 0,18	34,94 ± 0,10	33	15,97 ± 0,06	35,15 ± 0,03	59	05,27 ± 0,01	27,09 ± 0,19	85	19,54 ± 0,19	29,61 ± 0,14
8	17,49 ± 0,12	31,07 ± 0,10	34	21,75 ± 0,04	38,49 ± 0,07	60	20,73 ± 5,16	25,29 ± 5,17	86	39,94 ± 0,12	44,70 ± 0,22
9	37,62 ± 0,37	45,99 ± 0,32	35	20,20 ± 0,02	40,11 ± 0,08	61	05,64 ± 0,50	06,39 ± 0,23	87	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00
10	38,11 ± 0,55	54,19 ± 0,51	36	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	62	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	88	13,61 ± 0,89	20,22 ± 0,80
11	18,58 ± 0,07	35,50 ± 0,07	37	27,47 ± 0,17	44,70 ± 0,10	63	06,64 ± 0,00	07,72 ± 0,04	89	14,22 ± 0,15	25,05 ± 0,08
12	17,80 ± 0,07	29,66 ± 0,19	38	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	64	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	90	11,35 ± 0,35	21,93 ± 0,01
13	13,14 ± 0,15	22,88 ± 0,01	39	17,16 ± 0,32	33,48 ± 0,42	65	18,19 ± 0,32	38,24 ± 0,04	91	18,08 ± 0,20	39,12 ± 0,14
14	17,95 ± 0,01	34,76 ± 0,07	40	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	66	30,80 ± 0,10	40,90 ± 0,07	92	12,49 ± 0,38	28,42 ± 0,21
15	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	41	30,36 ± 0,02	56,83 ± 0,15	67	06,58 ± 0,05	08,87 ± 0,05	93	13,10 ± 0,37	28,28 ± 0,50
16	21,39 ± 0,27	34,26 ± 0,42	42	00,00 ± 0,00	04,10 ± 0,02	68	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	94	15,04 ± 0,11	27,46 ± 0,28
17	28,88 ± 0,05	42,27 ± 0,18	43	07,19 ± 0,23	11,41 ± 0,22	69	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	95	11,86 ± 0,27	23,76 ± 0,20
18	32,79 ± 0,00	46,83 ± 0,03	44	18,86 ± 0,03	33,37 ± 0,09	70	16,74 ± 0,09	21,49 ± 0,10	96	11,07 ± 0,22	24,72 ± 0,08
19	37,99 ± 0,01	49,37 ± 0,16	45	12,82 ± 0,02	31,00 ± 0,17	71	37,09 ± 0,04	41,75 ± 0,08	97	16,76 ± 0,21	34,26 ± 0,19
20	02,56 ± 0,00	04,95 ± 0,09	46	01,65 ± 0,17	04,88 ± 0,10	72	27,11 ± 0,05	38,39 ± 0,10	98	13,75 ± 0,01	30,03 ± 0,13
21	14,50 ± 1,04	33,14 ± 0,52	47	19,18 ± 0,04	23,50 ± 0,01	73	05,53 ± 0,04	07,40 ± 0,01	99	14,57 ± 0,06	28,34 ± 0,09
22	05,55 ± 0,18	12,11 ± 0,25	48	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	74	23,56 ± 0,04	32,33 ± 0,09	100	01,66 ± 0,10	09,63 ± 0,13
23	14,61 ± 0,55	30,80 ± 0,63	49	06,75 ± 0,09	25,33 ± 0,24	75	27,60 ± 0,85	42,13 ± 0,01	101	01,21 ± 0,17	02,74 ± 0,19
24	08,11 ± 0,22	17,52 ± 0,39	50	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	76	31,54 ± 0,29	43,67 ± 0,29	102	04,18 ± 0,05	13,55 ± 0,13
25	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	51	60,35 ± 0,03	67,70 ± 0,04	77	13,73 ± 0,05	38,57 ± 0,07	103	02,94 ± 0,04	04,56 ± 0,18
26	10,34 ± 0,17	22,25 ± 0,04	52	06,86 ± 0,39	07,21 ± 0,04	78	36,80 ± 0,45	41,86 ± 0,47	104	01,34 ± 0,05	03,78 ± 0,03
									105	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00
									106	06,95 ± 0,03	10,30 ± 0,11

Tablo 4.4. İzolatların 24. saatteki otoagregasyon aktivite sonuçları

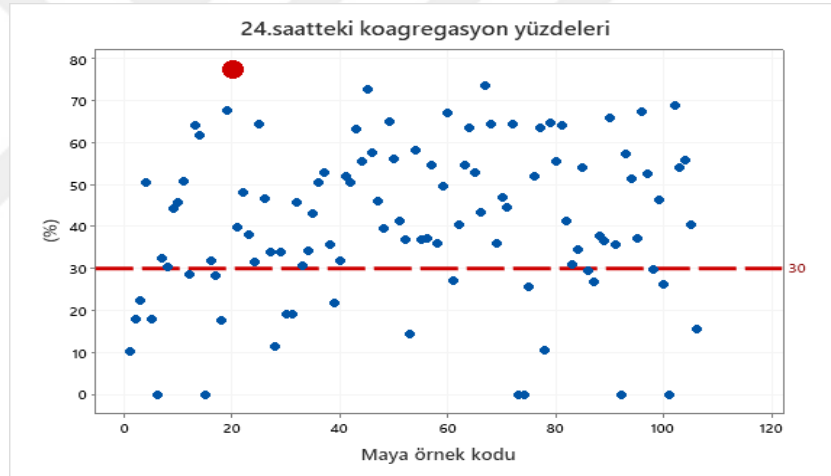
Kod	% 24.saat	Kod	% 24.saat	Kod	% 24.saat	Kod	% 24.saat	Kod	% 24.saat
1	38,65 ± 0,01	22	30,56 ± 0,09	43	89,23 ± 0,28	64	00,00 ± 0,00	85	61,29 ± 0,14
2	44,00 ± 0,20	23	61,54 ± 0,59	44	66,99 ± 0,05	65	85,21 ± 0,07	86	58,68 ± 0,07
3	52,20 ± 0,13	24	62,16 ± 0,50	45	69,33 ± 0,01	66	84,17 ± 0,04	87	00,00 ± 0,00
4	54,35 ± 0,07	25	00,00 ± 0,00	46	66,08 ± 0,07	67	31,16 ± 0,02	88	43,68 ± 0,77
5	83,76 ± 0,31	26	61,07 ± 0,57	47	21,83 ± 0,01	68	00,00 ± 0,00	89	58,90 ± 0,13
6	77,56 ± 0,31	27	00,00 ± 0,00	48	00,00 ± 0,00	69	00,00 ± 0,00	90	51,22 ± 0,04
7	63,25 ± 0,14	28	00,00 ± 0,00	49	82,29 ± 0,58	70	43,71 ± 0,03	91	76,94 ± 0,00
8	72,05 ± 0,09	29	86,38 ± 0,29	50	00,00 ± 0,00	71	51,74 ± 0,08	92	59,55 ± 1,47
9	14,00 ± 0,40	30	84,59 ± 0,09	51	84,39 ± 0,02	72	84,13 ± 0,11	93	65,30 ± 0,48
10	84,50 ± 0,48	31	71,96 ± 0,16	52	06,82 ± 0,05	73	31,98 ± 0,03	94	56,17 ± 0,25
11	81,83 ± 0,04	32	54,96 ± 0,16	53	00,00 ± 0,00	74	64,99 ± 0,01	95	48,96 ± 0,03
12	54,94 ± 0,08	33	73,39 ± 0,06	54	94,31 ± 0,08	75	85,03 ± 0,04	96	58,06 ± 0,17
13	73,37 ± 0,13	34	71,17 ± 0,01	55	00,00 ± 0,00	76	83,96 ± 0,29	97	72,82 ± 0,18
14	74,02 ± 0,06	35	78,58 ± 0,16	56	00,00 ± 0,00	77	57,78 ± 0,10	98	63,99 ± 0,03
15	00,00 ± 0,00	36	00,00 ± 0,00	57	24,31 ± 0,01	78	54,15 ± 0,41	99	60,00 ± 0,15
16	68,29 ± 0,25	37	83,61 ± 0,18	58	50,58 ± 0,01	79	42,89 ± 0,09	100	39,79 ± 0,07
17	70,36 ± 0,08	38	00,00 ± 0,00	59	49,24 ± 0,11	80	44,40 ± 0,10	101	18,47 ± 0,25
18	78,10 ± 0,01	39	79,27 ± 0,11	60	51,09 ± 5,13	81	00,00 ± 0,00	102	59,28 ± 0,09
19	75,87 ± 0,05	40	00,00 ± 0,00	61	19,97 ± 6,30	82	00,00 ± 0,00	103	32,93 ± 0,07
20	84,13 ± 0,00	41	72,82 ± 0,12	62	00,00 ± 0,00	83	41,01 ± 0,05	104	24,26 ± 0,44
21	87,81 ± 0,32	42	65,05 ± 0,00	63	27,74 ± 0,02	84	69,49 ± 0,06	105	00,00 ± 0,00
								106	55,44 ± 2,37

4.2.2. İzolatların koagregasyon aktivitelerinin belirlenmesi

Probiyotik mikroorganizmaların patojen bakterilerin kolonizasyonunu engellemesini sağlayıp sağlayamadığını değerlendirmek için (Önal- Darılmaz, 2010) yapılan analiz sonunda, % 30 ve üzeri sonuç veren maya izolatları başarılı kabul edilmiştir.

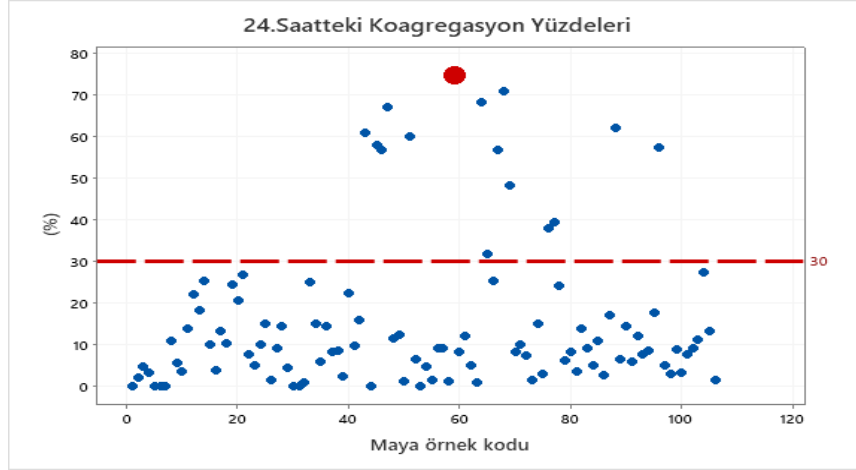
Tablo 4.5.'te maya izolatlarının *E. coli* ATCC 25922 , *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 25923, *S. Typhimurium* ATCC 14028 ile koagregasyon sonuçlarının 0 ve 24. saatlerdeki % değerleri verilmiştir.

Şekil 4.3.'te izolatların *E. coli* ATCC 25922 ile koagregasyon aktivitelerinin sonuçları verilmiştir. % 30 ve üzeri aktivite gösterenler, şekilde kırmızı çizgi üzerinde kalan izolatlardır.



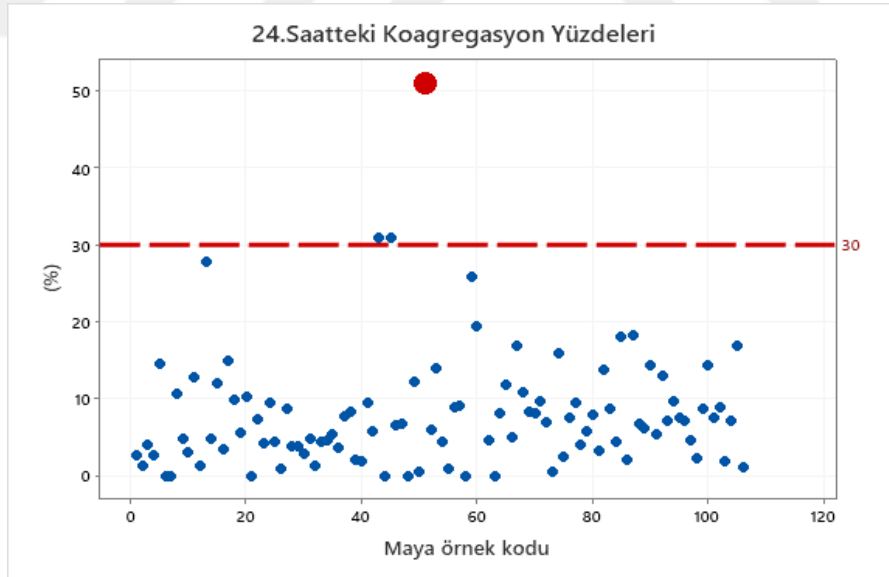
Şekil 4.3. İzolatların *E. coli* ATCC 25922 ile koagregasyon aktiviteleri

Şekil 4.4.'te ise izolatların *S. aureus* ATCC 25923 ile koagregasyon sonuçları verilmiştir. Şekilde kırmızı çizgi üzerinde kalan izolatlar; % 30 ve üzeri aktivite gösterenlerdir. İzolatların çoğu ortalama değer olan % 15,93'ün altında aktivite gösterirken, 15 tanesi % 30 ve üzeri aktivite göstermiştir. En yüksek sonucu % 74,97 ile Y59 kodlu maya izolatu göstermiştir.



Şekil 4.4. İzolatların *S.aureus* ATCC 25923 ile koagregasyon aktiviteleri

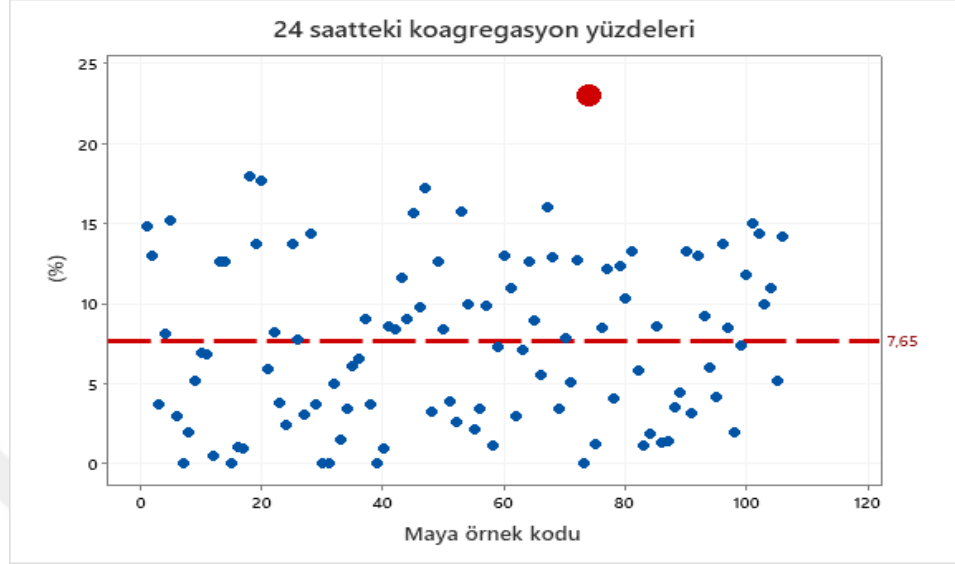
Şekil 4.5'te izolatların *L. monocytogenes* ATCC 7644 ile koagregasyon sonuçları verilmiştir. % 30 ve üzeri aktivite gösterenler, şekilde kırmızı çizgi üzerinde kalan izolatlardır. İzolatların çoğu ortalama değer olan % 8,04'ün altında aktivite gösterirken, yalnızca 3 adet maya izolatı (Y43, Y45, Y51) % 30 ve üzeri aktivite göstermiştir. En yüksek aktiviteyi % 51 ile Y51 kodlu maya izolatı göstermiştir.



Şekil 4.5. İzolatların *L. monocytogenes* ATCC 7644 ile koagregasyon aktiviteleri

Şekil 4.6.'da ise izolatların *S. Typhimurium* ATCC 14028 ile koagregasyon sonuçları verilmiştir. İzolatların hiçbiri % 30 ve üzerinde aktivite göstermemiştir. Maya

izolatlarının % 51'i ortalama değer olan % 7,65'in üzerinde sonuç gösterirken, en yüksek aktiviteyi % 23 aktivite ile Y74 kodlu maya izolatu göstermiştir.



şekil 4.6. İzolatların S. Typhimurium ATCC 14028 ile koagregasyon aktiviteleri

Tablo 4.5. İzolatların patojen mikroorganizmalarla koagregasyon sonuçları

<i>E. coli</i> ATCC 25922			<i>S. aureus</i> ATCC 25923			<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028		
Kod	0.saat % koagregasyon	24.saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24.saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24.saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24.saat % koagregasyon
1	00,00 ± 0,00	10,30 ± 0,02	1	00,00 ± 0,00	00,11 ± 0,01	1	01,23 ± 0,05	02,60 ± 0,00	1	02,65 ± 0,00	14,80 ± 0,01
2	00,00 ± 0,00	18,10 ± 0,11	2	03,65 ± 0,04	02,08 ± 0,01	2	05,28 ± 0,04	01,27 ± 0,04	2	02,47 ± 0,02	13,00 ± 0,07
3	06,47 ± 0,25	22,40 ± 0,31	3	00,56 ± 0,06	04,92 ± 0,09	3	02,45 ± 0,05	04,01 ± 0,04	3	01,95 ± 0,02	03,70 ± 0,08
4	11,10 ± 8,93	50,40 ± 0,21	4	01,79 ± 0,11	03,37 ± 0,05	4	03,78 ± 0,10	02,66 ± 0,05	4	03,42 ± 0,00	08,14 ± 0,07
5	14,50 ± 0,47	18,10 ± 0,07	5	01,39 ± 0,09	00,00 ± 0,00	5	03,43 ± 0,07	14,50 ± 0,16	5	03,57 ± 0,09	15,20 ± 0,24
6	12,50 ± 0,19	00,00 ± 0,00	6	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	6	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	6	01,21 ± 0,07	03,00 ± 0,08
7	03,91 ± 0,04	32,60 ± 0,24	7	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	7	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	7	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00
8	01,38 ± 0,11	30,30 ± 0,03	8	20,35 ± 0,05	11,00 ± 0,03	8	04,16 ± 0,04	10,60 ± 0,04	8	05,29 ± 0,09	02,01 ± 0,06
9	04,26 ± 0,29	44,30 ± 0,61	9	00,00 ± 0,00	05,57 ± 0,01	9	00,00 ± 0,00	40,83 ± 0,04	9	00,00 ± 0,00	05,15 ± 0,07
10	08,21 ± 0,27	45,80 ± 0,03	10	07,00 ± 0,01	03,72 ± 0,01	10	01,46 ± 0,01	03,04 ± 0,04	10	02,80 ± 0,03	06,93 ± 0,06
11	00,35 ± 0,02	50,70 ± 0,03	11	03,41 ± 0,08	13,78 ± 0,00	11	05,14 ± 0,08	12,82 ± 0,05	11	00,00 ± 0,00	06,83 ± 0,08
12	07,55 ± 0,31	28,70 ± 0,61	12	08,60 ± 0,03	22,12 ± 0,02	12	00,00 ± 0,00	01,30 ± 0,03	12	05,39 ± 0,07	00,46 ± 0,05
13	03,07 ± 0,46	64,20 ± 0,00	13	03,70 ± 0,16	18,32 ± 0,01	13	00,00 ± 0,00	27,76 ± 0,04	13	00,00 ± 0,00	12,60 ± 0,06
14	02,50 ± 0,01	61,70 ± 0,03	14	04,10 ± 0,01	25,40 ± 0,03	14	00,00 ± 0,00	04,83 ± 0,05	14	01,00 ± 0,04	12,60 ± 0,22
15	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	15	02,30 ± 0,08	10,00 ± 0,04	15	04,05 ± 0,07	12,00 ± 0,05	15	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00
16	00,00 ± 0,00	32,00 ± 0,12	16	00,05 ± 0,02	03,99 ± 0,30	16	02,42 ± 0,02	03,40 ± 0,07	16	01,00 ± 0,07	01,10 ± 0,27
17	12,90 ± 0,16	28,20 ± 0,06	17	03,00 ± 0,01	13,27 ± 0,03	17	01,86 ± 0,00	15,00 ± 0,04	17	00,00 ± 0,00	00,95 ± 0,27
18	05,87 ± 0,70	17,80 ± 0,02	18	02,70 ± 0,04	10,40 ± 0,02	18	00,00 ± 0,00	10,00 ± 0,03	18	03,51 ± 0,08	18,00 ± 0,26
19	05,06 ± 0,17	67,60 ± 0,01	19	00,91 ± 0,00	24,50 ± 0,02	19	03,13 ± 0,00	05,70 ± 0,04	19	04,50 ± 0,04	13,70 ± 0,32
20	04,51 ± 0,28	77,40 ± 0,04	20	11,00 ± 0,04	20,70 ± 0,02	20	00,94 ± 0,04	10,30 ± 0,04	20	00,00 ± 0,00	17,70 ± 0,25
21	06,66 ± 0,46	39,90 ± 2,36	21	04,00 ± 0,01	27,00 ± 0,03	21	01,77 ± 0,01	00,01 ± 0,03	21	02,67 ± 0,05	50,94 ± 0,26
22	06,44 ± 0,27	48,30 ± 0,09	22	04,09 ± 0,01	07,86 ± 0,12	22	05,82 ± 0,01	07,46 ± 0,04	22	01,55 ± 0,03	08,21 ± 0,23

Tablo 4.5. (Devamı)

<i>E.coli</i> ATCC 25922			<i>S. aureus</i> ATCC 25923			<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028		
Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon
23	09,93 ± 0,25	38,10 ± 0,01	23	00,00 ± 0,00	04,97 ± 0,05	23	00,96 ± 0,04	04,28 ± 0,03	23	02,88 ± 0,01	03,81 ± 0,31
24	00,00 ± 0,00	31,60 ± 0,05	24	00,00 ± 0,00	09,99 ± 0,03	24	00,00 ± 0,00	09,56 ± 0,04	24	02,61 ± 0,03	02,46 ± 0,25
25	01,72 ± 0,19	64,50 ± 0,02	25	06,49 ± 0,01	15,03 ± 0,03	25	07,94 ± 0,01	04,51 ± 0,03	25	02,26 ± 0,03	13,70 ± 0,22
26	00,00 ± 0,00	46,70 ± 0,02	26	00,00 ± 0,00	01,67 ± 0,03	26	00,26 ± 0,04	00,99 ± 0,03	26	01,77 ± 0,07	07,74 ± 0,24
27	06,29 ± 0,98	34,00 ± 0,38	27	00,00 ± 0,00	09,22 ± 0,04	27	02,07 ± 0,21	08,76 ± 0,04	27	03,94 ± 0,17	03,08 ± 0,26
28	00,00 ± 0,00	11,60 ± 0,03	28	02,00 ± 0,02	14,60 ± 0,01	28	02,10 ± 0,00	03,93 ± 0,04	28	04,35 ± 0,03	14,40 ± 0,27
29	07,16 ± 0,05	34,10 ± 0,03	29	00,12 ± 0,00	04,39 ± 0,06	29	02,04 ± 0,00	03,84 ± 0,04	29	01,60 ± 0,03	03,75 ± 0,22
30	06,32 ± 0,41	19,20 ± 0,08	30	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	30	00,15 ± 0,00	02,90 ± 0,04	30	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00
31	02,80 ± 0,05	19,20 ± 0,10	31	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	31	01,18 ± 0,01	04,90 ± 0,05	31	00,45 ± 0,04	00,00 ± 0,00
32	00,89 ± 0,14	45,90 ± 0,07	32	00,00 ± 0,00	00,83 ± 0,04	32	00,64 ± 0,05	01,30 ± 0,06	32	05,22 ± 0,02	05,02 ± 0,38
33	00,19 ± 0,18	30,70 ± 0,29	33	05,00 ± 0,04	25,02 ± 0,04	33	00,00 ± 0,00	04,35 ± 0,05	33	04,95 ± 0,01	01,53 ± 0,27
34	00,00 ± 0,00	34,20 ± 0,52	34	02,00 ± 0,00	15,20 ± 0,05	34	01,73 ± 0,00	04,68 ± 0,03	34	00,00 ± 0,00	03,42 ± 0,42
35	06,22 ± 0,12	43,20 ± 4,19	35	00,00 ± 0,00	06,03 ± 1,79	35	00,00 ± 0,00	05,51 ± 1,33	35	00,41 ± 0,07	06,10 ± 1,41
36	08,46 ± 0,05	50,60 ± 0,11	36	04,00 ± 0,04	14,41 ± 0,06	36	02,60 ± 0,03	03,59 ± 0,05	36	05,56 ± 0,06	06,58 ± 0,63
37	15,80 ± 0,07	53,00 ± 0,07	37	00,00 ± 0,00	08,36 ± 0,07	37	00,00 ± 0,00	07,80 ± 0,04	37	03,12 ± 0,03	09,03 ± 0,46
38	08,76 ± 0,33	35,60 ± 0,00	38	01,72 ± 0,13	08,61 ± 0,03	38	03,58 ± 0,11	08,39 ± 0,11	38	02,11 ± 0,13	03,72 ± 0,45
39	01,32 ± 0,33	21,90 ± 0,09	39	00,21 ± 0,03	02,52 ± 0,01	39	02,14 ± 0,02	02,08 ± 0,12	39	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00
40	10,66 ± 0,39	02,19 ± 0,60	40	05,80 ± 0,11	22,51 ± 0,01	40	00,00 ± 0,00	01,99 ± 0,17	40	02,60 ± 0,11	00,98 ± 0,53
41	00,25 ± 0,12	03,47 ± 0,49	41	03,37 ± 0,30	09,75 ± 0,04	41	05,13 ± 0,25	09,59 ± 0,14	41	05,40 ± 0,22	08,59 ± 0,45
42	05,86 ± 1,34	50,50 ± 0,13	42	04,00 ± 0,42	16,11 ± 0,05	42	00,00 ± 0,00	05,81 ± 0,11	42	02,93 ± 0,27	08,40 ± 0,47
43	00,46 ± 0,56	63,20 ± 0,25	43	09,00 ± 0,20	61,00 ± 0,03	43	01,90 ± 0,17	30,90 ± 0,16	43	03,78 ± 0,18	11,60 ± 0,54
44	00,53 ± 1,26	55,70 ± 0,61	44	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	44	01,30 ± 0,31	00,05 ± 0,17	44	03,81 ± 0,24	09,02 ± 0,59

Tablo 4.5. (Devamı)

<i>E.coli</i> ATCC 25922			<i>S. aureus</i> ATCC 25923			<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028		
Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon
45	07,42 ± 1,54	72,80 ± 0,05	45	13,16 ± 0,39	58,00 ± 0,02	45	04,97 ± 0,33	31,00 ± 0,13	45	00,00 ± 0,00	15,70 ± 0,43
46	03,25 ± 1,42	57,50 ± 0,01	46	02,30 ± 0,34	56,82 ± 0,05	46	00,18 ± 0,28	06,50 ± 0,16	46	00,26 ± 0,25	09,81 ± 0,54
47	01,34 ± 0,99	46,20 ± 0,01	47	24,10 ± 0,28	67,09 ± 0,01	47	00,00 ± 0,00	06,81 ± 0,13	47	02,76 ± 0,18	17,19 ± 0,42
48	08,30 ± 0,35	39,50 ± 0,08	48	05,90 ± 0,00	11,60 ± 0,14	48	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	48	01,67 ± 0,00	03,26 ± 0,58
49	02,15 ± 0,64	65,00 ± 0,13	49	02,14 ± 0,19	12,30 ± 0,07	49	03,91 ± 0,16	12,20 ± 0,12	49	08,12 ± 0,09	12,60 ± 0,54
50	02,50 ± 1,00	56,30 ± 0,03	50	00,00 ± 0,00	01,20 ± 0,02	50	00,40 ± 0,30	00,48 ± 0,21	50	00,00 ± 0,00	08,39 ± 0,65
51	07,53 ± 1,65	41,40 ± 0,06	51	12,20 ± 0,46	60,00 ± 0,01	51	10,66 ± 0,39	51,00 ± 0,16	51	05,93 ± 0,34	03,90 ± 0,58
52	04,27 ± 0,48	36,80 ± 0,04	52	00,00 ± 0,00	06,40 ± 0,00	52	00,25 ± 0,12	06,01 ± 0,16	52	04,17 ± 0,06	02,66 ± 0,55
53	00,77 ± 0,62	14,40 ± 0,09	53	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	53	01,07 ± 0,21	14,00 ± 0,18	53	05,10 ± 0,17	15,80 ± 0,60
54	02,10 ± 0,21	58,20 ± 0,03	54	03,51 ± 0,02	04,88 ± 0,01	54	05,37 ± 0,02	04,41 ± 0,16	54	02,96 ± 0,04	09,95 ± 0,55
55	00,33 ± 0,00	37,00 ± 0,38	55	00,00 ± 0,00	01,61 ± 0,01	55	00,00 ± 0,00	00,98 ± 0,18	55	01,40 ± 0,03	02,19 ± 0,60
56	15,60 ± 0,21	37,10 ± 0,02	56	00,00 ± 0,00	09,09 ± 0,03	56	00,00 ± 0,00	08,88 ± 0,14	56	06,33 ± 0,01	03,47 ± 0,49
57	06,82 ± 0,31	54,80 ± 0,01	57	02,72 ± 0,03	09,25 ± 0,01	57	04,41 ± 0,02	09,04 ± 0,12	57	05,97 ± 0,00	09,86 ± 0,44
58	08,07 ± 0,14	36,00 ± 0,18	58	00,27 ± 0,00	01,32 ± 7,40	58	02,54 ± 0,00	00,00 ± 0,00	58	01,60 ± 0,00	01,19 ± 0,67
59	07,06 ± 0,33	49,60 ± 0,01	59	25,00 ± 0,06	74,97 ± 5,29	59	12,84 ± 0,05	25,90 ± 0,11	59	04,10 ± 0,13	07,33 ± 0,55
60	00,17 ± 0,02	67,00 ± 0,04	60	01,20 ± 0,06	08,40 ± 0,02	60	01,10 ± 0,05	19,40 ± 0,14	60	02,90 ± 0,02	13,00 ± 0,55
61	00,00 ± 0,00	27,30 ± 0,13	61	02,00 ± 0,04	12,00 ± 0,02	61	00,24 ± 0,03	02,00 ± 0,17	61	03,60 ± 0,01	11,00 ± 0,48
62	01,16 ± 0,12	40,60 ± 0,15	62	00,54 ± 0,02	05,15 ± 0,00	62	02,76 ± 0,02	04,64 ± 0,19	62	03,64 ± 0,03	02,98 ± 0,63
63	15,00 ± 0,03	54,70 ± 0,19	63	00,60 ± 2,41	00,81 ± 0,02	63	00,00 ± 0,00	00,04 ± 0,23	63	02,48 ± 0,01	07,15 ± 0,71
64	05,65 ± 0,24	63,70 ± 0,15	64	12,41 ± 0,99	68,36 ± 0,00	64	02,23 ± 0,96	08,11 ± 0,13	64	03,18 ± 0,06	12,60 ± 0,45
65	06,09 ± 0,05	52,90 ± 0,08	65	00,20 ± 1,02	32,00 ± 0,05	65	00,00 ± 0,00	11,90 ± 0,16	65	02,25 ± 0,01	08,98 ± 0,42
66	03,03 ± 0,45	43,40 ± 0,00	66	01,20 ± 0,95	25,33 ± 0,00	66	01,10 ± 1,30	04,96 ± 0,15	66	05,10 ± 0,00	05,60 ± 0,48

Tablo 4.5. (Devamı)

<i>E.coli</i> ATCC 25922			<i>S. aureus</i> ATCC 25923			<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028		
Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon
67	07,15 ± 0,23	73,70 ± 0,06	67	05,00 ± 1,35	56,80 ± 0,06	67	04,00 ± 0,84	16,90 ± 0,12	67	00,28 ± 0,02	16,00 ± 0,43
68	05,13 ± 0,20	64,40 ± 0,32	68	21,53 ± 0,54	71,10 ± 0,06	68	01,40 ± 2,57	10,90 ± 0,12	68	04,57 ± 0,01	12,90 ± 0,48
69	14,90 ± 0,24	36,10 ± 0,03	69	02,30 ± 2,27	48,51 ± 0,02	69	02,10 ± 0,08	08,28 ± 0,14	69	02,77 ± 0,00	03,49 ± 0,46
70	04,72 ± 0,04	47,00 ± 0,00	70	02,22 ± 0,36	08,31 ± 0,05	70	02,05 ± 1,60	08,14 ± 0,11	70	04,93 ± 0,02	07,84 ± 0,38
71	01,87 ± 0,21	44,70 ± 0,03	71	05,20 ± 3,19	10,00 ± 0,07	71	04,70 ± 0,59	09,73 ± 0,17	71	02,09 ± 0,02	05,12 ± 0,57
72	00,25 ± 0,35	64,30 ± 0,03	72	02,60 ± 0,01	07,34 ± 0,08	72	02,40 ± 1,96	07,06 ± 0,12	72	02,71 ± 0,00	12,70 ± 0,18
73	13,90 ± 0,13	00,00 ± 0,00	73	01,36 ± 0,51	01,45 ± 0,04	73	01,25 ± 2,56	00,56 ± 0,17	73	04,44 ± 0,03	00,00 ± 0,00
74	15,80 ± 0,13	00,00 ± 0,00	74	02,20 ± 2,49	15,00 ± 0,16	74	02,00 ± 0,15	16,00 ± 0,27	74	02,74 ± 0,01	23,00 ± 0,26
75	00,00 ± 0,00	25,70 ± 0,07	75	00,70 ± 0,62	03,12 ± 0,03	75	00,60 ± 1,59	02,59 ± 0,17	75	02,78 ± 0,02	01,20 ± 0,18
76	03,57 ± 0,37	52,00 ± 0,04	76	02,40 ± 1,28	37,93 ± 0,00	76	02,20 ± 1,07	07,61 ± 0,14	76	01,74 ± 0,00	08,53 ± 0,16
77	10,70 ± 0,20	63,60 ± 3,07	77	12,97 ± 0,50	39,65 ± 0,00	77	02,73 ± 2,42	09,47 ± 0,12	77	03,21 ± 0,03	12,20 ± 0,12
78	13,90 ± 0,06	10,70 ± 0,11	78	11,40 ± 0,02	24,32 ± 0,05	78	00,40 ± 2,21	03,97 ± 0,11	78	02,10 ± 0,01	04,10 ± 0,17
79	06,19 ± 0,00	64,80 ± 0,26	79	02,20 ± 0,61	06,28 ± 0,04	79	02,00 ± 1,72	05,85 ± 0,14	79	05,10 ± 0,03	12,40 ± 0,20
80	07,84 ± 0,42	55,50 ± 0,01	80	03,60 ± 4,07	08,29 ± 0,01	80	03,30 ± 1,60	08,05 ± 0,14	80	03,63 ± 0,01	10,30 ± 0,11
81	10,00 ± 0,27	64,00 ± 0,02	81	01,53 ± 0,42	03,61 ± 0,04	81	01,41 ± 1,61	03,26 ± 0,11	81	00,00 ± 0,00	13,30 ± 0,13
82	16,30 ± 0,01	41,50 ± 0,08	82	01,58 ± 1,02	13,80 ± 0,04	82	01,46 ± 1,00	13,80 ± 0,13	82	05,13 ± 0,04	05,87 ± 0,12
83	04,08 ± 0,08	31,00 ± 0,05	83	03,40 ± 3,58	09,05 ± 0,04	83	00,00 ± 0,00	08,82 ± 0,16	83	04,28 ± 0,02	01,11 ± 0,15
84	00,00 ± 0,00	34,70 ± 0,12	84	00,40 ± 2,13	04,93 ± 0,02	84	00,00 ± 0,00	04,42 ± 0,16	84	02,84 ± 0,04	01,89 ± 0,19
85	07,00 ± 0,10	54,20 ± 0,00	85	02,33 ± 0,96	11,00 ± 0,01	85	02,15 ± 1,00	18,00 ± 0,19	85	02,85 ± 0,03	08,56 ± 0,17
86	03,81 ± 0,26	29,60 ± 0,00	86	00,40 ± 0,51	02,70 ± 0,05	86	00,00 ± 0,00	02,06 ± 0,20	86	00,52 ± 0,05	01,30 ± 0,21
87	00,00 ± 0,00	27,00 ± 0,01	87	04,10 ± 1,35	17,20 ± 0,06	87	03,70 ± 1,15	18,20 ± 0,17	87	00,00 ± 0,00	01,40 ± 0,20
88	03,27 ± 0,46	37,70 ± 0,47	88	22,10 ± 2,26	62,17 ± 0,08	88	02,00 ± 0,06	06,74 ± 0,16	88	00,00 ± 0,00	03,57 ± 0,15

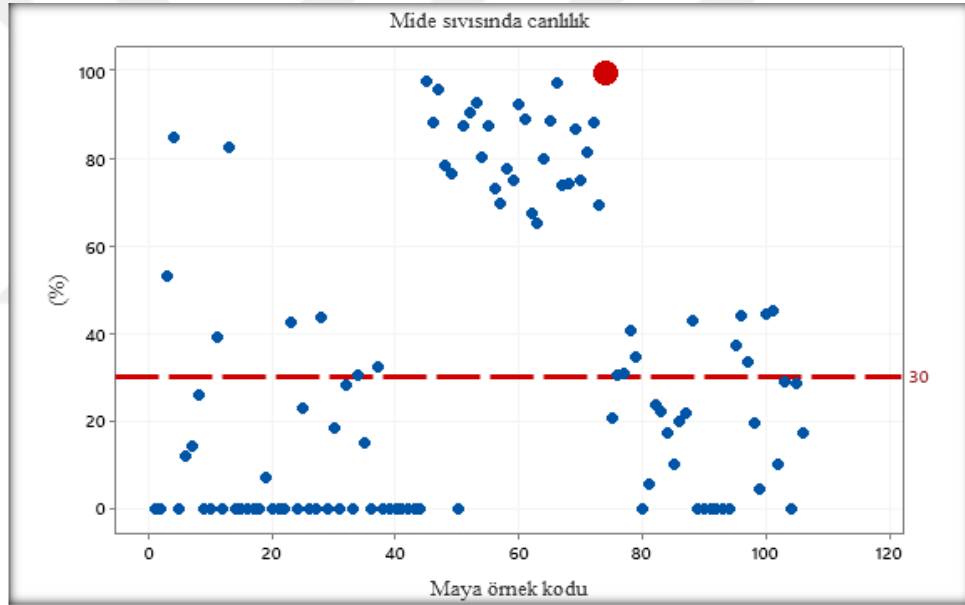
Tablo 4.5. (Devamı)

<i>E.coli</i> ATCC 25922			<i>S. aureus</i> ATCC 25923			<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644			<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028		
Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon	Kod	0.saat % koagregasyon	24. saat % koagregasyon
89	02,16 ± 0,74	36,70 ± 0,22	89	02,30 ± 0,45	06,46 ± 0,06	89	02,10 ± 2,41	06,24 ± 0,13	89	02,27 ± 0,08	04,45 ± 0,11
90	08,77 ± 0,05	66,00 ± 0,36	90	00,00 ± 0,00	14,40 ± 0,02	90	03,20 ± 0,62	14,40 ± 0,14	90	02,87 ± 0,04	13,30 ± 0,17
91	00,00 ± 0,00	35,80 ± 0,54	91	00,00 ± 0,00	05,93 ± 0,07	91	01,70 ± 1,53	05,45 ± 0,13	91	01,85 ± 0,02	03,15 ± 0,18
92	03,05 ± 0,64	00,00 ± 0,00	92	00,77 ± 1,85	12,00 ± 0,05	92	00,70 ± 3,92	13,00 ± 0,23	92	00,33 ± 0,07	13,00 ± 0,24
93	17,80 ± 0,11	57,30 ± 0,25	93	02,30 ± 0,36	07,69 ± 0,00	93	02,10 ± 1,98	07,25 ± 0,18	93	03,00 ± 0,02	09,23 ± 0,22
94	14,00 ± 0,18	51,50 ± 0,39	94	01,29 ± 0,28	08,50 ± 0,27	94	01,18 ± 1,76	09,80 ± 0,13	94	02,40 ± 0,00	05,98 ± 0,30
95	10,30 ± 0,78	37,20 ± 0,16	95	02,27 ± 2,14	17,75 ± 0,17	95	02,08 ± 4,10	07,61 ± 0,11	95	03,74 ± 0,03	04,16 ± 0,18
96	20,00 ± 0,46	67,50 ± 0,28	96	22,80 ± 0,07	57,62 ± 0,07	96	02,50 ± 2,30	07,23 ± 0,16	96	03,50 ± 0,02	13,70 ± 0,03
97	08,55 ± 0,19	52,60 ± 0,32	97	00,80 ± 0,19	05,18 ± 0,19	97	00,00 ± 0,00	04,55 ± 0,16	97	00,30 ± 0,01	08,47 ± 0,03
98	15,50 ± 0,02	29,70 ± 0,14	98	02,03 ± 0,13	02,87 ± 0,16	98	01,87 ± 2,12	02,28 ± 0,14	98	01,90 ± 0,01	01,94 ± 0,02
99	15,70 ± 0,12	46,30 ± 0,22	99	00,70 ± 2,03	08,87 ± 0,01	99	00,60 ± 0,17	08,64 ± 0,13	99	02,42 ± 0,01	07,37 ± 0,03
100	00,00 ± 0,00	26,40 ± 0,14	100	04,40 ± 1,51	03,40 ± 0,11	100	04,00 ± 1,01	14,40 ± 0,15	100	02,40 ± 0,00	11,80 ± 0,06
101	01,74 ± 0,19	00,00 ± 0,00	101	00,86 ± 0,56	07,80 ± 0,07	101	00,79 ± 2,65	07,53 ± 0,16	101	01,29 ± 0,04	15,00 ± 0,04
102	12,90 ± 0,00	69,00 ± 0,23	102	00,70 ± 0,17	09,08 ± 0,02	102	00,00 ± 0,00	08,86 ± 0,15	102	00,70 ± 0,02	14,40 ± 0,02
103	15,10 ± 0,22	54,20 ± 0,00	103	01,60 ± 2,44	11,30 ± 0,06	103	01,50 ± 0,14	01,85 ± 0,11	103	02,50 ± 0,00	10,00 ± 0,05
104	02,22 ± 0,14	55,90 ± 0,04	104	01,86 ± 0,68	27,48 ± 0,00	104	01,71 ± 1,31	07,24 ± 0,11	104	00,10 ± 0,01	11,00 ± 0,02
105	08,28 ± 0,06	40,40 ± 0,42	105	03,00 ± 3,80	13,39 ± 0,06	105	02,70 ± 1,39	17,00 ± 0,14	105	02,50 ± 0,00	05,19 ± 0,02
106	00,00 ± 0,00	15,50 ± 0,30	106	00,00 ± 0,00	01,65 ± 0,08	106	00,19 ± 0,05	01,08 ± 0,10	106	05,00 ± 0,01	14,20 ± 0,14

4.2.3. İzolatların gastrointestinal koşullarda hayatta kalma becerisinin taranması

4.2.3.1. İzolatların mide sıvısı ortamında hayatta kalma becerisinin taranması

Mide şartlarında % 30 ve üzeri sağ kalım gösteren izolatlar başarılı olarak değerlendirilmiştir. 106 izolattan 47 tanesi başarılı sonuç göstermiştir. Sonuçlar Tablo 4.6.'da verilmiştir. Şekil 4.7.'de maya izolatlarının mide suyu simülasyonunda hayatta kalma oranlarının yüzde dağılımları verilmiştir. Şekilde kırmızı çizgi üzerinde kalan izolatlar; % 30 ve üzeri hayatta kalma oranı gösterenlerdir.



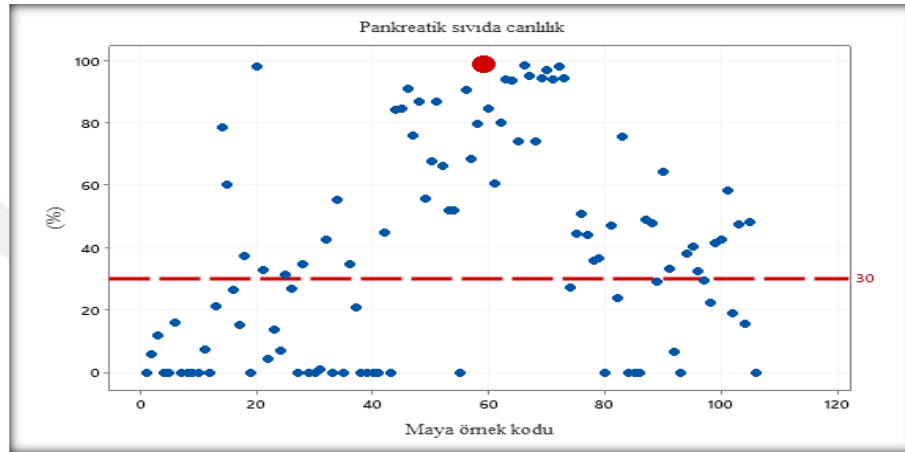
Şekil 4.7. İzolatların mide sıvısı ortamında hayatta kalma oranı

Tablo 4.6. İzolatlarının mide sıvısında hayatta kalma yüzde sonuçları

Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık
1	00,00 ± 0,00	28	43,64 ± 0,32	55	87,21 ± 0,07	82	23,71 ± 0,08
2	00,00 ± 0,00	29	00,00 ± 0,00	56	73,07 ± 0,07	83	22,21 ± 0,10
3	53,16 ± 0,13	30	18,27 ± 0,03	57	69,54 ± 0,04	84	17,32 ± 0,02
4	84,85 ± 0,24	31	00,00 ± 0,00	58	77,66 ± 0,07	85	10,05 ± 0,00
5	00,00 ± 0,00	32	28,01 ± 0,07	59	74,90 ± 0,02	86	19,79 ± 0,01
6	11,79 ± 0,03	33	00,00 ± 0,00	60	92,11 ± 0,29	87	21,58 ± 0,02
7	14,15 ± 0,10	34	30,61 ± 0,04	61	88,99 ± 0,11	88	42,81 ± 0,04
8	26,10 ± 0,03	35	15,04 ± 0,05	62	67,30 ± 0,11	89	00,00 ± 0,00
9	00,00 ± 0,00	36	00,00 ± 0,00	63	65,13 ± 0,11	90	00,00 ± 0,00
10	00,00 ± 0,00	37	32,18 ± 0,01	64	79,93 ± 0,06	91	00,00 ± 0,00
11	38,95 ± 0,22	38	00,00 ± 0,00	65	88,68 ± 0,14	92	00,00 ± 0,00
12	00,00 ± 0,00	39	00,00 ± 0,00	66	97,14 ± 0,28	93	00,00 ± 0,00
13	82,34 ± 0,13	40	00,00 ± 0,00	67	73,81 ± 0,09	94	00,00 ± 0,00
14	00,00 ± 0,00	41	00,00 ± 0,00	68	74,17 ± 0,00	95	37,36 ± 0,14
15	00,00 ± 0,00	42	00,00 ± 0,00	69	86,58 ± 0,25	96	44,15 ± 0,04
16	00,00 ± 0,00	43	00,00 ± 0,00	70	75,09 ± 0,34	97	33,57 ± 0,13
17	00,00 ± 0,00	44	00,00 ± 0,00	71	81,24 ± 0,19	98	19,52 ± 0,15
18	00,00 ± 0,00	45	97,43 ± 0,15	72	88,24 ± 0,18	99	4,536 ± 0,12
19	07,06 ± 0,09	46	88,09 ± 0,12	73	69,25 ± 0,11	100	44,42 ± 0,07
20	00,00 ± 0,00	47	95,79 ± 0,47	74	99,35 ± 0,09	101	45,26 ± 0,25
21	00,00 ± 0,00	48	78,27 ± 0,55	75	20,73 ± 0,26	102	10,14 ± 0,75
22	00,00 ± 0,00	49	76,58 ± 0,04	76	30,54 ± 0,06	103	28,83 ± 0,46
23	42,60 ± 0,07	50	00,00 ± 0,00	77	30,83 ± 0,09	104	00,00 ± 0,00
24	00,00 ± 0,00	51	87,51 ± 0,04	78	40,44 ± 0,01	105	28,49 ± 0,05
25	22,87 ± 0,13	52	90,30 ± 0,30	79	34,49 ± 0,09	106	17,27 ± 0,29
26	00,00 ± 0,00	53	92,62 ± 05,9	80	00,00 ± 0,00		
27	00,00 ± 0,00	54	80,26 ± 0,32	81	05,56 ± 0,01		

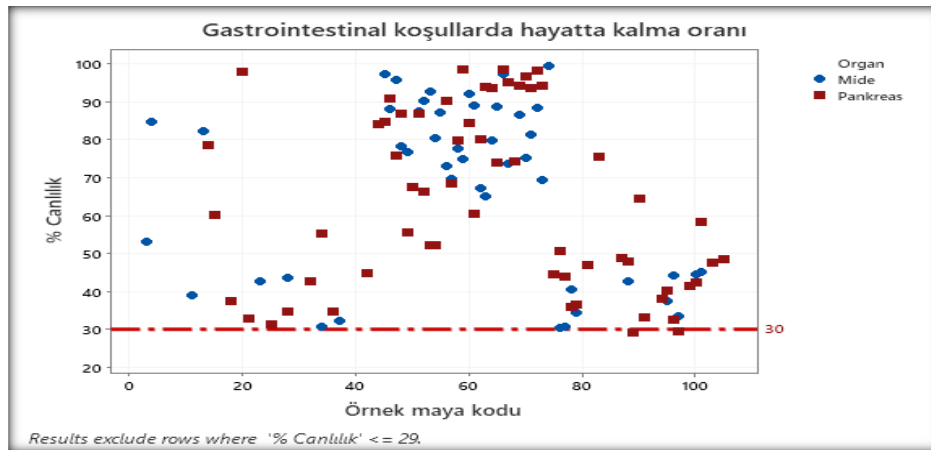
4.2.3.2. İzolatlarının pankreatik sıvı ortamında hayatta kalma becerisinin taranması

Yapılan analizler sonucunda, % 30 ve üzeri sonuçlar başarılı olarak değerlendirilmiştir. 106 izolatın 58 tanesi başarılı sonuç göstermiştir. Sonuçlar Tablo 4.7.'de verilmiştir. Şekil 4.8.'de maya izolatlarının pankreatik sıvı simülasyonunda hayatta kalma oranlarının yüzde dağılımları verilmiştir.



Şekil 4.8. İzolatların pankreatik sıvı ortamında hayatta kalma oranı

Şekil 4.9.'da her iki sindirim simülasyonunda da yüksek aktivite göstererek başarılı olarak değerlendirilen izolatların dağılımı gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Mide suyu simülasyonu ve pankreatik sıvı simülasyonunun her ikisinde de yüksek aktivite gösteren izolatlar

Tablo 4.7. İzolatlarının pankreatik sindirimde hayatta kalma yüzde sonuçları

Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık
1	00,00 ± 0,00	29	00,00 ± 0,00	57	68,54 ± 0,08	85	00,00 ± 0,00
2	06,04 ± 6,06	30	00,00 ± 0,00	58	79,74 ± 0,03	86	00,00 ± 0,00
3	11,89 ± 0,04	31	00,92 ± 0,12	59	98,62 ± 0,07	88	47,91 ± 0,23
4	00,00 ± 0,00	32	42,74 ± 0,05	60	84,36 ± 0,02	89	29,03 ± 1,09
5	00,00 ± 0,00	33	00,00 ± 0,00	61	60,49 ± 0,01	90	64,34 ± 0,04
6	16,15 ± 0,28	34	55,29 ± 1,13	62	80,01 ± 0,07	91	33,20 ± 0,06
7	00,00 ± 0,00	35	00,00 ± 0,00	63	93,86 ± 0,24	92	06,48 ± 0,27
8	00,00 ± 0,00	36	34,80 ± 0,43	64	93,65 ± 0,12	93	00,00 ± 0,00
9	00,00 ± 0,00	37	20,81 ± 0,08	65	74,09 ± 0,03	94	38,16 ± 0,24
10	00,00 ± 0,00	38	00,00 ± 0,00	66	98,52 ± 0,07	95	40,27 ± 0,22
11	07,47 ± 0,14	39	00,00 ± 0,00	67	95,08 ± 0,17	96	32,44 ± 0,12
12	00,00 ± 0,00	40	00,00 ± 0,00	68	74,19 ± 0,13	97	29,51 ± 0,27
13	21,07 ± 0,13	41	00,00 ± 0,00	69	94,25 ± 0,29	98	22,51 ± 0,27
14	78,62 ± 0,89	42	44,72 ± 0,29	70	96,79 ± 0,09	99	41,41 ± 0,11
15	60,29 ± 0,04	43	00,00 ± 0,00	71	93,70 ± 0,01	100	42,39 ± 0,76
16	26,34 ± 0,01	44	84,20 ± 0,09	72	98,15 ± 0,18	101	58,32 ± 0,19
17	15,30 ± 0,01	45	84,60 ± 0,11	73	94,10 ± 0,17	102	18,90 ± 0,02
18	37,42 ± 0,04	46	90,90 ± 0,15	74	27,17 ± 0,07	103	47,53 ± 1,73
19	00,00 ± 0,00	47	75,80 ± 0,30	75	44,43 ± 0,04	104	15,73 ± 0,22
20	97,84 ± 0,02	48	86,75 ± 0,01	76	50,78 ± 0,01	105	48,36 ± 0,25
21	32,84 ± 0,16	49	55,70 ± 0,02	77	43,89 ± 0,11	106	00,00 ± 0,00
22	04,33 ± 0,40	50	67,50 ± 0,14	78	35,95 ± 0,02		
23	13,87 ± 0,20	51	86,71 ± 0,07	79	36,50 ± 0,37		
24	07,01 ± 0,03	52	66,20 ± 0,13	80	00,00 ± 0,00		
25	31,40 ± 0,09	53	52,09 ± 0,00	81	46,91 ± 0,16		
26	26,85 ± 0,02	54	52,09 ± 0,00	82	23,71 ± 0,08		
27	00,00 ± 0,00	55	00,00 ± 0,00	83	75,39 ± 0,18		
28	34,85 ± 0,10	56	90,37 ± 0,03	84	00,00 ± 0,00		

4.2.4. İzolatlarının hemolitik aktivilerinin belirlenmesi

% 5 defibrin koyun kanı içeren kanlı agar plaklara çizilen maya izolatlarının 37°C’de 48 saat inkübasyonundan sonra zon oluşumları gözlemlendiğinde; β - hemoliz (koloni etrafındaki açık renkli zonlar), α -hemoliz (koloni etrafındaki yeşil zon), gama-hemoliz (zon yok) belirtileri açısından değerlendirilmiştir. Zon oluşturmayan izolatlar (gama-hemoliz) olarak değerlendirilmiştir. 106 izolattan 75 tanesi hemolitik aktivite göstermemiştir. Sonuçlar Tablo 4.8.’de verilmiştir.

Tablo 4.8. İzolatlara ait hemolitik aktivite sonuçları

Hemoliz		Hemoliz		Hemoliz		Hemoliz		Hemoliz	
Kod	türü	Kod	türü	Kod	türü	Kod	türü	Kod	türü
1	β	21	γ	41	γ	63	γ	85	γ
2	β	22	γ	42	γ	64	γ	86	γ
3	β	23	β	43	β	65	γ	87	γ
4	β	24	γ	44	γ	66	γ	88	γ
5	β	25	γ	45	γ	67	γ	89	γ
6	β	26	β	46	γ	68	γ	90	γ
7	β	27	β	47	γ	69	γ	91	γ
8	β	28	β	48	γ	70	γ	92	β
9	β	29	β	49	β	71	γ	93	β
10	β	30	β	50	γ	72	γ	94	γ
11	β	31	γ	51	γ	73	γ	95	γ
12	β	32	β	52	β	74	γ	96	γ
13	γ	33	γ	53	γ	75	γ	97	γ
14	γ	34	γ	54	γ	76	γ	98	γ
15	γ	35	γ	55	γ	77	γ	99	γ
16	β	36	γ	56	γ	78	γ	100	γ
17	γ	37	β	57	β	79	γ	101	β
18	γ	38	γ	58	γ	80	γ	102	γ
19	β	39	γ	59	γ	81	γ	103	γ
20	γ	40	β	60	β	82	γ	104	β
				61	γ	83	γ	105	β
				62	β	84	γ	106	γ

4.2.5. İzolatların patojen bakteriler karşısında etkinliklerinin belirlenmesi

Müller-Hinton Agar'da aktive edilen patojenlere disk difüzyon yöntemiyle emdirilen mayalar 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonraki zon oluşumu başarılı sonuç olarak değerlendirilmiştir. 106 izolatın 86 tanesi, tüm patojen bakterilere etki etmiştir. Sonuçlar Tablo 4.9.'da verilmiştir.

Tablo 4.9. İzolatlarının patojen bakterilere karşı inhibisyon etkileri

Kod	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>L. monocytogenes</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. Typhimurium</i> (mm)
1	15,00 ± 1,00	09,50 ± 2,50	09,50 ± 1,50	11,00 ± 1,00
2	13,00 ± 1,00	08,50 ± 2,50	11,50 ± 1,50	11,00 ± 2,00
3	15,00 ± 0,00	10,00 ± 3,00	13,00 ± 2,00	13,75 ± 2,20
4	12,00 ± 2,00	08,50 ± 2,50	10,00 ± 10,0	10,50 ± 0,50
5	09,00 ± 9,00	10,25 ± 4,20	11,00 ± 4,00	12,00 ± 2,00
6	05,50 ± 5,50	07,50 ± 7,50	17,00 ± 5,00	13,00 ± 4,00
7	13,50 ± 1,50	06,00 ± 6,00	11,50 ± 3,50	05,25 ± 5,20
8	08,75 ± 8,70	00,00 ± 0,00	06,50 ± 6,50	12,50 ± 4,50
9	19,50 ± 2,50	06,00 ± 6,00	10,50 ± 0,50	04,50 ± 4,50
10	10,25 ± 0,20	10,50 ± 0,50	12,75 ± 1,20	12,50 ± 1,50
11	10,50 ± 2,50	10,00 ± 3,00	08,00 ± 1,00	12,25 ± 4,70
12	10,50 ± 0,50	07,00 ± 1,00	07,00 ± 5,00	06,50 ± 6,50
13	14,75 ± 0,20	10,50 ± 0,50	10,50 ± 0,50	10,25 ± 0,70
14	09,50 ± 0,50	10,50 ± 0,50	12,75 ± 0,20	06,00 ± 6,00
15	06,75 ± 6,70	11,00 ± 1,00	12,50 ± 1,50	12,50 ± 2,50
16	14,00 ± 4,00	03,50 ± 3,50	11,50 ± 0,50	11,50 ± 1,50
17	11,25 ± 0,20	06,00 ± 6,00	09,00 ± 1,00	12,25 ± 2,70
18	07,50 ± 7,50	00,00 ± 0,00	11,00 ± 0,00	10,50 ± 0,50
19	13,00 ± 2,00	05,50 ± 5,50	12,75 ± 1,20	10,25 ± 0,20
20	06,25 ± 6,20	00,00 ± 0,00	06,00 ± 6,00	09,75 ± 0,20
21	00,00 ± 0,00	09,50 ± 3,50	00,00 ± 0,00	09,75 ± 0,70
22	11,00 ± 0,00	09,00 ± 2,00	04,50 ± 4,50	04,50 ± 4,50
23	10,25 ± 0,70	12,50 ± 2,50	06,00 ± 6,00	07,00 ± 7,00
24	14,50 ± 0,50	12,00 ± 0,00	07,50 ± 7,50	05,50 ± 5,50
25	14,00 ± 2,00	09,00 ± 4,00	15,25 ± 1,20	12,00 ± 0,00
26	09,00 ± 9,00	12,50 ± 3,50	10,00 ± 0,00	12,25 ± 2,70
27	12,50 ± 0,50	10,50 ± 0,50	11,50 ± 2,50	11,50 ± 0,50

Tablo 4.9. (Devamı)

Kod	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>L. monocytogenes</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. Typhimurium</i> (mm)
28	13,75 ± 2,20	11,00 ± 1,00	11,25 ± 0,20	10,50 ± 2,50
29	06,50 ± 6,50	3,00 ± 3,00	14,25 ± 1,20	11,50 ± 1,50
30	06,75 ± 6,70	14,00 ± 1,00	11,00 ± 1,00	10,50 ± 0,50
31	00,00 ± 0,00	04,00 ± 4,00	07,00 ± 7,00	11,25 ± 0,70
32	08,00 ± 8,00	11,50 ± 0,50	12,25 ± 1,20	12,50 ± 1,50
33	10,75 ± 1,20	06,00 ± 6,00	16,75 ± 4,70	06,00 ± 6,00
34	13,25 ± 1,20	05,50 ± 5,50	10,25 ± 0,20	13,00 ± 3,00
35	12,00 ± 0,00	13,50 ± 1,50	10,50 ± 4,50	05,00 ± 5,00
36	14,00 ± 2,00	10,75 ± 0,20	04,50 ± 4,50	05,00 ± 5,00
37	14,25 ± 3,20	13,00 ± 1,00	11,75 ± 0,20	10,75 ± 0,20
38	06,75 ± 6,70	13,50 ± 1,50	22,00 ± 5,00	09,50 ± 1,50
39	17,00 ± 3,00	13,50 ± 0,50	11,75 ± 1,70	08,50 ± 1,50
40	12,75 ± 2,20	00,00 ± 0,00	10,00 ± 1,00	11,50 ± 0,50
41	14,00 ± 1,00	00,00 ± 0,00	06,00 ± 6,00	09,75 ± 0,70
42	06,00 ± 6,00	40,00 ± 4,00	11,00 ± 3,00	10,00 ± 1,00
43	04,50 ± 0,45	14,00 ± 2,00	10,00 ± 3,00	06,50 ± 6,50
44	13,50 ± 2,50	10,50 ± 0,50	07,50 ± 7,50	03,00 ± 3,00
45	17,50 ± 5,50	11,00 ± 1,00	13,75 ± 0,70	12,00 ± 0,00
46	16,00 ± 2,00	09,00 ± 0,00	14,00 ± 2,00	07,00 ± 7,00
47	06,00 ± 6,00	11,00 ± 4,00	10,75 ± 0,20	07,50 ± 7,50
48	16,50 ± 4,50	11,00 ± 6,00	14,25 ± 4,20	05,25 ± 5,20
49	14,75 ± 1,20	11,50 ± 0,50	12,00 ± 4,00	13,00 ± 1,00
50	07,50 ± 7,50	06,50 ± 6,50	11,50 ± 0,50	11,50 ± 0,50
51	14,25 ± 1,20	06,50 ± 6,50	11,25 ± 2,20	05,50 ± 4,50
52	05,50 ± 5,50	10,50 ± 1,50	11,25 ± 0,70	06,50 ± 6,50
53	14,25 ± 1,20	10,50 ± 0,50	11,25 ± 3,20	10,00 ± 0,00
54	06,75 ± 6,70	00,00 ± 0,00	11,75 ± 2,20	12,50 ± 2,00
55	14,00 ± 2,00	00,00 ± 0,00	11,50 ± 0,50	11,50 ± 0,50
56	05,00 ± 5,00	00,00 ± 0,00	06,50 ± 6,50	11,75 ± 1,20
57	05,25 ± 5,20	00,00 ± 0,00	12,00 ± 0,00	09,75 ± 8,70
58	00,00 ± 0,00	03,50 ± 3,50	07,50 ± 7,50	11,50 ± 4,50
59	07,00 ± 7,00	13,75 ± 1,70	07,25 ± 7,20	11,50 ± 0,50
60	06,00 ± 6,00	10,50 ± 0,50	12,25 ± 0,20	16,25 ± 2,70
61	00,00 ± 0,00	11,00 ± 0,00	13,00 ± 3,00	05,50 ± 5,50
62	005,5 ± 5,50	03,50 ± 2,50	14,00 ± 3,00	06,00 ± 6,00

Tablo 4.9. (Devamı)

Kod	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>L. monocytogenes</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. Typhimurium</i> (mm)
63	13,25 ± 2,70	00,50 ± 0,50	09,00 ± 4,00	03,50 ± 3,50
64	00,00 ± 0,00	06,00 ± 6,00	04,50 ± 4,50	10,50 ± 1,50
65	08,50 ± 8,50	02,25 ± 0,70	04,25 ± 1,20	04,50 ± 4,50
66	14,00 ± 2,00	00,00 ± 0,00	08,25 ± 8,20	06,00 ± 6,00
67	07,50 ± 7,50	07,00 ± 5,00	10,25 ± 1,70	05,50 ± 5,50
68	18,75 ± 3,20	15,00 ± 4,00	19,00 ± 2,00	10,00 ± 0,00
69	13,75 ± 1,70	08,00 ± 5,00	10,75 ± 0,20	10,75 ± 0,20
70	14,25 ± 1,20	13,00 ± 1,00	12,75 ± 3,20	11,00 ± 3,00
71	11,50 ± 1,50	13,00 ± 3,00	13,75 ± 0,70	08,00 ± 1,00
72	10,75 ± 0,20	00,00 ± 0,00	12,00 ± 2,00	10,50 ± 0,50
73	12,50 ± 0,50	08,00 ± 0,00	13,75 ± 3,20	12,00 ± 0,00
74	11,50 ± 3,50	14,50 ± 1,50	06,00 ± 6,00	12,00 ± 1,00
75	14,00 ± 1,00	16,00 ± 1,00	10,00 ± 1,00	11,00 ± 0,00
76	11,50 ± 1,50	09,00 ± 2,00	14,50 ± 2,50	12,25 ± 0,70
77	06,75 ± 6,70	00,00 ± 0,00	13,00 ± 3,00	13,50 ± 1,50
78	11,25 ± 0,70	04,50 ± 4,50	13,75 ± 3,20	12,00 ± 0,00
79	18,00 ± 3,00	06,50 ± 6,50	12,50 ± 1,50	11,50 ± 1,50
80	06,00 ± 6,00	0,008 ± 8,00	11,25 ± 1,20	10,50 ± 0,50
81	21,00 ± 4,00	00,00 ± 0,00	12,00 ± 1,00	09,75 ± 0,20
82	06,50 ± 6,50	11,00 ± 0,00	10,50 ± 0,50	06,50 ± 6,50
83	11,25 ± 0,70	00,00 ± 0,00	09,75 ± 9,70	09,00 ± 9,00
84	05,25 ± 5,20	00,00 ± 0,00	05,00 ± 5,00	16,50 ± 4,50
85	10,00 ± 10,00	00,00 ± 0,00	11,50 ± 0,50	09,75 ± 9,70
86	05,50 ± 5,50	05,50 ± 0,50	14,50 ± 1,50	05,00 ± 5,00
87	06,00 ± 6,00	12,00 ± 1,00	13,25 ± 1,70	05,50 ± 5,50
88	13,50 ± 1,50	15,00 ± 2,00	16,00 ± 0,00	13,00 ± 1,00
89	07,00 ± 6,00	13,75 ± 2,70	16,25 ± 0,70	10,00 ± 3,00
90	13,75 ± 3,20	10,50 ± 3,50	05,50 ± 5,50	06,00 ± 6,00
91	09,50 ± 0,50	12,50 ± 0,50	10,75 ± 0,70	05,00 ± 5,00
92	11,50 ± 0,50	09,00 ± 1,00	12,50 ± 0,50	05,25 ± 5,20
93	10,00 ± 1,00	13,50 ± 2,50	11,00 ± 2,00	11,75 ± 0,20
94	08,50 ± 8,50	12,00 ± 0,00	13,25 ± 0,20	11,00 ± 1,00
95	16,50 ± 0,50	12,25 ± 0,70	06,00 ± 6,00	11,75 ± 1,20
96	06,50 ± 6,50	09,50 ± 1,50	14,25 ± 2,20	13,50 ± 0,50
97	13,00 ± 0,50	10,00 ± 1,00	16,50 ± 1,50	07,50 ± 7,50

Tablo 4.9. (Devamı)

Kod	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>L. monocytogenes</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. Typhimurium</i> (mm)
98	11,25 ± 0,20	07,75 ± 4,70	20,50 ± 9,50	07,75 ± 7,70
99	15,50 ± 1,50	07,00 ± 2,00	14,25 ± 1,70	06,00 ± 6,00
100	13,00 ± 1,00	03,00 ± 3,00	11,50 ± 0,50	17,50 ± 5,50
101	08,50 ± 8,50	13,00 ± 2,00	14,75 ± 3,20	10,50 ± 0,50
102	14,75 ± 2,20	08,50 ± 4,50	10,75 ± 0,20	11,50 ± 0,50
103	15,00 ± 3,00	15,00 ± 4,00	14,50 ± 2,50	13,75 ± 2,20
104	11,50 ± 1,50	08,75 ± 2,70	13,00 ± 1,00	11,50 ± 1,50
105	11,50 ± 1,00	05,00 ± 5,00	15,50 ± 3,50	10,75 ± 0,20
106	12,50 ± 2,50	12,25 ± 1,70	00,00 ± 0,00	04,25 ± 4,20

4.2.6. İzolatların antibiyotiklere karşı dirençlerinin belirlenmesi

Maya izolatlarının antibiyotiklere karşı direncinin belirlenmesi analizi, diğer analizlerden en başarılı sonuçları veren 25 maya izolatı üzerinde uygulanmıştır. Eritromisin, gentamisin ve vancomiyicin antibiyotik diskleri kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile hazırlanan petriyerler 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra disk etrafında oluşan zonlar milimetrik olarak ölçülmüştür. Zon oluşturmayan izolatlar, başarılı olarak değerlendirilmiştir. 25 izolattan 20 tanesi başarılı sonuç göstermiştir. Sonuçlar Tablo 4.10.'da verilmiştir.

Tablo 4.10. İzolatların antibiyotiğe karşı direnç sonuçları

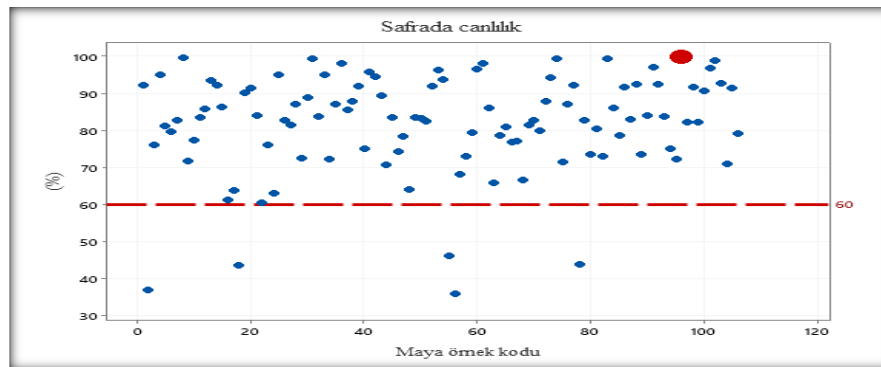
Kodlar	Eritromisin	Gentamisin	Vancomisin
13	-	-	-
43	-	-	-
45	-	-	-
46	-	-	-
47	-	-	-
51	-	-	-
59	-	-	-
61	-	-	-
65	-	-	-

Tablo 4.10. (Devamı)

Kodlar	Eritromisin	Gentamisin	Vancomisin
66	-	2 mm	-
69	-	-	-
70	-	-	-
71	-	-	-
76	-	6 mm	-
77	-	-	-
78	-	-	-
79	-	11 mm	-
81	-	-	-
96	-	-	-
97	-	-	-
99	-	-	-
100	-	-	4 mm
101	-	-	-
102	23 mm	-	-
103	-	-	-

4.2.7. İzolatların safra tuzlarına karşı dirençlerinin taranması

Yapılan analiz sonunda, maya izolatlarının safra bulunan ve bulunmayan ortamdaki spektrometre değerleri okunarak % 60 ve üzeri sonuçlar, başarılı olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.11.'de verilmiştir. Şekil 4.10.'da izolatların safra tuzu varlığında gelişme oranları yüzdelerinin dağılımı gösterilmiştir. En yüksek canlılık oranı gösteren % 99,80 ile Y96 kodlu izolattır.



Şekil 4.10. İzolatların safra tuzu varlığında gelişme oranı

Tablo 4.11. İzolatların safra tuzlarına karşı direnç testi sonuçları

Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık	Kod	% Canlılık
1	92,20 ± 0,14	18	43,74 ± 0,06	35	87,10 ± 0,85	52	92,00 ± 0,50	69	81,50 ± 2,53	86	91,70 ± 0,03
2	37,15 ± 0,05	19	90,23 ± 0,55	36	98,20 ± 2,07	53	96,41 ± 0,20	70	82,75 ± 0,15	87	83,10 ± 0,73
3	76,17 ± 0,20	20	91,58 ± 0,00	37	85,60 ± 4,82	54	93,80 ± 1,64	71	80,08 ± 3,64	88	92,39 ± 0,27
4	95,10 ± 0,81	21	84,00 ± 0,36	38	87,90 ± 0,79	55	46,20 ± 0,19	72	87,87 ± 0,09	89	73,60 ± 4,23
5	81,30 ± 1,44	22	60,45 ± 0,22	39	92,10 ± 2,29	56	36,09 ± 0,56	73	94,24 ± 0,07	90	84,10 ± 1,49
6	79,68 ± 5,83	23	76,10 ± 0,30	40	75,00 ± 0,88	57	68,31 ± 10,1	74	99,34 ± 6,24	91	97,00 ± 2,05
7	82,70 ± 2,73	24	63,50 ± 0,98	41	95,75 ± 0,17	58	73,00 ± 0,57	75	71,46 ± 0,13	92	92,50 ± 1,98
8	99,65 ± 0,00	25	95,15 ± 0,00	42	94,47 ± 1,65	59	79,43 ± 0,51	76	87,09 ± 0,76	93	83,88 ± 0,38
9	71,90 ± 0,45	26	82,77 ± 0,06	43	89,43 ± 0,17	60	96,66 ± 0,06	77	92,20 ± 4,16	94	75,20 ± 0,94
10	77,33 ± 0,16	27	81,50 ± 2,23	44	70,70 ± 5,72	61	98,19 ± 1,21	78	44,06 ± 0,19	95	72,20 ± 2,70
11	83,48 ± 0,06	28	87,08 ± 0,57	45	83,60 ± 5,30	62	86,11 ± 0,34	79	82,70 ± 0,42	96	99,80 ± 0,34
12	85,76 ± 0,10	29	72,55 ± 4,38	46	74,30 ± 0,73	63	66,00 ± 1,46	80	73,50 ± 0,17	97	82,40 ± 0,12
13	93,42 ± 1,19	30	88,85 ± 4,09	47	78,50 ± 1,43	64	78,60 ± 1,79	81	80,50 ± 1,79	98	91,70 ± 2,86
14	92,32 ± 0,06	31	99,31 ± 1,73	48	64,10 ± 5,95	65	81,07 ± 2,22	82	73,20 ± 0,86	100	90,63 ± 0,41
15	86,30 ± 1,07	32	83,77 ± 3,34	49	83,50 ± 5,29	66	76,90 ± 5,48	83	99,29 ± 0,42	101	96,97 ± 0,03
16	61,25 ± 0,22	33	95,16 ± 2,60	50	83,40 ± 0,75	67	77,11 ± 1,22	84	86,18 ± 0,57	102	98,96 ± 0,21
17	63,90 ± 0,21	34	72,20 ± 0,94	51	82,54 ± 0,07	68	66,80 ± 0,22	85	78,66 ± 0,28	103	92,68 ± 0,37
										104	71,00 ± 0,02
										105	91,38 ± 0,08
										106	79,20 ± 0,22

4.2.8. İzolatların hidrokarbonlara tutunma özelliklerinin belirlenmesi

Tüm testlerde % 30 ve üzeri sonuç gösterenler başarılı olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.12.'de verilmiştir.

Tablo 4.12. İzolatların hidrokarbonlara tutunma aktivite sonuçları

Kod	Ksilen	Kloroform	Etil asetat
1	06,55 ± 0,26	06,49 ± 0,04	36,09 ± 0,01
2	24,59 ± 0,03	24,54 ± 0,13	27,66 ± 0,15
3	11,82 ± 0,34	11,76 ± 0,17	28,07 ± 0,12
4	30,66 ± 0,25	30,60 ± 0,04	34,66 ± 0,01
5	31,04 ± 0,59	30,98 ± 0,38	34,62 ± 0,33
6	22,91 ± 0,46	22,84 ± 0,25	33,53 ± 0,19
7	31,70 ± 0,23	31,63 ± 0,02	25,94 ± 0,02
8	16,42 ± 0,66	16,36 ± 0,48	21,88 ± 0,42
9	05,29 ± 0,01	05,22 ± 0,23	27,57 ± 0,20
10	25,80 ± 0,17	25,74 ± 0,05	27,28 ± 0,08
11	17,06 ± 0,23	17,01 ± 0,05	22,59 ± 0,02
12	30,17 ± 0,51	30,10 ± 0,28	28,12 ± 0,25
13	14,33 ± 1,05	14,27 ± 0,84	24,21 ± 0,72
14	03,66 ± 0,23	03,59 ± 0,04	24,30 ± 0,01
15	08,70 ± 0,06	08,65 ± 0,11	21,07 ± 0,12
16	18,93 ± 0,47	18,85 ± 0,20	32,61 ± 0,14
17	05,77 ± 0,58	05,71 ± 0,36	16,64 ± 0,29
18	04,74 ± 0,64	04,67 ± 0,42	16,72 ± 0,34
19	12,25 ± 0,23	12,47 ± 0,02	19,24 ± 0,05
20	07,71 ± 0,43	07,86 ± 0,26	12,68 ± 0,50
21	05,00 ± 0,34	05,53 ± 0,13	15,82 ± 0,43
22	04,06 ± 0,82	04,03 ± 0,84	14,10 ± 0,86
23	20,39 ± 0,39	20,08 ± 0,67	17,04 ± 0,79
24	06,95 ± 0,05	06,67 ± 0,29	16,11 ± 0,39
25	06,43 ± 0,53	06,21 ± 0,74	12,58 ± 0,78
26	04,11 ± 0,33	03,83 ± 0,08	16,45 ± 0,06
27	07,31 ± 1,96	07,03 ± 2,21	13,96 ± 2,16
28	04,89 ± 0,02	04,63 ± 0,21	15,02 ± 0,30
29	04,83 ± 0,01	04,61 ± 0,21	12,91 ± 0,29
30	02,97 ± 0,19	02,74 ± 0,41	13,61 ± 0,47
31	05,39 ± 0,08	05,12 ± 0,17	16,34 ± 0,12
32	08,16 ± 0,10	07,84 ± 0,39	18,39 ± 0,04
33	08,26 ± 0,19	08,02 ± 0,41	14,01 ± 0,14

Tablo 4.12. (Devamı)

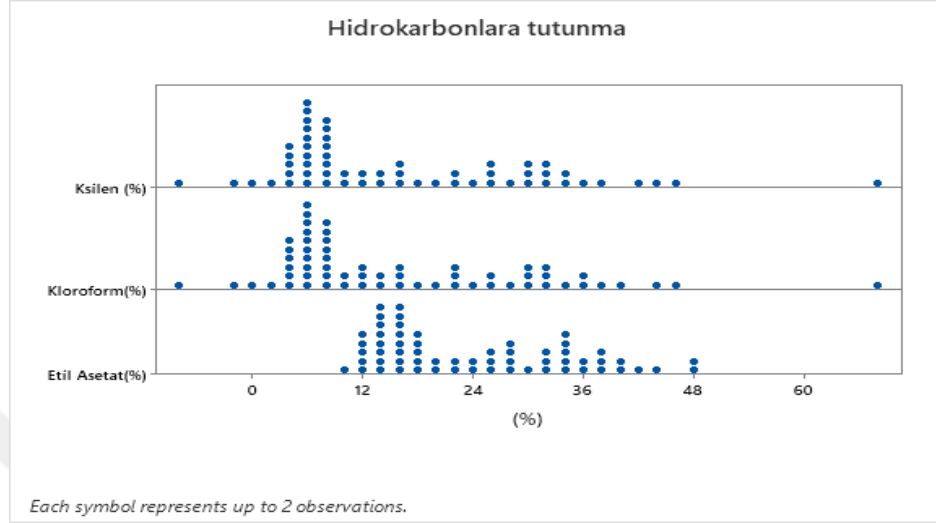
Kod	Ksilen	Kloroform	Etil asetat
34	06,97 ± 0,02	06,74 ± 0,23	13,07 ± 0,02
35	05,01 ± 0,35	04,78 ± 0,14	13,27 ± 0,36
36	05,92 ± 0,28	05,60 ± 0,01	18,08 ± 0,30
37	06,59 ± 0,03	06,32 ± 0,27	15,27 ± 0,03
38	08,89 ± 0,79	08,78 ± 0,58	14,09 ± 0,79
39	04,02 ± 0,54	03,91 ± 0,75	12,02 ± 0,46
40	04,69 ± 0,69	04,55 ± 0,43	17,03 ± 0,66
41	11,41 ± 2,32	11,29 ± 2,55	11,08 ± 2,28
42	07,39 ± 2,42	07,29 ± 2,63	09,54 ± 2,33
43	07,49 ± 1,36	07,36 ± 1,12	16,44 ± 1,28
44	08,68 ± 2,55	08,55 ± 2,81	12,49 ± 2,40
45	32,89 ± 3,35	22,76 ± 3,12	17,75 ± 2,88
46	28,65 ± 2,49	22,50 ± 2,78	14,83 ± 2,26
47	30,99 ± 2,03	33,85 ± 2,29	23,47 ± 1,80
48	10,33 ± 0,29	10,48 ± 0,25	13,23 ± 0,24
49	07,60 ± 1,30	07,74 ± 1,26	11,06 ± 1,21
50	11,58 ± 2,10	11,77 ± 2,16	19,67 ± 1,97
51	29,55 ± 2,98	32,69 ± 2,93	28,96 ± 2,96
52	05,00 ± 0,81	05,17 ± 0,86	15,92 ± 0,77
53	04,72 ± 1,45	04,93 ± 1,51	19,70 ± 1,28
54	07,53 ± 0,57	07,70 ± 0,62	16,22 ± 0,57
55	05,36 ± 0,10	05,56 ± 0,05	17,63 ± 0,04
56	06,15 ± 0,37	06,32 ± 0,43	15,55 ± 0,39
57	06,01 ± 0,17	06,14 ± 0,21	12,09 ± 0,20
58	08,97 ± 0,16	09,17 ± 0,22	18,01 ± 0,20
59	26,71 ± 0,78	31,90 ± 0,73	26,25 ± 0,65
60	05,08 ± 0,03	05,26 ± 0,02	16,44 ± 0,02
61	07,31 ± 0,03	07,47 ± 0,08	14,90 ± 0,08
62	08,62 ± 0,08	08,81 ± 0,02	17,18 ± 0,02
63	04,64 ± 0,03	04,79 ± 0,08	13,41 ± 0,08
64	41,78 ± 0,40	31,91 ± 0,36	31,34 ± 0,34
65	05,82 ± 0,05	05,98 ± 0,10	14,44 ± 0,09
66	26,32 ± 0,08	36,49 ± 0,13	25,79 ± 0,12
67	25,08 ± 0,07	44,82 ± 0,02	34,32 ± 0,02
68	34,11 ± 0,09	33,85 ± 0,15	34,29 ± 0,13
69	31,34 ± 0,25	28,06 ± 0,31	25,72 ± 0,27
70	10,54 ± 0,07	10,31 ± 0,03	12,44 ± 0,03
71	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	18,06 ± 0,07
72	07,69 ± 0,09	07,47 ± 0,13	12,60 ± 0,12
73	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	14,24 ± 0,08
74	31,16 ± 0,21	30,89 ± 0,25	15,36 ± 0,31

Tablo 4.12. (Devamı)

Kod	Ksilen	Kloroform	Etil asetat
75	15,65 ± 0,02	15,37 ± 0,03	15,46 ± 0,04
76	26,43 ± 0,22	26,12 ± 0,28	37,09 ± 0,28
77	46,08 ± 0,09	45,85 ± 0,04	32,51 ± 0,08
78	34,84 ± 0,05	31,56 ± 0,11	25,97 ± 0,10
79	12,30 ± 0,11	12,60 ± 0,05	17,37 ± 0,03
80	38,57 ± 0,04	38,30 ± 0,09	14,98 ± 0,11
81	68,89 ± 0,04	68,65 ± 0,00	13,08 ± 0,03
82	19,44 ± 0,22	19,22 ± 0,18	30,41 ± 0,15
83	35,90 ± 0,04	35,55 ± 0,02	37,32 ± 0,01
84	14,24 ± 0,57	13,94 ± 0,56	33,43 ± 0,43
85	30,34 ± 0,02	30,36 ± 0,24	28,89 ± 0,04
86	00,00 ± 0,00	00,00 ± 0,00	37,74 ± 0,43
87	06,72 ± 0,31	06,74 ± 0,74	47,15 ± 0,18
88	33,60 ± 0,63	27,62 ± 0,97	37,78 ± 0,45
89	21,69 ± 0,76	21,71 ± 1,06	33,10 ± 0,64
90	10,38 ± 0,71	10,41 ± 1,11	43,41 ± 0,44
91	15,92 ± 0,06	15,95 ± 0,44	40,99 ± 0,04
92	01,56 ± 0,90	01,59 ± 1,28	41,39 ± 0,54
93	35,65 ± 0,05	35,67 ± 0,46	44,10 ± 0,03
94	43,72 ± 0,12	43,74 ± 0,43	33,29 ± 0,12
95	14,01 ± 0,02	14,03 ± 0,32	37,12 ± 0,02
96	29,08 ± 0,41	39,10 ± 0,85	47,05 ± 0,26
97	25,78 ± 0,28	25,80 ± 0,65	39,69 ± 0,15
98	22,28 ± 0,09	22,29 ± 0,39	32,34 ± 0,01
99	07,41 ± 0,34	07,43 ± 0,66	34,08 ± 0,18
100	00,86 ± 0,33	00,88 ± 0,77	47,42 ± 0,09
101	06,49 ± 0,14	06,51 ± 0,20	36,51 ± 0,16
102	05,31 ± 0,06	05,33 ± 0,44	40,33 ± 0,03
103	13,41 ± 0,23	13,42 ± 0,56	35,46 ± 0,10
104	16,42 ± 0,06	16,43 ± 0,34	30,67 ± 0,02
105	15,07 ± 0,16	15,09 ± 0,49	35,36 ± 0,05
106	15,70 ± 0,10	15,71 ± 0,40	32,27 ± 0,02

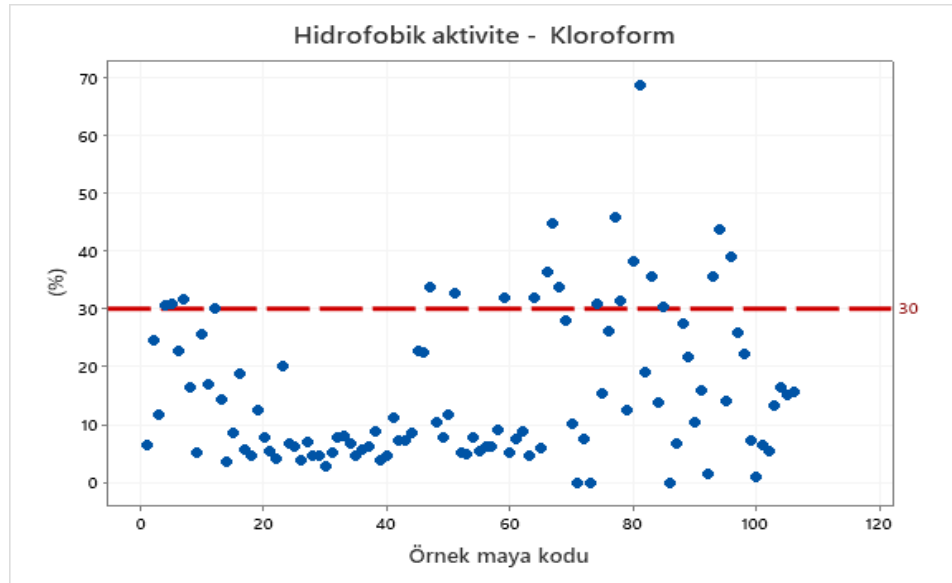
Şekil 4.11.'de izolatların hidrofobik aktivitelerinin ksilen, kloroform ve etil asetata karşı gösterdikleri % hidrofobik aktivitelerinin yüzde dağılımları gösterilmiştir. İzolatların % 24,5'inin ksilene ve kloroforma karşı % 12 ve altında hidrofobik

aktivite gösterdiği, % 26'sının etil asetata karşı % 12-24 arası hidrofobik aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



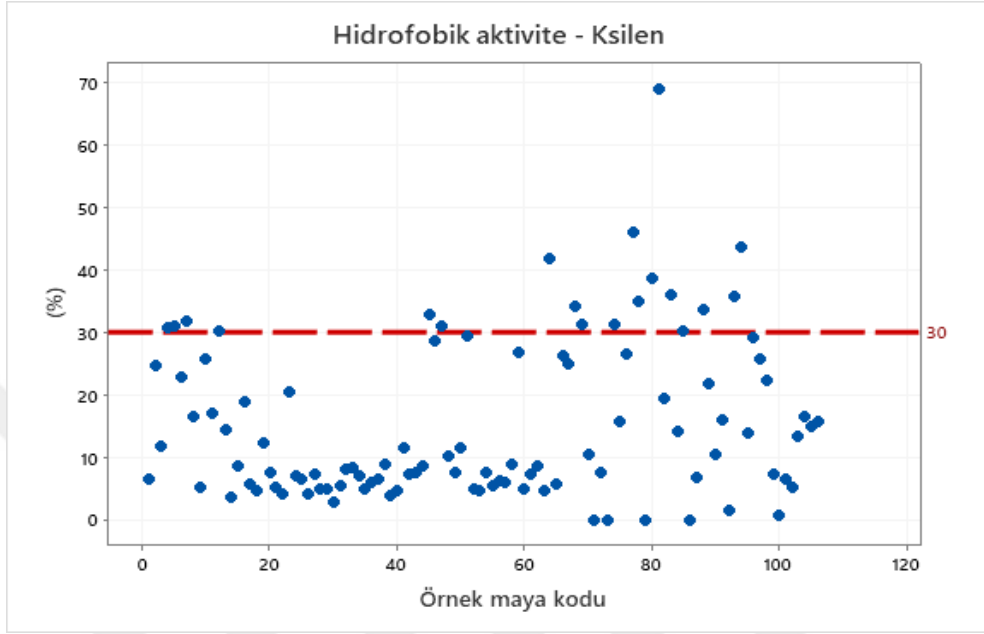
Şekil 4.11. İzolatların % hidrofobik aktiviteleri

Şekil 4.12.'de izolatların kloroforma karşı gösterdikleri hidrofobik aktivite oranları gösterilmiştir. % 30 ve üzeri aktivite göstererek başarılı olarak değerlendirilenler, şekilde görüldüğü gibi kırmızı çizgi üzerinde belirtilen izolatlardır.



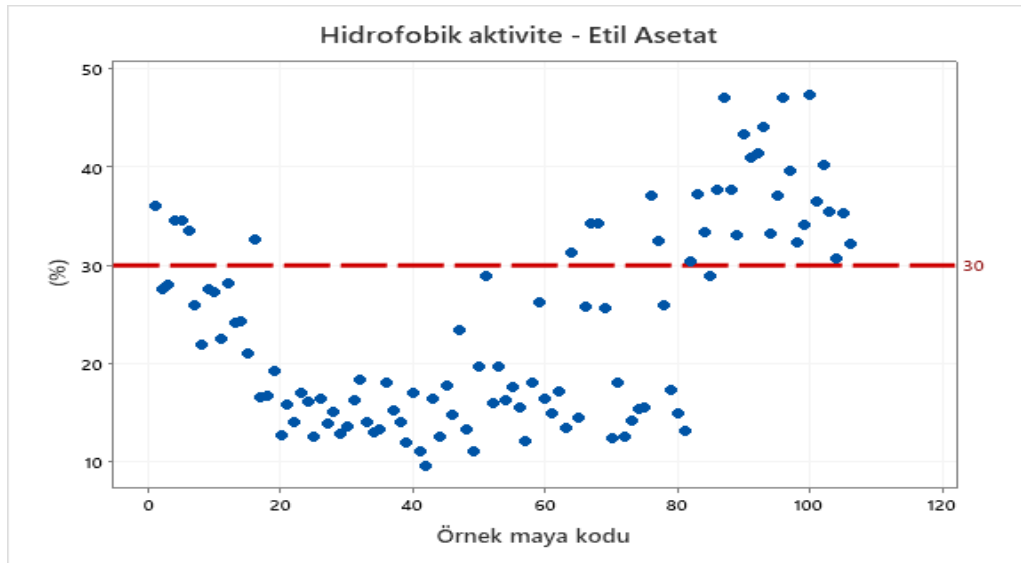
Şekil 4.12. İzolatların kloroforma karşı hidrofobik aktiviteleri

İzolatların ksilene karşı gösterdikleri hidrofobik aktivite oranları şekil 4.13.'te gösterilmiştir. % 30 ve üzeri aktivite göstererek başarılı olarak değerlendirilenler, şekilde kırmızı çizgi üzerinde belirtilen izolatlardır.



Şekil 4.13. İzolatların ksilene karşı hidrofobik aktiviteleri

Şekil 4.14'te izolatların etil asetat karşısında gösterdikleri hidrofobik aktivite oranları gösterilmiştir. % 30 ve üzeri aktivite göstererek başarılı olarak değerlendirilenler, şekilde kırmızı çizgi üzerinde belirtilen izolatlardır.



Şekil 4.14. İzolatların etil asetata karşı hidrofobik aktiviteleri

4.3. İzolatların Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

4.3.1. İzolatların katalaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi

Tüm maya suşları PDA besiyeri ortamında geliştirildikten sonra 1'er damla % 3 (v/v) hidrojen peroksit (H_2O_2) ilave edilerek kabarcık oluşumu gözlemlenmiştir. Kabarcık oluşumu pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir. Tüm izolatlarda kabarcık oluşumu gözlemlenmiştir. Katalaz enzim tarama sonuçları Tablo 4.13.'te verilmiştir.

4.3.2. İzolatların proteaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Tüm maya kolonileri 20 g/L kazein içeren PDA'ya yayılarak 30°C'de 48 saat inkübasyon süresinden sonra koloninin etrafında zon oluşup oluşmadığı gözlemlenmiş ve zon oluşumu pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir. Proteaz enzim tarama sonuçları Tablo 4.13.'te verilmiştir.

4.3.3. İzolatların amilaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

PDA besiyeri ortamında geliştirilen suşlar, inkübasyondan sonra (48 saat, 30°C), iyot çözeltisi ile sulandırılmış ve koloninin etrafında kahverengi bir rengin ortaya çıkması pozitif bir sonuç olarak kabul edilmiştir. Amilaz enzim tarama sonuçları Tablo 4.14.'te verilmiştir.

4.3.4. İzolatların estereaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Tween 80 (% 1) ve fenol kırmızısı (% 0,01, ağırlık / hacim) ile desteklenen PDA besiyerine maya izolatlarından ekim yapılarak inkübe edildikten sonra, koloni etrafında zon oluşup oluşmadığı gözlemlenmiştir. Zon oluşumu pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir. Esteraz enzim tarama sonuçları Tablo 4.14.'te verilmiştir.

Tablo 4.13. İzolatların katalaz ve proteaz enzimatik aktivite sonuçları

Kod	Katalaz	Proteaz	Kod	Katalaz	Proteaz	Kod	Katalaz	Proteaz	Kod	Katalaz	Proteaz	Kod	Katalaz	Proteaz
1	+	+ 19 mm	22	+	-	43	+	+ 17 mm	64	+	+ 13 mm	85	+	+ 20 mm
2	+	-	23	+	+ 11 mm	44	+	+ 25 mm	65	+	+ 17 mm	86	+	+ 20 mm
3	+	-	24	+	+ 17 mm	45	+	+ 15 mm	66	+	+ 12 mm	87	+	+ 24 mm
4	+	-	25	+	-	46	+	+ 30 mm	67	+	+ 22 mm	88	+	+ 27 mm
5	+	-	26	+	+ 18 mm	47	+	+ 16 mm	68	+	+ 19 mm	89	+	+ 21 mm
6	+	+ 21 mm	27	+	+ 11 mm	48	+	-	69	+	+ 17 mm	90	+	+ 25 mm
7	+	-	28	+	+ 20 mm	49	+	+ 21 mm	70	+	+ 18 mm	91	+	+ 30 mm
8	+	-	29	+	+ 19 mm	50	+	-	71	+	+ 16 mm	92	+	+ 15 mm
9	+	+ 20 mm	30	+	-	51	+	+ 21 mm	72	+	-	93	+	+ 17 mm
10	+	+ 12 mm	31	+	+ 5 mm	52	+	+ 25 mm	73	+	-	94	+	+ 22 mm
11	+	+ 17 mm	32	+	-	53	+	+ 26 mm	74	+	+ 18mm	95	+	+ 21 mm
12	+	+ 12 mm	33	+	-	54	+	+ 22 mm	75	+	-	96	+	+ 17 mm
13	+	+ 14 mm	34	+	-	55	+	+ 25 mm	76	+	+ 20 mm	97	+	+ 20 mm
14	+	-	35	+	-	56	+	-	77	+	+ 30 mm	98	+	+ 26 mm
15	+	+ 12 mm	36	+	-	57	+	-	78	+	+ 25 mm	99	+	+ 23 mm
16	+	-	37	+	+ 12 mm	58	+	+ 22 mm	79	+	+ 25 mm	100	+	-
17	+	+ 17 mm	38	+	+ 14 mm	59	+	+ 22 mm	80	+	-	101	+	+ 20 mm
18	+	+ 23 mm	39	+	-	60	+	+ 17 mm	81	+	+ 23 mm	102	+	+ 22 mm
19	+	+ 20 mm	40	+	+ 13 mm	61	+	+ 18 mm	82	+	+ 16 mm	103	+	+ 22 mm
20	+	-	41	+	+ 15 mm	62	+	+ 20 mm	83	+	+ 26 mm	104	+	+ 16 mm
21	+	+ 15 mm	42	+	+ 30 mm	63	+	-	84	+	+ 22 mm	105	+	-
												106	+	-

Tablo 4.14. İzolatların amilaz ve esteraz enzimatik aktivite sonuçları

Kod	Amilaz	Esteraz	Kod	Amilaz	Esteraz	Kod	Amilaz	Esteraz	Kod	Amilaz	Esteraz	Kod	Amilaz	Esteraz
1	-	-	23	+	-	45	+	+ 16 mm	67	+	+ 10 mm	89	+	+ 10 mm
2	-	-	24	+	+ 8 mm	46	+	+ 12 mm	68	+	+ 9 mm	90	+	+ 20 mm
3	-	-	25	+	-	47	-	+ 11 mm	69	+	+ 8 mm	91	+	+ 15 mm
4	+	+ 7 mm	26	+	-	48	-	-	70	+	-	92	+	-
5	+	-	27	+	-	49	+	-	71	+	-	93	+	+ 12 mm
6	+	-	28	+	-	50	-	-	72	+	-	94	+	-
7	-	+ 10 mm	29	+	-	51	+	+ 14 mm	73	+	+ 7 mm	95	-	+ 7 mm
8	+	-	30	+	-	52	+	+ 10 mm	74	+	+ 8 mm	96	+	+ 12 mm
9	+	+ 12 mm	31	+	+ 11 mm	53	+	-	75	+	+ 6 mm	97	+	+ 14 mm
10	+	+ 15 mm	32	+	-	54	+	-	76	+	+ 12 mm	98	+	+ 15 mm
11	+	+ 9 mm	33	+	+ 17 mm	55	+	-	77	+	+ 13 mm	99	+	+ 12 mm
12	+	-	34	+	+ 12 mm	56	-	-	78	+	+ 14 mm	100	+	+ 13 mm
13	+	+ 14 mm	35	+	+ 12 mm	57	-	-	79	+	-	101	+	+ 17 mm
14	-	+ 15 mm	36	-	+ 10 mm	58	+	-	80	-	+ 10 mm	102	+	+ 15 mm
15	-	-	37	+	-	59	+	+ 15 mm	81	+	+ 14 mm	103	+	+ 16 mm
16	+	+ 12 mm	38	+	-	60	+	-	82	+	+ 14 mm	104	+	+ 15 mm
17	+	+ 17 mm	39	+	-	61	+	+ 16 mm	83	+	-	105	+	+ 14 mm
18	+	-	40	+	-	62	+	+ 15 mm	84	+	-	106	+	+ 19 mm
19	+	-	41	+	-	63	-	+ 10 mm	85	+	+ 13 mm			
20	+	-	42	+	-	64	+	+ 12 mm	86	+	+ 18 mm			
21	-	+ 9 mm	43	+	-	65	+	+ 12 mm	87	+	+ 12 mm			
22	+	+ 12 mm	44	+	+ 15 mm	66	+	+ 9 mm	88	+	+ 13 mm			

4.4. En İyi Probiyotik Özellik Gösteren İzolatların Seçilmesi

Yukarıda yapılan analizler baz alınarak, her analizde başarılı olarak değerlendirilmeye yeterli sonuç veren izolatlar belirlenmiş ve analizlerin tümünde başarılı olan izolatlar seçilmiştir. Bu izolatlar; Y45, Y46, Y47, Y51, Y59, Y61, Y64, Y65, Y66, Y67, Y68, Y69, Y70, Y76, Y77, Y78, Y79, Y88, Y96, Y97, Y99, Y100, Y101, Y102, Y103 kodlu izolatlardır.

4.5. Probiyotik Özellik Gösteren İzolatların Moleküler İdentifikasyonu

4.5.1. Maya izolatlarının MALDI-TOF MS ile tanımlanması

En iyi probiyotik özellik gösteren 25 adet izolat seçilmiş ve MALDI-TOF MS ile tanımlaması gerçekleştirilmiştir. İzolatların MALDI-TOF MS ile tanımlama sonuçları Tablo 4.15.'te verilmiştir.

Tablo 4.15. MALDI-TOF MS ile tanımlama işlemi yapılan izolatların tanımları

İzolat Kod	Kaynak	Örnek türü	Kaynak	
			kodu	Tanı
Y45	Sakarya	Siyah zeytin	Z19	<i>Y. lipolytica</i>
Y46	Sakarya	Yeşil zeytin	Z17	<i>W. anomalus</i>
Y47	Sakarya	Yeşil zeytin	Z17	<i>Y. lipolytica</i>
Y51	Sakarya	Siyah zeytin	Z20	<i>Y. lipolytica</i>
Y59	Sakarya	Siyah zeytin	Z27	<i>Y. lipolytica</i>
Y61	Sakarya	Siyah zeytin	Z27	<i>Y. lipolytica</i>
Y64	Sakarya	Siyah zeytin	Z26	<i>Y. lipolytica</i>
Y65	Sakarya	Siyah zeytin	Z26	<i>Y. lipolytica</i>
Y66	Sakarya	Siyah zeytin	Z26	<i>Y. lipolytica</i>
Y67	Sakarya	Siyah zeytin	Z25	<i>Y. lipolytica</i>
Y68	Sakarya	Siyah zeytin	Z25	<i>Y. lipolytica</i>
Y69	Sakarya	Siyah zeytin	Z25	<i>Y. lipolytica</i>
Y70	Sakarya	Siyah zeytin	Z25	<i>Y. lipolytica</i>
Y76	Sakarya	Siyah zeytin	Z23	<i>W. anomalus</i>
Y77	Sakarya	Siyah zeytin	Z23	<i>Y. lipolytica</i>
Y78	Sakarya	Siyah zeytin	Z23	<i>Y. lipolytica</i>

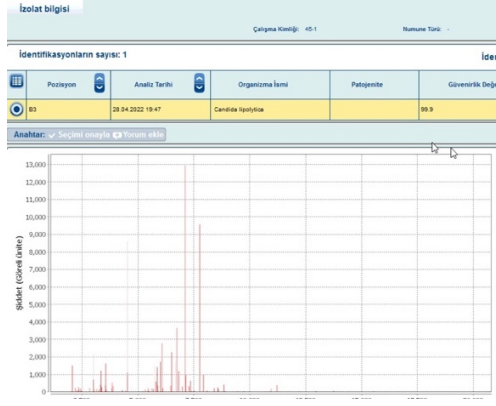
Tablo 4.15. (Devamı)

İzolat Kod	Kaynak	Örnek türü	Kaynak	
			kodu	Tanı
Y79	Sakarya	Siyah zeytin	Z22	<i>Y. lipolytica</i>
Y88	Edremit	Siyah zeytin	Z5	<i>W. anomalus</i>
Y96	Sakarya	Zeytinyağı	Y24	<i>Y. lipolytica</i>
Y97	Sakarya	Zeytinyağı	Y24	<i>Y. lipolytica</i>
Y99	Sakarya	Zeytinyağı	Y24	<i>Y. lipolytica</i>
Y100	Balıkesir	Zeytinyağı	Y2	<i>W. anomalus</i>
Y101	Manisa	Zeytinyağı	Y4	<i>Y. lipolytica</i>
Y102	Marmaris	Zeytinyağı	Y3	<i>Y. lipolytica</i>
Y103	Marmaris	Zeytinyağı	Y3	<i>Y. lipolytica</i>

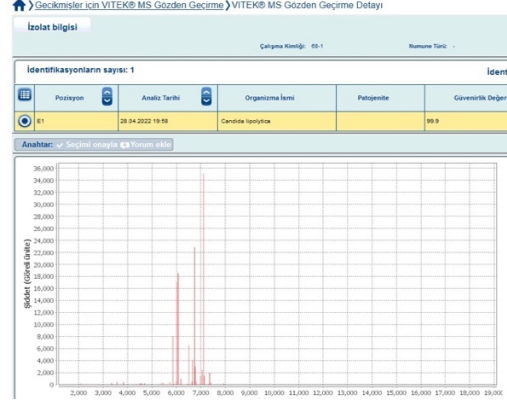
Tablo 4.16.'da çalışmamızda kullanılan maya izolatlarının bazılarının MALDI-TOF MS sonuç grafikleri verilmiştir.

Tablo 4.16. Maya izolatlarının MALDI-TOF MS sonuç grafikleri

Y45



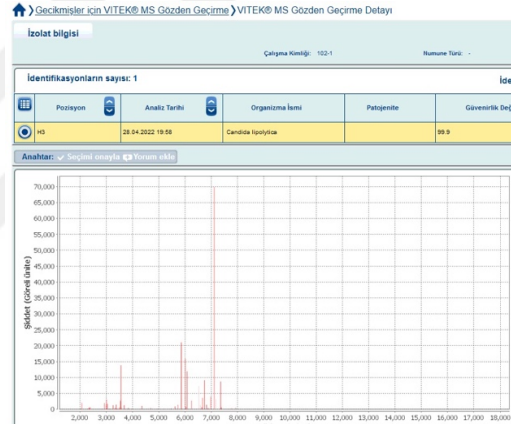
Y66



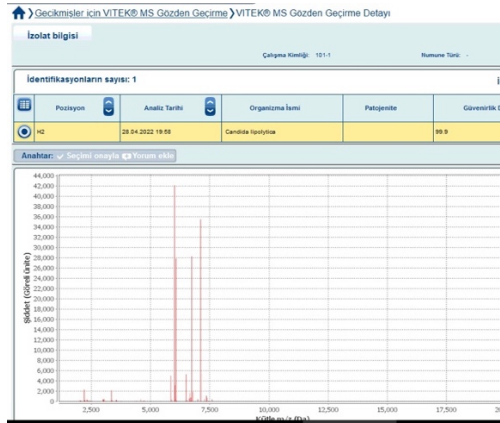
Y79



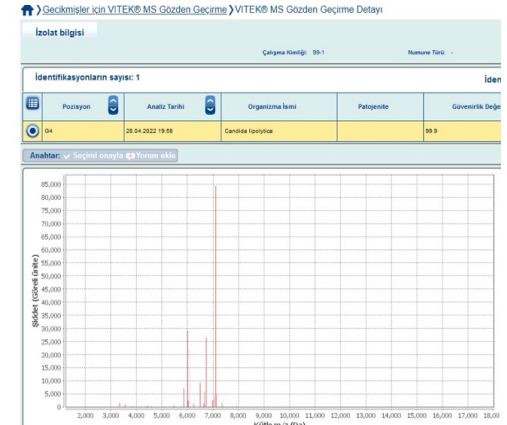
Y102



Y101

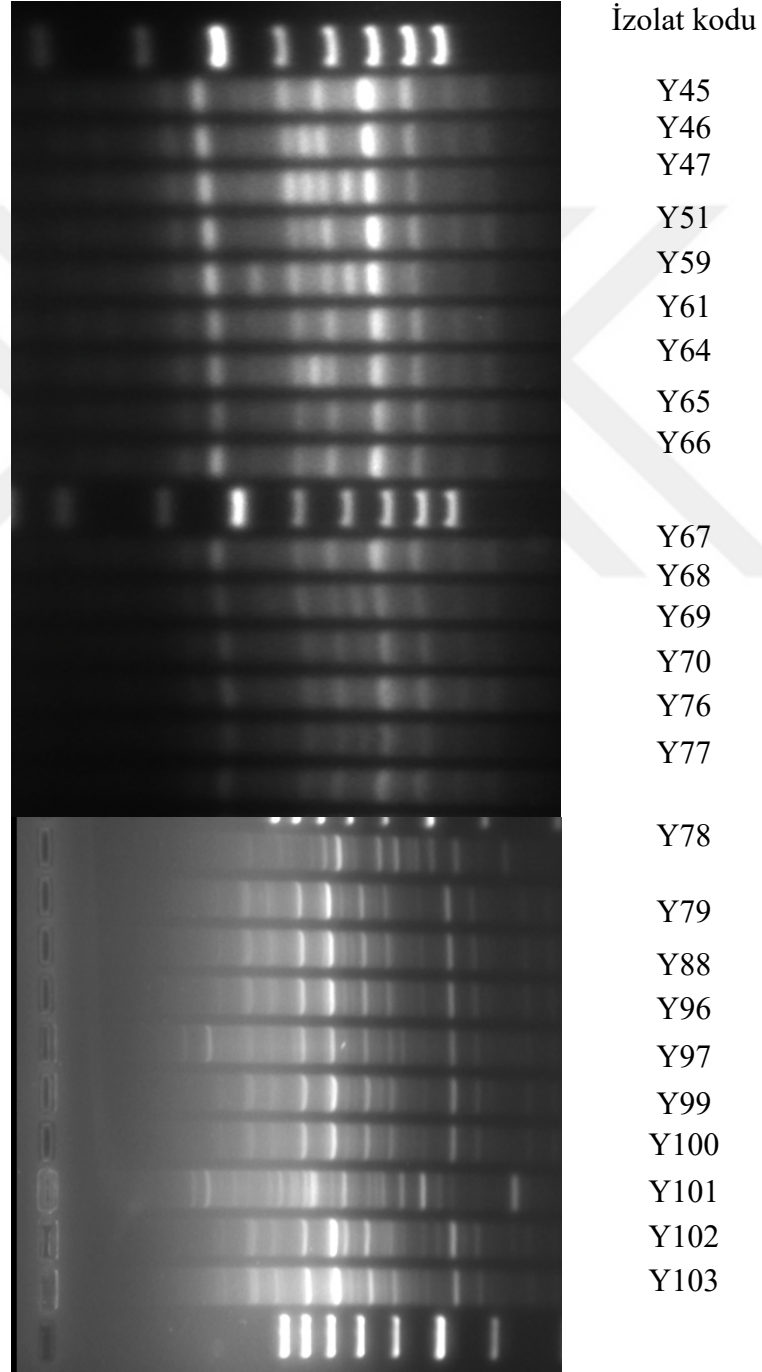


Y99



4.5.2. Arbitrarily Primed PCR (AP-PCR) ile türler arası farklılıkların incelenmesi

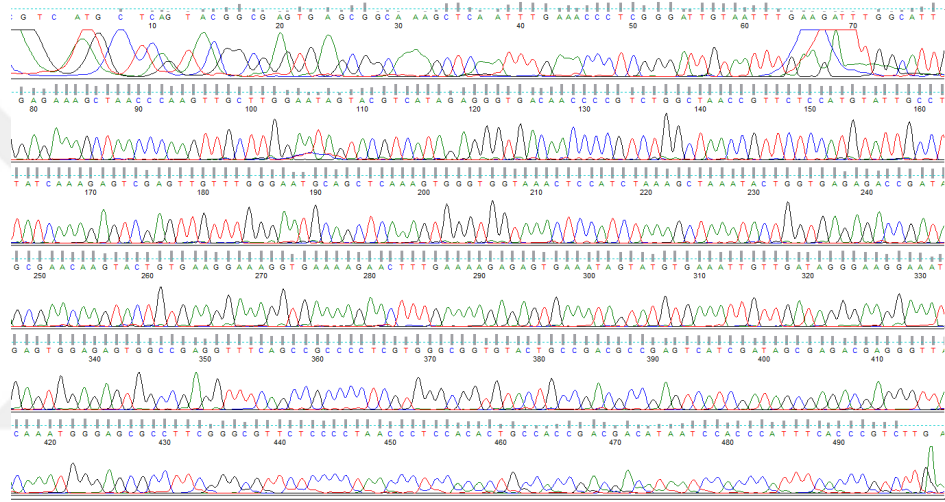
Bu çalışmada 25 adet izolata AP-PCR fingerprint analizi uygulanmıştır. Şekil 4.15.'te izolatların arbitrarily primed PCR fingerprints sonuçları verilmiştir.



Şekil 4.15. Maya izolatlarının fingerprints görüntüleri

4.5.3. 26S rDNA D1/D2 bölgesi dizi analizi sonuçları

Daha önce MALDI-TOF MS ile tanılaması yapılarak % 99,9 güvenilirlik değeri ile *Y. lipolytica* olarak tanı alan Y45, Y66, Y97 kodlu izolatların DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu DNA'lerden amplikonların dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Y45 kodlu örneğe ait kromatogram görüntüsü Şekil 4.16.'da, Blast dizi karşılaştırması Şekil 4.17.'de, Blast karşılaştırma sonuçları ise Şekil 4.18.'de verilmiştir.



Şekil 4.16. Y45 kodlu örneğin kromatogram sonuçları

Download GenBank Graphics

Yarrowia lipolytica strain 2 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: [MZ314862.1](#) Length: 521 Number of Matches: 1

Range 1: 31 to 505 GenBank Graphics Next Match Previous Match

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
	870 bits(471)	0.0	474/475(99%)	1/475(0%)	Plus/Plus
Query 1	GCGGCAAAGCTC-AAATTGAAACCCCTCGGGATTGTAATTTGAAGATTGGCATTGGAGAA				59
Sbjct 31	GCGGCAAAGCTCAAATTTGAAACCCCTCGGGATTGTAATTTGAAGATTGGCATTGGAGAA				90
Query 60	AGCTAACCCCAAGTTGCTTGGAAATAGTACGTCATAGAGGGTGACAAACCCCGCTGGCTAAC				119
Sbjct 91	AGCTAACCCCAAGTTGCTTGGAAATAGTACGTCATAGAGGGTGACAAACCCCGCTGGCTAAC				150
Query 120	CGTTCTCCATGTTATGCTTATCAAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAAGTGG				179
Sbjct 151	CGTTCTCCATGTTATGCTTATCAAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAAGTGG				210
Query 180	GTGGTAAACTCCATCTAAAGCTAAATACTGGTGAGAGACCGATAGCGAACCAAGTACTGTG				239
Sbjct 211	GTGGTAAACTCCATCTAAAGCTAAATACTGGTGAGAGACCGATAGCGAACCAAGTACTGTG				270
Query 240	AAGGAAAGGTGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAATAGTATGTGAAATTTGTGATAGG				299
Sbjct 271	AAGGAAAGGTGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAATAGTATGTGAAATTTGTGATAGG				330
Query 300	GAAGGAAATGAGTGGAGAGTGGCCGAGGTTTCAGCCGCCCTCGTGGCGGTGTACTGCC				359
Sbjct 331	GAAGGAAATGAGTGGAGAGTGGCCGAGGTTTCAGCCGCCCTCGTGGCGGTGTACTGCC				390
Query 360	GACGCCGAGTCATCGATAGCGAGACGAGGGTTACAAAATGGGAGCGCCTTCGGGCGTTCTC				419
Sbjct 391	GACGCCGAGTCATCGATAGCGAGACGAGGGTTACAAAATGGGAGCGCCTTCGGGCGTTCTC				450
Query 420	CCCTAACCCCTCCCACTGCCACCGACGACATAATCCACCCATTTCCACCCGTCCTTG				474
Sbjct 451	CCCTAACCCCTCCCACTGCCACCGACGACATAATCCACCCATTTCCACCCGTCCTTG				505

Şekil 4.17. Y45 kodlu örneğin blast dizi karşılaştırması

BLAST® » blastn suite » results for RID-86GR2A03013 Home Recent Results Saved Strategies Help

[< Edit Search](#) [Save Search](#) [Search Summary](#) [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

! Your search is limited to records that exclude: uncultured/environmental sample sequences

Job Title Pr70_244_008_2022-05-16

RID 86GR2A03013 Search expires on 05-18 14:38 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID IcljQuery_54095

Description Pr70_244_008_2022-05-16

Molecule type dna

Query Length 474

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude
 Type common name, binomial, taxid or group name
[+ Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions [Graphic Summary](#) [Alignments](#) [Taxonomy](#)

Sequences producing significant alignments [Download](#) [Select columns](#) Show

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica strain 2 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Yarrowia lipolyti...	870	870	100%	0.0	99.79%	521	MZ314862.1
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica strain CBS 6124 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal tran...	Yarrowia lipolyti...	867	867	100%	0.0	99.58%	2454	MH545931.1
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica isolate env18 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Yarrowia lipolyti...	867	867	100%	0.0	99.58%	868	MN075241.1
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica strain CBS 6124 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcri...	Yarrowia lipolyti...	867	867	100%	0.0	99.58%	2350	MK394170.1
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica voucher UCASIM-2221 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Yarrowia lipolyti...	867	867	100%	0.0	99.58%	729	MH794373.1
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica strain TRMKS1 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Yarrowia lipolyti...	867	867	100%	0.0	99.58%	503	MH481651.1
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica strain FF3 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Yarrowia lipolyti...	867	867	100%	0.0	99.58%	538	MH752200.1
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica strain FF1 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	Yarrowia lipolyti...	867	867	100%	0.0	99.58%	538	MH752198.1
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica clone Turkey strain_113-P15 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Yarrowia lipolyti...	867	867	100%	0.0	99.58%	537	MK358177.1
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica isolate 42 LSU large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	Yarrowia lipolyti...	867	867	100%	0.0	99.58%	506	MH656399.1
<input checked="" type="checkbox"/> Yarrowia lipolytica DMKU 312-4 gene for large subunit ribosomal RNA, partial sequence	Yarrowia lipolyti...	867	867	100%	0.0	99.58%	497	LC413272.1

Şekil 4.18. Y45 kodlu örneğin blast karşılaştırma sonucu

Elde edilen DNA dizileri Ugene yazılım kullanılarak (http://ugene.unipro.ru), hizalanmıştır. Elde edilen diziler, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nde (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) temel yerel hizalama arama aracı (BLAST) kullanılarak Genbank veritabanındaki bilinen 26S rDNA dizileriyle hizalanmıştır ve maya izolatlarını tanımlamak için yüzde homoloji skorları oluşturulmuştur.

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada; geleneksel yöntemlerle üretilmiş, ısı işlem görmemiş 26 adet farklı zeytinyağı, 27 adet farklı zeytin, 1 adet zeytin ezmesi ve 1 adet siyah, 1 adet yeşil olmak üzere 2 adet dilimli zeytin ile birlikte toplamda 56 farklı kaynak kullanılmıştır. 27 farklı zeytin örneğinin tümünden, 26 farklı zeytinyağı örneğinin 6 tanesinden ve dilimli yeşil zeytinden olmak üzere toplamda 106 adet izolat elde edilmiştir.

Maya izolatları, probiyotik olup olmadıklarının belirlenebilmesi adına, bir dizi analize tabi tutulmuştur. Bu analizler ile izolatların hem probiyotik hem de teknolojik özellikleri değerlendirilmiştir. Maya izolatların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi için; otoagregasyon ve koagregasyon aktiviteleri, gastrik koşullarda hayatta kalma becerileri, hemolitik aktiviteleri, safra tuzu varlığında hayatta kalma becerileri, hidrokarbonlara tutunma aktiviteleri, antimikrobiyal etkinlikleri ve antibiyotiklere karşı gösterdikleri direnç analiz edilirken, teknolojik özelliklerinin belirlenmesi için enzimatik aktiviteleri (katalaz, amilaz, lipaz, esteraz) analiz edilmiştir.

Agregasyon; otoagregasyon ve koagregasyon olmak üzere iki şekilde görülmektedir. Otoagregasyon ile, aynı türden olan mikroorganizmaların birbirlerine tutunarak koloni oluşturma aktivitesi değerlendirilmektedir. Probiyotik mikroorganizmalarda bu özellik, bağırsak epiteline tutunabilme yeteneğini sağlamaktadır (Önal- Darılmaz, 2010).

Çalışmamızda, otoagregasyon aktivitesi % 60 ve üzeri çıkan maya izolatları başarılı kabul edilmiştir. Başarılı kabul edilen maya izolatları; Y5, Y6, Y7, Y8, Y10, Y11, Y13, Y14, Y16, Y17, Y18, Y19, Y20, Y21, Y22, Y23, Y24, Y26, Y29, Y30, Y31, Y33, Y34, Y35, Y37, Y39, Y41, Y42, Y43, Y44, Y45, Y46, Y47, Y49, Y51, Y52, Y54, Y65, Y66, Y72, Y74, Y75, Y76, Y84, Y93, Y98 kodlu maya izolatlarıdır. 106 maya izolatınının 46 tanesi başarılı sonuç göstermiştir. En yüksek sonucu % 94,31 ile

Y54 (*Y. lipolytica*) kodlu izolat göstermiştir. 20 adet izolat % 0 olarak sonuç verirken, 40 adet maya izolatı ise % 60'ın altında otoagregasyon aktivitesi göstermiştir.

Nijeryan tahıl bazlı geleneksel fermente gıda ürünlerinden izole edilen maya suşlarının probiyotik potansiyellerinin araştırıldığı bir çalışmada 24 farklı kaynaktan elde edilen 154 adet maya izolatının otoagregasyon aktiviteleri incelendiğinde, izolatların tümünde inkübasyon süresi arttıkça % otoagregasyon oranının da arttığı görülmüştür. En yüksek otoagregasyon kapasitesini % 85-91 ile *Pichia kudriavzevii* göstermiştir (Ogunremi ve ark., 2015).

Ananas kabuğu ve küspesinden elde edilen 150 adet maya izolatının probiyotik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, maya izolatlarının otoagregasyon aktiviteleri incelendiğinde, 2 saatlik inkübasyon sonrası tüm izolatların otoagregasyon kapasitesi % 16'nın altında iken, bu oran 24 saatlik inkübasyon sonunda % 96'ya kadar yükselmiştir (Amorim ve ark., 2018).

Bonatsou ve ark. (2018) Kalamata doğal siyah zeytin fermantasyonunda yer alan mayaların probiyotik potansiyelinin ve teknolojik özelliklerinin değerlendirilmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada; Kalamata sofralık zeytin fermantasyonundan izole edilen 49 maya suşunun probiyotik potansiyelleri ve teknolojik özelliklerini incelemişlerdir. İzolatların otoagregasyon kabiliyeti % 72 ile 91 arasında değişmiştir.

Yukarıda bahsi geçen çalışmalar ile bu çalışma mukayese edildiğinde, çalışmamızdaki tüm maya izolatlarının otoagregasyon yeteneği gösteremediği gözlemlenmektedir. 46 adet maya izolatı yüksek otoagregasyon aktivitesi gösterirken, 20 adet maya izolatı hiç otoagregasyon aktivite gösterememiş ve 40 adet maya izolatı ise düşük otoagregasyon yeteneği göstermiştir. Ancak, yüksek otoagregasyon gösteren maya izolatı bireysel olarak incelendiğinde, yukarıda bahsi geçen çalışmalardan daha yüksek otoagregasyon gösteren maya izolatları görülmüştür.

Koagregasyon aktivitesi ile farklı türden mikroorganizmaların birbirine tutunarak koloni oluşturma aktiviteleri değerlendirilmektedir. Bu özellik probiyotik mikroorganizmalara, patojen bakterilerin bağırsak epitelinde çoğalmasını engelleme yeteneği kazandırmaktadır (Önal- Darılmaz, 2010).

Çalışmamızda koagregasyon aktivitesinin belirlenmesi için 4 farklı patojen mikroorganizma ile çalışılmıştır. Bu patojenler; *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *L. monocytogenes* ATCC 7644 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028'dir.

Çalışmamızda, *S. aureus* ile en yüksek koagregasyon aktivitesi gösteren izolat, % 74,97 ile Y59 (*Y. lipolytica*) kodlu maya izolatıdır. *L. monocytogenes* ile en yüksek koagregasyon aktivitesi gösteren izolat, % 51 ile Y51 (*Y. lipolytica*) kodlu maya izolatıdır. Yalnızca 3 adet maya izolatı (Y43, Y45, Y51) % 30 ve üzeri aktivite göstermiştir.

Maya izolatlarının hiçbiri *S. Typhimurium* ile % 30 ve üzeri koagregasyon aktivitesi göstermemiştir. En yüksek aktiviteyi % 23 aktivite ile Y74 kodlu maya izolatı göstermiştir.

Nijeryan tahıl bazlı geleneksel fermente gıda ürünlerinden izole edilen maya suşlarının probiyotik potansiyellerinin araştırıldığı bir çalışmada 24 farklı kaynaktan elde edilen 154 adet maya izolatı arasından seçilen en iyi 4 maya suşunun koagregasyon aktiviteleri incelendiğinde, tüm izolatlar indikatör organizmalarla koagregasyon yeteneği sergilemiştir. En yüksek koagregasyon aktiviteyi % 57-71 ile *Pichia kudriavzevii* ile *E. coli* gösterirken, en düşük koagregasyon aktiviteyi *P. kudriavzevii* ile *Shigella* göstermiştir (Ogunremi ve ark., 2015).

Çalışmamızda maya izolatlarının farklı patojen mikroorganizmalar ile gösterdikleri koagregasyon aktivitelerinin birbirinden oldukça farklı olduğu gözlenmiştir. En yüksek koagregasyon aktivitesi *E. coli* ATCC 25922 ile görülürken, sırasıyla *S. aureus* ATCC 25923 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 onu takip etmiş, *S. Typhimurium* ATCC 14028 ile ise hiçbir maya izolatı koagregasyon aktivite gösterememiştir. Yukarıda bahsedilen çalışma ile kıyaslandığında çalışmamızda

izole edilen mayaların probiyotik olarak değerlendirilmelerini sağlayacak koagregasyon aktivitesi gösterdiği gözlenmiştir.

Maya izolatlarının gastrointestinal koşullarda hayatta kalma yeteneğini analiz etmek için de; mide sıvısı ortamında ve pankreatik sıvı ortamında hayatta kalma oranları incelenmiştir.

Hazırlanan mide suyu simülasyonunda yapılan analiz sonunda; 106 adet maya izolatından 47 tanesi % 30 ve üzeri hayatta kalma oranı göstererek başarılı kabul edilmiştir. Bu izolatlar; Y3, Y4, Y11, Y13, Y23, Y28, Y34, Y37, Y45, Y46, Y48, Y49, Y51, Y52, Y53, Y54, Y55, Y 56, Y57, Y58, Y59, Y60, Y61, Y62, Y63, Y64, Y65, Y66, Y67, Y68, Y69, Y70, Y71, Y72, Y73, Y74, Y76, Y77, Y78, Y79, Y88, Y95, Y96, Y97, Y100, Y101 kodlu izolatlardır. En yüksek hayatta kalma aktivitesini % 97,43 ile Y45 (*Y. lipolytica*) kodlu maya izolatın göstermiştir. Başarılı kabul edilen izolatların % 65'i % 60 ve üzeri hayatta kalma aktivitesi göstermiştir. İzolatların 36 tanesi, inkübasyon sonucunda hiç hayatta kalma ibaresi göstermeyerek % 0 sonuç göstermiştir.

Pankreatik sıvı simülasyonunda yapılan analiz sonunda; 106 adet maya izolatının 58 tanesi % 30 ve üzeri hayatta kalma oranı göstermiş ve başarılı kabul edilmiştir. Bu izolatlar; Y14, Y15, Y18, Y20, Y25, Y28, Y32, Y34, Y36, Y42, Y44, Y45, Y46, Y47, Y48, Y49, Y50, Y51, Y52, Y53, Y54, Y56, Y57, Y58, Y59, Y60, Y61, Y62, Y63, Y64, Y65, Y66, Y67, Y68, Y69, Y70, Y71, Y72, Y73, Y75, Y76, Y77, Y78, Y79, Y81, Y83, Y87, Y88, Y89, Y90, Y91, Y94, Y95, Y96, Y99, Y100, Y101, Y103, Y105 kodlu izolatlardır. En yüksek hayatta kalma aktivitesini % 98,62 ile Y59 (*Y. lipolytica*) kodlu maya izolatı göstermiştir. Başarılı kabul edilen izolatların % 51,7'si % 60 ve üzerinde hayatta kalma aktivitesi göstermiştir. İzolatların 26 tanesi, inkübasyon sonucunda hiç hayatta kalma ibaresi göstermeyerek % 0 sonuç göstermiştir.

Hem mide suyu simülasyonu, hem de pankreatik sıvı simülasyonunda hayatta kalma başarısı gösteren maya izolatlarına bakıldığında; Y28, Y34, Y45 (*Y. lipolytica*), Y46 (*W. anomalus*), Y47 (*Y. lipolytica*), Y48, Y49, Y51 (*Y. lipolytica*), Y52, Y53, Y54,

Y55, Y56, Y57, Y58, Y59 (*Y. lipolytica*), Y60, Y61 (*Y. lipolytica*), Y62, Y63, Y64 (*Y. lipolytica*), Y65 (*Y. lipolytica*), Y66 (*Y. lipolytica*), Y67 (*Y. lipolytica*), Y68 (*Y. lipolytica*), Y69 (*Y. lipolytica*), Y70 (*Y. lipolytica*), Y71, Y72, Y73, Y76 (*W. anomalus*), Y77 (*Y. lipolytica*), Y78 (*Y. lipolytica*), Y79 (*Y. lipolytica*), Y88 (*W. anomalus*), Y95, Y96 (*Y. lipolytica*), Y100 (*W. anomalus*), Y101 (*Y. lipolytica*) kodlu maya izolatları her iki simülasyonda da % 30 ve üzeri hayatta kalma oranı göstermişlerdir.

Bonatsou ve ark. (2018); Kalamata doğal siyah zeytin fermantasyonunda yer alan mayaların probiyotik potansiyelinin ve teknolojik özelliklerinin değerlendirilmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, simüle edilmiş gastrik ve pankreatik sindirimler sırasında 49 maya suşunun 42'sinin genel hayatta kalma oranının % 50 ve üzerinde seyrettiğini belirlemiştir. Çalışmamızda ise sonuçların % 36,7'si genel anlamda başarılı olarak kabul edilmiştir. Başarı yüzdesinin yukarıda bahsi geçen çalışmadan daha düşük olmasının, çalışmamızdaki kaynakların çeşitliliğinin fazla olması ve birbirinden farklı yöresel kaynakların tercih edilmesinden kaynaklandığı düşünülebilir. Başarı gösteren maya sayısı; bahsi geçen çalışmaya göre daha az olmasına rağmen, çalışmamızda izole edilen mayaların bireysel olarak gösterdikleri hayatta kalma oranının çok daha yüksek olduğu görülmektedir.

Başka bir çalışmada, araştırmacılar Portekiz salamura zeytinlerinden izole ettikleri mayaların probiyotik özelliklerini araştırmış ve *P. membranaefaciens*, *C. oleophila*, *P. fermentans*, *C. boidini* ve *T. delbrueckii* suşlarının gastrointestinal koşullar altında hayatta kaldığı; *S. cerevisiae* ve *Catellatospora citrea* suşlarının büyüme yeteneği gösteremediğini gözlemlemişlerdir (Gürkan, 2018).

Çeşitli kaynaklardan probiyotik mayaların izolasyonunu ve tanımlanmasını inceleyen bir çalışmada, 36 farklı kaynaktan yapılan izolasyon işlemlerinde toplam 140 adet maya izolatu elde edilmiştir. Gastrik sindirim ve pankreatik sindirim koşullarında hayatta kalma becerileri başarılı sonuç veren 48 adet mayanın moleküler tanımlanması yapılmıştır. *Kluyveromyces* sp., *K. lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida intermedia*, *Candida glabrata*, *Candida quercitrusa*, *Candida tropicalis*,

Wickerhamomyces sp., *P. anomala*, *Clavispora lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *D. hansenii*, *C. zeylanoides*, *P. kudriavzevii*, *S. cerevisiae*, *Y. lipolytica*, *W. anomalus* cins ve türlerinin de probiyotik aday olarak değerlendirilebileceği, ayrıca çalışmada izole edilen *S. cerevisiae* suşunun bu ortamda büyüme yeteneği göstermesi nedeniyle, literatürdeki suşa göre daha dirençli olduğu saptanmıştır (Gürkan, 2018).

Bu çalışmada maya izolatlarının, hemolitik aktiviteleri incelendiğinde; 106 adet maya izolatının 75 tanesinde hemolitik aktivite gözlenmemiştir. Bu analiz, maya izolatlarının patojenitesinin olup olmadığını test etmek için uygulanmıştır.

Patojen mikroorganizmalar, hemoglobini demir kaynağı olarak kullanarak konak içinde gelişebilmektedirler (Yiğit ve Aktaş, 2008). Çalışmamızda, 75 adet maya örneği, yani maya izolatlarının % 70,7'si patojenite göstermemiştir.

Bonatsou ve ark. (2018); Kalamata doğal siyah zeytin fermantasyonunda yer alan mayaların, probiyotik potansiyelinin ve teknolojik özelliklerinin değerlendirilmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada elde ettikleri 49 maya suşunun probiyotik potansiyelleri incelendiğinde, hiçbir maya örneğinde hemolitik aktivite gözlemlenmemiştir.

Çalışmamızda ısı işlem görmemiş, geleneksel yöntemlerle üretilmiş zeytin ve zeytin ürünleri kullanılmıştır ve maya izolatlarının bazılarının patojenite göstermesinin sebebinin üretim esnasında meydana gelen kontaminasyon olduğu düşünülebilir.

Maya izolatlarının patojen mikroorganizmalara karşı dirençlerini belirlemek için yapılan analizde patojen mikroorganizma olarak *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *L. monocytogenes* ATCC 7644 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 kullanılmıştır. Disk difüzyon yöntemiyle maya izolatlarına emdirilen patojen mikroorganizmalar 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, zon çapı oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Maya izolatlarının *S. aureus* ATCC 25923 üzerindeki antimikrobiyal direncine bakıldığında; Y21, Y31, Y58, Y61 ve Y64 kodlu izolatlar dışındaki tüm izolatlarda zon çapı oluşumu görülmüştür. İzolatların *L. monocytogenes* ATCC 7644 üzerindeki antimikrobiyal direncine bakıldığında; Y8, Y18, Y20, Y40, Y41, Y54, Y55, Y56, Y57, Y66, Y74, Y81, Y83, Y84, Y85 kodlu izolatlar dışındaki tüm izolatlarda zon çapı oluşumu görülmüştür. İzolatların *E. coli*

ATCC 25922 üzerindeki antimikrobiyal direncine bakıldığında Y21 ve Y106 dışındaki tüm maya izolatlarında zon çapı oluşumu görülmüştür. Maya izolatlarının *S. Typhimurium* ATCC 14028 üzerindeki antimikrobiyal direncine bakıldığında, tüm izolatlarda zon çapı oluşumu görülmüştür.

Oliveira ve ark. (2017)'ı Kuzeydoğu Portekiz'den sofralık zeytinlerin fermantasyonu sırasında izole edilen mayaların probiyotik potansiyelini incelemiştir. Sofralık zeytin Negrinha de Freixo çeşidinin doğal fermantasyonu sırasında izole edilen 16 maya suşunun probiyotik potansiyeli ve antimikrobiyal etkinliklerine bakıldığında, *Candida norvegica* ve *Galactomyces reessii*, patojenik mikroorganizma *Cryptococcus neoformans'a* karşı mantar önleyici yetenek göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, referans maya olan *S. boulardii* ile mukayese edildiğinde, bu maya türlerinin probiyotik potansiyele sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Gürkan (2018)'in çalışmasında; 36 farklı kaynaktan yapılan izolasyon işlemlerinde toplam 140 adet maya izolatının antimikrobiyal etkinlikleri test edildiğinde, TEM A1Y, TEM A2Y, TEM A3Y ve TEM SZ9 maya izolatları tüm bakteriyel patojenlerle büyüme yeteneği göstermiş fakat zon oluşturacak bir antimikrobiyal aktivite gösterememişlerdir. TEM A1Y, TEM S1M ve TEM S4M izolatları ise *C. tropicalis*'e karşı antimikrobiyal bileşik üreterek zon oluşturmuştur.

Ananas kabuğu ve küspesinden elde edilen 150 adet maya izolatının probiyotik potansiyellerinin araştırıldığı çalışmada en iyi probiyotik aktivite gösteren 5 adet seçilmiş mayanın hiçbirinde antimikrobiyal aktivite görülmemiştir (Amorim ve ark., 2018).

Silva ve ark. (2011); Portekiz salamura zeytinlerinden mayaların karakterizasyonunu yaptıkları çalışmada, 273 adet maya izole etmiş ve mayaların probiyotik aktiviteleri üzerine incelemeler yapmışlardır. Bu mayaların antimikrobiyal aktivitelerini test etmek için; *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* ve *S. aureus* patojenlerini kullanmışlardır. *E. coli*'ye karşı *S. cerevisiae*'nin yalnızca 1 suşunda antimikrobiyal etki, *L. monocytogenes*'e karşı *P. membranaefaciens*'in 14 suşundan 1 tanesinde, *C. oleophila*'nın 7 suşundan 1 tanesinde, *S. cerevisiae*'nin 10 suşundan 2

tanesinde, *C. boidinii*'nin 4 suşundan 1 tanesinde, *T. delbrueckii*'nin 2 suşundan 1 tanesinde ve *C. citrea*'nın 3 suşundan 1 tanesinde antimikrobiyal etki olduğu belirlenmiştir. *S. aureus*'a karşı *P. membranaefaciens*'in 14 suşundan 2 , *C. oleophila*'nın 7 suşundan 1, *S.cerevisiae*'nin 10 suşundan 4, *P. fermentans*'in 8 suşundan 1 ve *T. delbrueckii*'nin 2 suşundan 1 tanesinde antimikrobiyal etki gözlemlenmiştir. *Salmonella enteritidis*'e karşı *C. oleophila* 'nın 7 suşundan 3 tanesinde, *P. fermentans*'in 8 suşundan 3 tanesinde, *C. boidinii*'nin 4 suşundan 1 tanesinde ve *C. citrea*'nın 3 suşundan 1 tanesinde antimikrobiyal etki tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, izole edilen 106 maya izolatını 86 tanesi 4 patojen mikroorganizma üzerinde de zon oluşturarak antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Yukarıda bahsi geçen çalışmalarla karşılaştırdığımızda, bu çalışmada izole edilen mayaların antimikrobiyal etkisinin daha fazla olduğunu söyleyebiliriz.

Maya izolatlarının safra tuzuna dirençlerinin belirlenmesinde, maya izolatları, safra içermeyen sıvı besiyeri ortamına ve % 0,3 safra eklenen besiyeri ortamlarına ayrı ayrı ekilerek, 48 saat 37°C'de inkübasyona bırakıldıktan sonra, maya izolatlarının her iki ortamdaki büyümeleri karşılaştırılmış, % 60 ve üzeri büyüme gösteren izolatlar başarılı olarak değerlendirilmiştir. Y2, Y18, Y55, Y56, Y78 dışındaki tüm maya izolatları % 60 ve üzeri etkinlik göstermiştir. İzolatların safra tuzu varlığında hayatta kalma oranı % 36,09 ile % 99,80 arasında değişim göstermiştir. En yüksek gelişimi Y96 kodlu maya örneği gösterirken, en düşük gelişimi Y56 kodlu maya örneği göstermiştir.

Gürkan (2018)'in çalışmasında 36 farklı kaynaktan yapılan izolasyon işlemlerinde elde edilen toplam 140 adet maya izolatının safra tuzu varlığında gelişmeleri analiz edilmiş ve tüm izolatlar pH 2,5 olan ve % 0,3 safra içeren ortamda üremişlerdir.

Bir başka çalışmada Silva ve ark. (2011); Portekiz salamura zeytinlerinden mayaların karakterizasyonunu yapmış ve izole ettikleri izolatların safra tuzu varlığında gelişimlerini incelemiştir. Sonuç olarak; safra tuzuna direnç; *P. membranaefaciens*'in 14 suşunun 6 tanesinde, *C. oleophila*'nın tüm suşlarında, *S. cerevisiae*'nin tüm

suşlarında, *P. fermentans*'ın tüm suşlarında , *C. boidinii*'nin 4 suşunun 2 tanesinde, *T. delbrueckii* 'nin tüm suşlarında ve *C. citrea*'nın tüm suşlarında belirlenmiştir.

Perricone ve ark. (2014) Altamura ekşi hamurundan izole ettikleri 48 adet maya izolatının probiyotik özelliklerini ve izole edilen maya izolatlarının safra tuzu varlığında gelişmeleri incelemiştir. Sonuçta, 43 ve 50 nolu izolatlar için 24 saatlik inkübasyon sonunda ortama safra tuzunun eklenmesinin, izolatların hayatta kalma oranını azalttığı belirlenmiştir.

Başka bir çalışmada Psomas ve ark. (2003), bebek dışkılarından ve Feta peynirinden izole edilen toplam 67 adet maya örneğinin mayaların probiyotik özelliklerini incelemiştir. Safra tuzuna dirençlilik testlerinde *S. cerevisiae*'nin 985 nolu suşu, *T. delbrueckii*'nin 52 ve 60 nolu suşları, *K. lactis*'in de 531 nolu suşu ve *D. hansenii*'nin 414 nolu suşunda safra tuzuna duyarlılık gözlemiştir ve bu suşlar dışındaki diğer tüm suşlarda safra tuzu varlığında da büyüme tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda, 106 adet maya izolatının hepsinde safra tuzu varlığında büyüme gözlenmiş olmasına rağmen, % 60 ve üzeri gelişim göstererek başarılı olarak kabul edilen maya izolatu sayısı 101'dir. İzolatların % 95'i safra tuzu varlığında büyüme göstermiştir. Yukarıda bahsi geçen çalışmalarla karşılaştırıldığında, paralel sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

Hidrokarbonlara tutunma kapasitesi, hücre yüzeyi hidrofobikliği ile ilişkilidir ve bağırsak epitel dokusuna adezyon yeteneğini belirlemektedir (Kaya, 2020). Hidrofobisite, epitelyuma tutunma olayında tek başına yeterli bir özellik olmayıp, agregasyon özelliği ile birlikte değerlendirilmelidir (Bilginer ve Çetin, 2019).

Mayaların hidrokarbonlara tutunma aktivitelerinin incelenmesi için, p-ksilen (polar olmayan nötral çözücü), kloroform (monopolar asidik çözücü), etil asetat (monopolar bazik çözücü) kullanılmıştır. Tüm çözücülerle yapılan hidrofobisite testinde % 30 ve üzeri sonuç veren izolatlar başarılı olarak değerlendirilmiştir. İzolatların p-ksilen hidrokarbonuna karşı hidrofobik aktiviteleri incelendiğinde; Y4, Y5, Y7, Y12, Y45 (*Y. lipolytica*), Y47 (*Y. lipolytica*), Y64 (*Y. lipolytica*), Y68 (*Y. lipolytica*), Y69 (*Y. lipolytica*), T74, Y77 (*Y. lipolytica*), Y78 (*Y. lipolytica*), Y80, Y83, Y85, Y88 (*W*

.*anomalus*), Y93, Y94 kodlu maya izolatları olmak üzere 106 maya örneğinden 18 tanesi başarılı bulunmuştur. İzolatların kloroforma karşı hidrofobik aktiviteleri incelendiğinde; Y4, Y5, Y7, Y12, Y45 (*Y. lipolytica*), Y59 (*Y. lipolytica*), Y64 (*Y. lipolytica*), Y66 (*Y. lipolytica*), Y67 (*Y. lipolytica*), Y68 (*Y. lipolytica*), T74, Y77 (*Y. lipolytica*), Y78 (*Y. lipolytica*), Y80, Y81, Y83, Y85, Y93, Y94, Y96 (*W. anomalus*) kodlu izolatlar olmak üzere, 106 adet izolattan 20 tanesi başarılı olarak değerlendirilmiştir. İzolatların etil asetat karşısında hidrofobik aktiviteleri incelendiğinde; Y1, Y4, Y6, Y16, Y67 (*Y. lipolytica*), Y68 (*Y. lipolytica*), Y76 (*W. anomalus*), Y77 (*Y. lipolytica*), Y82, Y83, Y84, Y86, Y87, Y88 (*W. anomalus*), Y89, Y90, Y91, Y92, Y93, Y94, Y95, Y96 (*Y. lipolytica*), Y97 (*Y. lipolytica*), Y98, Y99 (*Y. lipolytica*), Y100 (*Y. lipolytica*), Y101 (*Y. lipolytica*), Y102 (*Y. lipolytica*), Y103 (*Y. lipolytica*), Y104, Y105, Y106 kodlu izolatlar olmak üzere, 106 adet izolatanın 32 tanesi başarılı olarak değerlendirilmiştir. Ksilen, kloroform ve etil asetat çözücülerinin üçünde de % 30 ve üzeri hidrofobik aktivite göstererek başarılı olarak değerlendirilen izolatlar, Y4, Y68 (*Y. lipolytica*), Y77 (*Y. lipolytica*), Y83 ve Y93 kodlu izolatlardır.

Bonatsou ve ark (2018) Kalamata doğal siyah zeytin fermantasyonunda yer alan mayaların probiyotik potansiyelinin ve teknolojik özelliklerinin değerlendirilmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada; elde ettikleri 49 maya suşunun hidrofobik maya izolatlarının çoğu % 75 ve üzeri hidrofobik aktivite göstermiştir.

İtalyan sızma zeytinyağından elde edilen 11 maya suşunun bazı probiyotik özellikleri ve in vitro probiyotik potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada, maya izolatları referans maya *S. boulardii* ile mukayese edilmiştir. İzolatların hidrofobik aktiviteleri hegzadekan kullanılarak analiz edilmiştir. *C. adriatica* (% 55.50) ve *Yamadazyma terventina* (% 45.50) en yüksek hidrofobiklik seviyesini gösterirken *Nakazawaea molendinolei* suşları 1926 ve 2035 ve *N. wickerhamii* 1885 hidrofobik aktivite göstermemiştir (Zullo ve Ciafardini, 2019).

Ananas kabuğu ve küspesinden elde edilen 150 adet maya izolatından 50 tanesinin probiyotik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, izolatların hidrofobik aktivitelerini test etmek için hegzadekan ve ksilen kullanılmıştır. Sonuçlar, 5 izolatın

hidrofobik olduğunu, özellikle en yüksek hidrofobiklik indeksini gösteren 9 C, 9 D ve 14 B izolatının heksadekan için sırasıyla % 90,1, % 46 ve % 91,9 ve ksilen için % 99.55, % 28.7 ve % 99.66) olduğunu göstermiştir (Amorim ve ark., 2018).

Nijeryan tahıl bazlı geleneksel fermente gıda ürünlerinden izole edilen maya suşlarının çok işlevli potansiyellerinin araştırıldığı başka bir çalışmada 24 farklı kaynaktan 154 adet maya izolatu elde edilmiştir. İzolatların hidrofobik aktivitelerinin analiz edilmesi için heksadekan kullanılmıştır ve maya suşları heksadekana karşı hidrofobik aktivite (minimum% 33, maksimum %42) göstermiştir (Ogunremi ve ark., 2015).

Çalışmamızda 106 adet maya örneğinden 5 tanesi ksilen, kloroform ve etil asetatın üçüne karşı da hidrobik aktivite göstermiştir. (Y4, Y68 (*Y. lipolytica*), Y77 (*Y. lipolytica*), Y83, Y93) kodlu bu 5 maya örneğinin ksilene karşı göstermiş olduğu hidrofobik aktivite % 30-34,6; kloroforma karşı göstermiş olduğu hidrofobik aktivite % 33,8- 34,29 ve etil asetata karşı göstermiş olduğu hidrofobik aktivite ise % 35- 44 arasındadır. Ksilen ve kloroforma karşı en yüksek hidrofobik aktiviteyi sırasıyla % 46,08, % 45,85 ile Y77 kodlu maya örneği gösterirken, etil asetata karşı en yüksek hidrofobik aktiviteyi % 44,1 ile Y93 kodlu maya örneği göstermiştir. Yukarda bahsi geçen çalışmalarla mukayese edildiğinde, Bonatsou ve ark. (2018) yapmış olduğu çalışmaya göre, çalışmamızda izolasyonu sağlanan mayaların hidrofobik aktivitelerinin daha düşük olduğu gözlenmiş fakat diğer bahsedilen çalışmalarla karşılaştırma yapıldığında hemen hemen birbirine benzer sonuçlar elde edildiği belirlenmiştir.

Mayaların antibiyotiklere karşı direnç göstermesi, probiyotik olarak değerlendirilmelerinde önemli bir etkidir. Probiyotik mikroorganizmaların çoğunluğunu bakteriler oluşturmaktadır ve direnç genlerinin probiyotik bakteriden patojen bakteriye transferi önemli bir dezavantajdır. Maya ile bakteri arasında genetik materyal aktarımı olmadığından, antibiyotik tedavisi sırasında maya kullanımı güvenli bir tercih olarak düşünülebilir (Amorim ve ark., 2018).

Çalışmamızda maya izolatlarının antibiyotiklere karşı direncini belirlemek için, eritromisin, vancomisin ve gentamisin antibiyotik diskleri kullanılmış olup bu analiz, diğer analizlerde en iyi sonuç veren 25 maya izolatu üzerinde uygulanmıştır. Zon oluşturmayan izolatlar, başarılı olarak değerlendirilmiştir. İzolatların % 80'i hiçbir antibiyotiğe karşı duyarlılık göstermeyerek başarılı kabul edilmişlerdir. Y13, Y43, Y45 (*Y. lipolytica*), Y46 (*W. anomalus*), Y47 (*Y. lipolytica*), Y51 (*Y. lipolytica*), Y59 (*Y. lipolytica*), Y61 (*Y. lipolytica*), Y65 (*Y. lipolytica*), Y69 (*Y. lipolytica*), Y70 (*Y. lipolytica*), Y71, Y77 (*Y. lipolytica*), Y78 (*Y. lipolytica*), Y81, Y96 (*Y. lipolytica*), Y97 (*Y. lipolytica*), Y99 (*Y. lipolytica*), Y101 (*Y. lipolytica*), Y103 (*Y. lipolytica*) kodlu izolatlar başarılı olarak değerlendirilen izolatlardır. Eritromisine karşı duyarlı olan sadece Y102 (*Y. lipolytica*) kodlu izolat,, vancomisine karşı duyarlı olan sadece Y100 (*W. anomalus*) kodlu izolat, gentamisine duyarlı olan izolatlar ise Y66 (*Y. lipolytica*), Y76 (*W. anomalus*), Y79 (*Y. lipolytica*) kodlu izolatlardır.

Ananas kabuğu ve küspesinden elde edilen 150 adet maya izolatından 50 tanesinin probiyotik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, izolatların antibiyotik aktivitelerinin analiz edilmesi için, streptomisin, tetrasiklin, eritromisin, kloramfenikol, penisilin ve ampisilin antibiyotikleri kullanılmış ve tüm izolatlar antibiyotiklere karşı direnç göstermişlerdir (Amorim ve ark., 2018).

Perricone ve ark. (2014) Altamura ekşi hamurundan izole ettikleri 48 adet maya izolatının probiyotik özelliklerini inceledikleri çalışmada, izole edilen maya izolatlarının eritromisin, gentamisin, streptomisin, kloramfenikol ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençleri analiz edilmiştir. Tüm maya izolatlarının belirtilen antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği gözlemlenmiştir.

Gürkan (2018)'in çalışmasında 36 farklı kaynaktan yapılan izolasyon işlemlerinde elde edilen toplam 140 adet maya izolatının antibiyotiklere karşı dirençlerinin analiz edilmesi için disk difüzyon yöntemi ile eritromisin, gentamisin, streptomisin, kloramfenikol, tetrasiklin diskleri kullanılmış olup, 2 gün 27°C'de inkübasyona bırakıldıktan sonra zon oluşumu negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada izole edilen izolatlardan 3 tanesi gentamisine duyarlı ikeni diğer antibiyotiklere karşı

direnç göstermiştir. Bu izolatlar dışındaki diğer tüm izolatlar, tüm antibiyotiklere karşı direnç göstermişlerdir.

Çalışmamız, yukarda bahsi geçen çalışmalarla mukayese edildiğinde, elde edilen maya izolatlarının antibiyotiklere karşı gösterdikleri direncin diğer çalışmalarla birbirine benzer sonuçlar gösterdiği söylenebilir.

Maya izolatlarının teknolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla, enzimatik aktivitelerini belirleyen testler uygulanmıştır. İzolatlarının katalaz, amilaz, proteaz ve esteraz aktiviteleri incelenmiştir.

Katalaz, hidrojen peroksitin su ve oksijene indirgenerek, ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlayan bir enzimdir (Barbaros ve ark., 2019). Esteraz ve lipaz, farklı aromatik bileşiklerin oluşumunun öncüsü olan serbest yağ asidi içeriğini artırarak fermente gıdaların aromatik profilini iyileştirmektedir (Ogunremi ve ark., 2015).

Çalışmamızda izolatların hepsi katalaz enzim aktivitesinde pozitif sonuç gösterirken, izolatların % 71,6'sı proteaz enzim aktivitesinde, % 86'sı amilaz enzim aktivitesinde, yüzde 58'i esteraz enzim aktivitesinde pozitif sonuç göstermiştir. 106 maya izolatından tüm enzim aktivitesi analizlerinde pozitif sonuç gösteren izolat sayısı 44'tür. Bu izolatlar; Y9, Y10, Y11, Y13, Y17, Y24, Y31, Y44, Y45 (*Y. lipolytica*), Y46 (*W. anomalus*), Y51 (*Y. lipolytica*), Y42, Y59 (*Y. lipolytica*), Y61 (*Y. lipolytica*), Y62, Y64 (*Y. lipolytica*), Y65 (*Y. lipolytica*), Y66 (*Y. lipolytica*), Y67 (*Y. lipolytica*), Y68 (*Y. lipolytica*), Y69 (*Y. lipolytica*), Y74, Y66 (*Y. lipolytica*), Y77 (*Y. lipolytica*), Y78 (*Y. lipolytica*), Y81, Y82, Y85, Y86, Y87, Y88 (*W. anomalus*), Y89, Y90, Y91, Y93, Y96 (*Y. lipolytica*), Y97 (*Y. lipolytica*), Y98, Y99 (*Y. lipolytica*), Y100 (*W. anomalus*), Y101 (*Y. lipolytica*), Y102 (*Y. lipolytica*), Y103 (*Y. lipolytica*), Y104 kodlu izolatlardır.

Hernandez ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada sofralık yeşil zeytinlerden izole edilmiş maya türlerinin enzim aktiviteleri incelendiğinde, türlerin çoğunda esteraz enzim aktivitesi belirlenirken, lipaz aktivitesi sadece birkaçında görülmüştür (Kara ve Özbaş, 2013).

Gürkan (2018)'in çalışmasında 36 farklı kaynaktan yapılan izolasyon işlemlerinde elde edilen toplam 140 adet maya izolatu içinden en iyi probiyotik özellik gösteren 48 tanesi tanımlanmıştır. Bu maya suşlarının teknolojik özelliklerini incelemek için yapılan enzimatik aktivite testinde, izolatların katalaz, β - glikozidaz, lipaz, üreaz, proteaz ve amilaz enzim aktiviteleri incelenmiştir. İzolatların hepsi amilaz enzim aktivitesinde pozitif sonuç verirken, lipaz aktivitesinde *W. anomalus* türüne ait suşlar pozitif sonuç göstermiştir.

Perricone ve ark. (2014); Altamura ekşi hamurundan izole ettikleri maya izolatlarının enzimatik aktivitelerini test etmiştir. İzolatların 48 tanesi katalaz enzim aktivitesi gösterirken, 31 tanesi katalaz enzim aktivitesi göstermemiştir. β - glikozidaz enzim aktivitesi sadece *S. cerevisiae*'da görülmüştür. Üreaz enzim aktivitesi 11 adet maya örneğinde görülmüştür.

Nijeryan tahıl bazlı geleneksel fermente gıda ürünlerinden izole edilen maya suşlarının araştırıldığı başka bir çalışmada; 24 farklı kaynaktan elde edilen 154 adet maya izolatu'nun proteaz, fitaz, lipaz ve esteraz enzim aktivitelerine bakılmıştır. Maya izolatların tümünde lipaz ve fitaz enzim aktivitesi görülmüştür. Proteaz ve esteraz enzim aktivitesi yalnızca *S. cerevisiae* ve candida türlerinde pozitif gözlemlenmiştir (Ogunremi ve ark., 2015).

Çalışmamızda maya izolatlarının % 41.5'i tüm enzim aktivite testlerinde (katalaz, amilaz, proteaz, esteraz) pozitif sonuç göstermiştir. Yukarıda bahsi geçen çalışmalarla mukayese edildiğinde, çalışmamızda elde edilen maya izolatlarının tümü katalaz enzim aktivitesi göstermiştir. Bu çalışma ile probiyotik olarak kullanılmaya aday mayaların katalaz aktivitesi gibi farklı teknolojik özelliklere de sahip olabileceği gösterilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen mayaların 44 tanesi 4 enzim aktivitesinin tümünden de pozitif sonuç almasını baz alarak; bu çalışma ile probiyotik olarak kullanılmaya aday mayaların proteaz, esteraz ve amilaz aktivitesi gibi teknolojik özelliklere de sahip olabileceği gösterilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızdan elde edilen önemli bulgular şu şekilde özetlenebilir:

Geleneksel yöntemlerle ısıtılmadan üretilmiş zeytin, zeytinyağı, zeytin ezmesi, dilimli siyah zeytin ve dilimli yeşil zeytinden oluşan 56 farklı kaynaktan, 106 adet maya izole edilmiştir. Bu maya izolatlarının probiyotik olma potansiyelleri ve teknolojik özellikleri araştırılmıştır. Mayaların probiyotik aktivitelerinin ve teknolojik özelliklerinin incelenmesi için belirli analizler yapılmıştır. Tüm analizler sonunda en iyi probiyotik ve teknolojik özellik gösteren 25 adet maya örneği belirlenerek moleküler tanımlama işlemi gerçekleştirilmiştir. MALDI-TOF MS ile tanımlama için İnönü Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gönderilen 25 adet izolattın, 4 tanesi *W. anomalus* olarak tanımlanırken, 21 tanesi *Y. lipolytica* olarak tanımlanmıştır. Tanı alan tüm izolatların farklı suşlar olduğu göz önüne alındığında, çalışmamızda moleküler tanımlama işlemi gerçekleştirilen 25 izolat; 4 adet *W. anomalus* suşu ve 21 adet *Y. lipolytica* suşu olarak belirlenmiştir.

Çalışmamız sonucunda, zeytin ve zeytinyağlarından izole edilmiş olan *Y. lipolytica* suşları ve *W. anomalus* suşlarının yüksek probiyotik özellik göstererek, potansiyel probiyotik adaylar olarak değerlendirilebileceği ortaya çıkmıştır. Başka bir ifadeyle ileriki çalışmalarda toksikolojik özellikleri araştırıldıktan sonra probiyotik olarak ve gıda ürünlerinde hem teknolojik hem de probiyotik olarak değerlendirilme olanaklarını araştırmak için potansiyel maya suşları elde edilmiştir.

Günümüzde beslenmeye dayalı hastalıkların artması insanların, doğal probiyotik gıdalara olan ilgisini artırmıştır. Bakteri kaynaklı probiyotiklerdeki antibiyotik direncin mayalarda görülmemesi probiyotik olarak mayaları popülaritesini artırmaktadır. Bu tip çalışmalarla endüstriyel uygulamalar için de potansiyel probiyotik alternatiflerin oluşturulması sağlık ve teknolojik açıdan fayda sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Abbas, C.A. 2006. Production of antioxidants, aromas, colours, flavours, and vitamins by yeasts. İçinde: *Yeasts in Food and Beverages*. Springer-Verlag, Berlin, 285-334.
- Agarbati, A., Marini, E., Galli, E., Canonica, L., Ciani, M. 2021. Characterization of wild yeasts isolated from artisan dairies in the Marche region, Italy, for selection of promising functional starters. *LWT- Food Science and Technology*, 139:110531.
- Amirante, P., Clodoveo, M.L., Tamborrino, A., Leone, A., Paice, A. 2010. Influence of the crushing system: phenol content in virgin olive oil produced from whole and de-stoned pastes. İçinde: *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. Academic Press Ltd Elsevier Science Ltd, London, 69-76.
- 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.
- Anhalt, J.P., Fenselau, C. 1975. Identification of bacteria using massspectrometry. *Analytical Chemistry*, 47: 219–225.
- Aponte, M., Ventrino, V., Blaiotta, G., Volpe, G., Farina, V., Avellone, G., Lanza, C.M., Moschetti, G. 2010. Study of green Sicilian table olive fermentations through microbiological, chemical and sensory analyses. *Food Microbiology*, 27: 162-170.
- Arroyo-Lopez, F.N., Durán Quintana, M.C., Garrido Fernández, A. 2005. Evaluation of primary models to describe the growth of *Pichia anomala* and study of temperature, NaCl and pH effects on its biological parameters by response surface methodology. *Journal of Food Protection*, 68: 562-570.
- Arroyo López, F.N., Durán Quintana, M.C., Ruiz Barba, J.L., Querol, A., Garrido Fernández, A. 2006. Use of molecular methods for the identification of yeast associated with table olives. *Food Microbiology*, 23: 791-796.
- Arroyo-Lopez, F.N., Querol, A., Bautista- Gallego, J., Garrido-Fernandez, A. 2008. Role of yeasts in table olive production. *International Journal of Food Microbiology*, 128: 189–196.
- Arroyo-Lopez, F.N., Romero-gil, V., Bautista-Gallego, J., Rodriguez-Gomez, F., Jimenez-Diaz, R., Garcia-Garcia, P., Querol, A., Garrido-Fernandez, A. 2012. Yeasts in table olive processing: Desirable or spoilage microorganisms?. *International Journal of Food Microbiology*, 160(1): 42-49.

- Ataie-Jafari, A., Larijani, B., Majd, H.A., Tahbaz, F. 2009. Cholesterol-lowering effect of probiotic yogurt in comparison with ordinary yogurt in mildly to moderately hypercholesterolemic subjects. *Ann Nutr Metab* 54(1): 22-27.
- Aureli, P., Capurso, L., Castellazzi, A.M., Clerici, M., Giovannini, M., Morelli, L., Zuccotti, G.V. 2011. Probiotics and health: An evidence-based review. *Pharmacological Research*, 63(5):366-376.
- Barbut, F., Meynard, J.L., Guiguet, M., Avesani, V., Bochet, M.V., Meyohas, M.C., Delmee, M., Tilleul, P., Frottier, J., Petit, J.C. 1997. Clostridium difficile-associated diarrhea in HIV- infected patients: epidemiology and risk factors. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 16(3): 176-181.
- Barth, G., Gaillardin, C. 1997. Physiology and genetics of the dimorphic fungus *Yarrowia lipolytica*. *FEMS microbiology reviews*, 19(4): 219-237.
- Barth, H. 2013. *Yarrowia lipolytica* Genetics, Genomics, and Physiology, Springer, 1-187.
- Bartlett, J.G., Chang, T.W., Gurwith, M., Gorbach, S.L., Onderdonk, A.B. 1978. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *The New England Journal of Medicine*, 298(10): 531-534.
- Bautista-Gallego, J., Rodríguez-Gómez, F., Barrio, E., Querol, A., Garrido-Fernández, A., Arroyo-López, F.N. 2011. Exploring the yeast biodiversity of green table olive industrial fermentations for technological applications. *International Journal of Food Microbiology*, 147: 89-96.
- Bevilacqua, A., De Stefano, F., Augello, S., Pignatiello, S., Sinigaglia, M., Corbo, M.R. 2015. Biotechnological innovations for table olives. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(2): 127-131.
- Bilginer, H., Çetin, B. 2019. Probiyotikler ve belirlenmelerinde kullanılan in vitro testler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(3): 312-325.
- Bonatsou, S., Karamouza, M., Zoumpopoulou, G., Mavrogonatou, E., Kletsas, D., Papadimitriou, K., Tsakalidou, T., Nychas, G.J.E., 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.
- Butts, J.P., Bernasconi, P., Vaerman, J.P., Dive, C. 1990. Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Dig Dis Sci.*, 35(2): 251-6.
- Cerbo, A.D., Palmieri, B., Aponte, M., Morales-Medina, J.C., Iannitti, T. 2016. Mechanisms and therapeutic effectiveness of lactobacilli. *Journal of Clinical Pathology*, 69(3):187-203
- Ciafardini, G., Zullo, B.A. 2002. Microbiological activity in stored olive oil. *International Journal of Food Microbiology*, 75: 111-118.
- Ciafardini, G., Cioccia, G., Peca, G., Zullo, B.A. 2004. Transfer of selected yeasts to oil through olive inoculation. *Italian Journal of Food Science*, 1: 1-7.

- Ciafardini, G., Zullo, B.A., Cioccia, G., Iride, A. 2006. Lipolytic activity of *Williopsis californica* and *Saccharomyces cerevisiae* in extra virgin olive oil. *International Journal of Food Microbiology*, 107: 27-32.
- Ciafardini, G., Cioccia, G., Zullo, B.A. 2017. Taggiasca extra virgin olive oil colonization by yeasts during the extraction process. *Food Microbiology*, 62: 58-61.
- Ciafardini, G., Zullo, B. 2018. Virgin olive oil yeasts: a review. *Food Microbiology*, 70: 245-253.
- Cindoruk, M., Erkan, G., Karakan, T., Dursun, A., Unal, S. 2007. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* in the 14-day triple anti-*Helicobacter pylori* therapy: a prospective randomized placebo-controlled double-blind study. *Helicobacter*, 12: 309–316.
- Cosme, F., Ines, A., Vilela, A. 2022. Consumer's acceptability and health consciousness of probiotic and prebiotic of non-dairy products. *Food Research International*, 151:110842.
- Coton, E., Coton, M., Levert, D., Casaregola, S., Sohier, D. 2006. Yeast ecology in French cider and black olive natural fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 108: 130-135.
- Çuhadar, D. 2019. Matriks aracılı Lazer Dezorbsiyon İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF ms) İle Tıbbi Önemi Olan Maya Mantarlarının Tanımlanması. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Czech, A., Smolczyk, A., Ognik, K., Wlazlo, L., Nowakowicz-Debek, B., Kiesz, M. 2018. Effect of dietary supplementation with *Yarrowia lipolytica* or *Saccharomyces cerevisiae* yeast and probiotic additives on haematological parameters and the gut microbiota in piglets. *Research in Veterinary Science*, 119: 221-227.
- Czech, A., Sembratowicz, I., Zieba, G. 2020. Effect of the use of *Yarrowia lipolytica* and *Saccharomyces cerevisiae* yeast with a probiotic in the diet of turkeys on their gut microbiota and immunity. *Veterinari Medicina*, 65: 174-182.
- Czerucka, D., Piche, T., Rampal, P. 2002. Review article: yeast as probiotics – *Saccharomyces boulardii*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 26(6): 767-778.
- Di Cagno, R., Coda R., De Angelis M., Gobbetti M. 2013. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology*, 33: 1–10.
- Diez-Gutiérrez, L., San Vicente, L., R. Barron, L.J., Villaran, M.C., Chavarri, M., 2020. Gamma-aminobutyric acid and probiotics: Multiple health benefits and their future in the global functional food and nutraceuticals market. *Journal of Functional Foods*, 64: 103669.
- Diñçer, B., Durmaz, M., & Adıgüzel, A. 2019. *Anoxybacillus thermarum* A4 Suşundaki Katalaz Aktivitesinin İncelenmesi ve Tam Hücre İmmobilizasyonu. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(3): 581-588.

- Doğan, M. 2012. Probiyotik bakterilerin gastrointestinal sistemdeki etki mekanizması. *Electronic Journal of Food Technologies*, 7(1): 20-27.
- Dong, H., Rowland, I., Yaqoob, P. 2012. Comparative effects of six probiotic strains on immune function in vitro. *British Journal of Nutrition*, 108(3): 459-470.
- Duman, D.G., Bor, S., Ozütemiz, O., Sahin, T., Oğuz, D., İştan, F., Vural, T., Sandkci, M., İşksal, F., Şimşek, I., Soytürk, M., Arslan, S., Sivri, B., Soyakan İ., Temizkan, A., Beşşk, F., Kaymakoğlu, S., Kalaycı, C. 2005. Efficacy and safety *Saccharomyces boulardii* in prevention of antibiotic-associated diarrhoea due to *Helicobacter pylori* eradication. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 17: 1357–1361.
- Erdem, M. 2015. Süt ürünleri ve zeytinde bozulmaya neden olan maya türlerinin ‘‘Real-Time PCR yüksek çözünürlüklü erime analizi’’ ile tanımlanması. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- Etienne Mesmin, L., Livrelli, V., Privat, M., Denis, S., Cardot, J.M., Alric, M., Blanquet-Diot, S. 2011. Effect of a new probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strain on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in a dynamic gastrointestinal model. *Applied and Environmental Microbiology*, 77: 1127-1131.
- Fernández Díez, M.J., Castro y Ramos, R., Garrido Fernández, A., González Cancho, F., González Pellisó, F., Nosti Vega, M., Heredia Moreno, A., Mínguez Mosquera, M.I., Rejano Navarro, L., Durán Quintana, M.C., Sánchez Roldán, F., García García, P., Gómez-Millán, A.C. 1985. *Biología de la Aceituna de Mesa*, Instituto de la Grasa y sus Derivados, 1-100.
- Fernandez, G., Adams, M.R., Fernandez-Diez, M.J. 1997. *Table Olives*, Springer Science & Business Media, 1-496.
- Fernandez-Pacheco, P., Rosa, I.Z., Arevalo-Vilena, M., Gomes E. 2021. Study of potential probiotic and biotechnological properties of on-*Saccharomyces* yeasts from fruit Brazilian ecosystems. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(2): 1-16.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Microbiology*, 66:365-378.
- Garcia, Y., Perez, M., Garcia, Y., Rodriguez, B., Boucourt, B., Torres, V. 2014. Probiotic effect of a strain *Wickerhamomyces anomalus* on fattening broilers. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 48(2): 125-128.
- Garrido-Fernandez, A., García- Garcia, P., Brenes, M.B. 1995. Olive fermentations. İçinde: *Biotechnology: Enzymes, Biomass, Food and Feed*. 2. Baskı. VCH, Weinheim, 593-627.
- Gensollen, T., Blumberg, R.S. 2017. Correlation between early-life regulation of the immune system by microbiota and allergy development. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 139(4): 1084-1091.
- Gilliland, S. E. 1989. Acidophilus milk products: a review of potential benefits to consumers. *Journal of Dairy Science*, 72(10): 2483-2494.

- Guardiola, F.A., Esteban, M.A., Angulo, C. 2021. *Yarrowia lipolytica*, health benefits for animals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(20): 7577-7592.
- Guarino, A., Albano, F., Ashkenazi, S., Gendrel, D., Hoekstra, J.H., Shamir, R., Szajewska, H. 2008. European Society for pediatric gastroenterology, hepatology, and Nutrition/European Society for paediatric infections disease evidence- based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 46: 81-122.
- Guarner, F., Malagelada, J.R., 2003. Gut flora in health and disease, *The Lancet.*, 361: 512-519.
- Guarner, F., Sanders, M. E., Eliakim, R., Fedorak, R., Gangl, A., Garisch, J. 2017. World Gastroenterology Organisation. Probiotics and Prebiotics.
- Guslandi, M., Mezzi, G., Testoni, P.A. 2000. *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Chron's disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 45: 1462-1464.
- Gutiérrez Rosales, F., Perdiguero, S., Gutiérrez, R., Olias, J.M. 1992. Evaluation of the bitter taste in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 69: 394-395.
- Günel, Ş. 2014. Türk Kefirinden İzole Edilen *Lactobacillus Acidophilus* Grup İzolatlarının Moleküler Tanımlanması ve Probiyotik Özellikleri. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Bölümü, Doktora Tezi.
- Gürkan, B., 2018. Çeşitli Kaynaklardan Probiyotik Mayaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- Hatoum, R., Labrie, S., Fliss, I. 2012. Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel application. *Frontiers in Microbiology*, 3(421): 421.
- Hempel, S., Newberry, S.J., Maher, A.R., Wang, Z., Miles, J.N., Shanman, R., Shekelle, P.G. 2012. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: A systematic review and meta analysis. *Jama*, 307(18): 1959-1969.
- Hennequin, C., Thierry, A., Richard, G.F., Lecoindre, G., Nguyen, H.V., Gaillardin, C., Dujon, B. 2001. Microsatellite typing as a new tool for identification of *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 39: 551-559.
- Hickson, M., L.D'Souza, A., Muthu, N., Rogers, T.R., Want, S., Rajkumar, C., Bulpitt, C.J. 2007. Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *British Medical Journal*, 335(7610): 80.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B. 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.

- Hillenkamp, F., Karas, M. 1990. Mass spectrometry of peptides and proteins by matrix-assisted ultraviolet laser desorption/ionization. *Methods in Enzymology*, 193: 280–295.
- Isolauri, E., Kirjavainen, P.V., Slaminen S. 2002. Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation?. *Gut*, 50(3): 54 -59.
- Justino, C., Pereira, R., Freitas, A., Rocha-Santos, T., Panteleitchouk, T., Duarte, A. 2012. Olive oil mill wastewaters before and after treatment: a clinical review from the ecotoxicological point of view. *Ecotoxicology*, 21: 615-629.
- Kailasapathy, K., Chin, J., 2000. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.. *Immunology & Cell Biology*, 78(1): 80-88.
- Kahyaoglu, M. Biyosürefektanların antimikrobiyal aktiviteleri ve uygulama alanları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi, 24(1): 39-51.
- Kaya, T. 2006. Çeşitli Endüstriyel Atık Maddelerde Bazı Mikroorganizmaların Yüzey Aktif Özelliklerinin İncelenmesi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- Kaya, Y. 2020. Farklı Kaynaklardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin (Lab) Probiyotik Potansiyelinin Belirlenmesi. Bayburt Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi.
- Kara, G., N., Özbaş, Z. Y. 2013. Sofralık zeytin üretiminde doğal maya florasının önemi. *The Journal of FOOD*, 38(6).
- Kesenkaş, H., Akbulut, N. 2006. Mayaların peynir üretiminde destek starter kültür olarak kullanımı. *Journal of Agriculture Faculty of Ege University*, 43(2): 165-174.
- Kollaritsch, H., Holst, H., Grobara, P., Wiedermann, G. 1993. PRevention of traveler's diarrhea with *Saccharomyces boulardii*. Results of placebo controlled double-blind study. *Fortschr Med.*, 111: 152-156.
- Kos, B., Suskovic, S., Simpraga, M., Frece, J., Matosic, S., 2003. Adhesion and Aggregation Ability of Probiotic strain *Lactobacillus Acidophilus* M92. *Journal Applied oc Microbiology*. 94: 981- 987.
- Kurtzman, C., P. Fell, J. W., Boekhout, T. 2011. Definition, classification and nomenclature of the yeasts. İçinde: *The Yeasts a Taxonomic Study* 5. Baskı, Elsevier Science, Amsterdam, 3-9.
- Linares, D.M., Ross, P., Stanton, C. 2016. Beneficial Microbes: The pharmacy in the gut *Bioengineered*, 7 (1): 11-20.
- Liu, H.H., Ji, X.J., Huang, H. 2015. Biotechnological applications of *Yarrowia lipolytica*: Past, present and future. *Biotechnology Advances*, 33(8): 1522-1546.
- Luo, G., Samaranayake, L.P., Yau, J.Y.Y. 2001. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *Journal of Clinical Microbiology*, 39: 2971-2974.

- Maupas, J., Champemont, P., Delforge, M. 1983. Treatment of functional colopathies: double-blind trial with perenterol. *Med. Chir. Dig.*, 12: 77–79.
- McFarland, L. V., Surawicz, C. M., Stamm, W. E. 1990. Risk factors for *Clostridium difficile* carriage and *C. difficile*-associated diarrhea in a cohort of hospitalized patients. *Journal of infectious diseases*, 162(3): 678-684.
- McFarland, L.V. 2007. Meta- analysis of probiotics fort he prevention of traveler’s diarrhea. *Travel Medicine and Infections Disease*, 5: 97-105.
- McFarland, L.V. 2010. Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients. *World Journal of Gastroenterology*, 16(18): 2202-2222.
- Miller, L.E., Lehtoranta, L., Lehtinen, M.J. 2019. Short-term probiotic supplementation enhances cellular immune function in healthy elderly: Systematic review and meta-analysis of controlled studies .*Nutrition Research*, 64: 1-8.
- Mishra, P., Mishra, S. K. 2018. Role of microbial flora and probiotics in host immune homeostasis. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(10):136-149.
- Moslehi-Jenabian, S., Pedersen, L., Jespersen, L. 2010. Beneficial effects of probiotic and food borne yeasts on human health. *Nutrients*, 2: 449–473.
- Nagpal, R., Kumar, A., Kumar, M., Behare, P.V., Jain,S., Yadav, H. 2012. Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: A review. *FEMS Microbiology Letters*, 334(1): 1-15.
- Neuls, L., De Souza, V.J., Romao, S., Bitencourt, T.B., Ramos, C.J.R., Garcia-Parra, J.E., Cazarolli, L.H. 2021. Immunomodulatory effects of *Yarrowia lipolytica* as a food additive in the diet of Nile tilapia. *Fish& Shellfish immunology*, 119: 272-279.
- Nisiotou, A.A., Chorianopoulos, N., Nychas, G.J.E., Panagou E.Z. 2010. Yeast heterogeneity during spontaneous fermentation of black *Conservolea* olives in different brine solutions. *Journal of Applied Microbiology*, 108: 396-405.
- Novik, G., Savich, V. 2019. Beneficial microbiota. Probiotics and pharmaceutical products in functional nutrition and medicine. *Microbes and Infection*, 22(1): 8-18
- Ogunremi, O. R., Sanni, A. I., Agrawal, R. 2015. Probiotic potentials of yeasts isolated from some cereal-based Nigerian traditional fermented food products. *Journal of Applied Microbiology*, 119(3): 797-808.
- Oliveria , 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.
- Önal-Darıılmaz, D. 2010. Geleneksel Türk Peynirlerinde Propiyonik Asit Bakteri Türlerinin Belirlenmesi ve Bazı Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması. Gazi üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.

- Pais, P., Almeida, V., Yılmaz, M., Teixeira, M.C. 2020. *Saccharomyces boulardii*: What Makes It Tick as Successful Probiotic?. *Journal of Fungi*, 6(2): 78.
- Padilla, B., Gill, J.V., Manzanares, P. 2018. Challenges of the non-conventional yeast *Wickerhamomyces anomalus* in winemaking. *Fermentation*, 4(3): 68.
- 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.
- Péter, G., Dlačny, D., Tóbiás, A., Fülöp, L., Podgoršek, M., Čadež, N. 2017. *Brettanomyces acidodurans* sp. nov., a new acetic acid producing yeast species from olive oil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(5): 657-664.
- Plein, K., Hotz, J. 1993. Therapeutic effects of *Saccharomyces boulardii* on mild residual symptoms in a stable phase of Chron's disease with special respect to chronic diarrhea : a pilot study. *Z. Gastroenterol.*, 31: 129-134.
- Petroni, A., Blasevich, M., Salami, M., Papini, N., Montedoro, G.F., Galli, C. 1995. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic component of olive oil. *Thrombosis Research*, 78: 151-160.
- Prisco, D.A., Mauriello, G. 2016. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends in Food Science & Technology*, 48: 27-39.
- Psomas, E. I., Fletouris, D. J., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N. 2003. Assimilation of cholesterol by yeast strains isolated from infant feces and Feta cheese. *Journal of dairy science*, 86(11): 3416-3422.
- Rahimzadeh, G., Dolatabad, S.S., Rostami, F.F. 2014. Comparison of two types of gels in improving burn wound. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*, 1: 28-32.
- Rahimzadeh, G., Fazeli, M.R., Mozafari, A.N., Mesbahi, M. 2015. Evaluation of anti-microbial activity and wound healing of kefir. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6 (1): 286.
- Reid, G. 2006. Prevention and treatment of urogenital infections and complications: lactobacilli's multi-pronged effects. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 18: 181-186.
- Reyes-Becerril, M., Alamilla, E., Angulo, C. 2021. Probiotic and immunomodulatory activity and marine yeast *Yarrowia lipolytica* strains and response against *Vibrio parahaemolyticus* in fish. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13: 1292-1305.
- Rinkinen, M., Jalava, K., Westermarck, E., Salminen, S., Ouwehand, A.C. 2003. Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: a risk factor for intestinal *Enterococcus faecium* colonization?, *Veterinary Microbiology*, 92: 111-119.
- Romo-Sánchez, S., Alves-Baffi, M., Arévalo-Villena, M., Úbeda-Iranzo, J., Briones-Pérez, A. 2010. Yeast biodiversity from oleic ecosystems: study of their biotechnological properties. *Food Microbiology*, 27: 487-492.

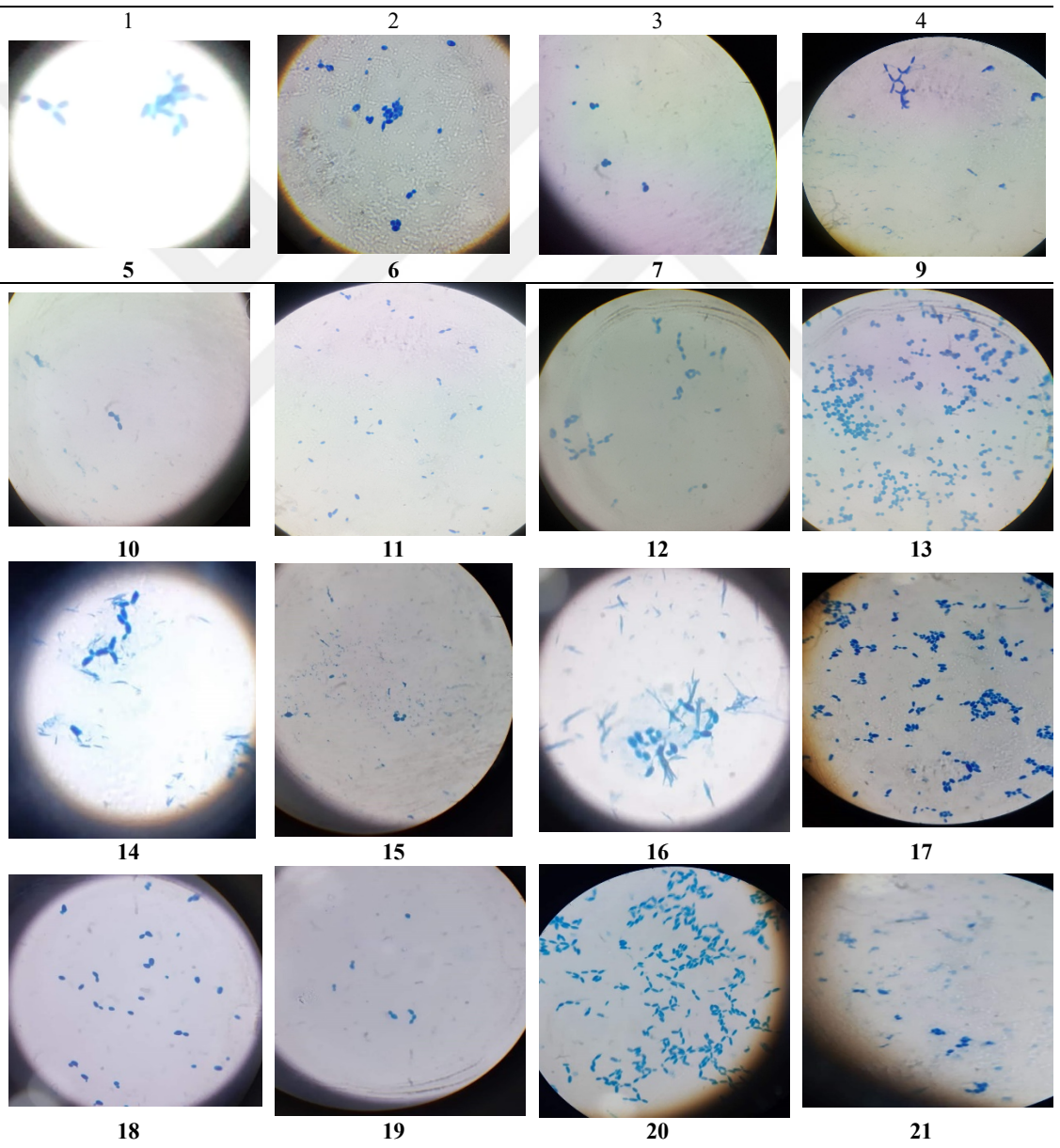
- Routier, A., Blaizot, A., Agossa, K., Dubar, M., 2021. What do we know about the mechanisms of action of probiotics on factors involved in the pathogenesis of periodontitis? A scoping review of *in vitro* studies. *Arch Oral Biol.* 129:105196.
- Rosini, G., Cantini, M. 1987. Killer character in *Kluyveromyces* yeasts: activity on *Kloeckera apiculata*. *FEMS microbiology letters*, 44(1): 81-84.
- Ruiz Barba, J.L., Jiménez Diaz, R. 1995. Availability of essential B-group vitamins to *Lactobacillus plantarum* in green olive fermentation brines. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 1294-1297.
- Saikali, J., Picard, J., Freitas, M., Holt, P. 2004. Fermented milks, probiotic cultures, and colon cancer. *Nutr Cancer* 49(1): 14-24.
- Saint-Marc, T., Blehaut, H., Musial, C., Touraine, J. 1995. AIDS-related diarrhea: A double-blind of *Saccharomyces boulardii*. *Semaine des Hopitaux*, 71: 735–741.
- Sakandar, H. A., Usman, K., Imran, M. 2018. Isolation and characterization of gluten- degrading *Enterococcus mundtii* and *Wickerhamomyces anomalus*, potential probiotic strains from indigenously fermented sourdough (Khamir). *LWT*, 91: 271-277.
- Samad, M.Y.A., Razak, C.N.A., Salleh, A.B., Yunus, W.M.Z.W., Ampon, K., Basri, M. 1989. A plate assay for primary screening of lipase activity. *Journal of Microbiological Methods*, 9: 51–56.
- Sanders, J.W., Tribble, D.R. 2001. Diarrhea in the returned traveler. *Current Gastroenterology Reports*, 3: 304–314.
- Sanders, M.E. 2000. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *The Journal of Nutrition*, 130(2): 384-390
- Sazawal, S., Hiremath, G., Dhingora, U., Malik, P., Deb, S., Black, R.E. 2006. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta- analysis of masked, randomised, placebo- controlled trials. *The Lancet Infections Diseases*, 6(6): 374-382.
- Sen, S., Mansell, T.J. 2020. Yeasts as probiotics: Mechanisms, outcomes, and future potential. *Fungal Genetics and Biology*, 133: 1087-1845.
- Servili, M., Selvaggini, R., Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G.F., Morozzi, G. 2004. Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A*, 1054: 113-127.
- 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.
- Smith, A., Jones, C.A., 2012. *Probiotics: Sources, Types and Health Benefits*. Nova Biomedical, Nova Science Publishers, Incorporated.
- Sotoudegan, F., Daniali, M., Hassani, S., Nikfar, S., Abdollahi, M. 2019. Reappraisal of probiotics' safety in human. *Food and Chemical Toxicology*, 129: 22-29.

- Sousa Moraes, D.L.F., Grzeskowiak, L.M., de Sales Teixeira, T.F., do Carmo Gouveia Peluzio, M. 2014. Intestinal microbiota and probiotics in celiac disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(3): 482-489.
- Strauss, M.L.A., Jolly, N.P., Lambrechts, M.G. Van Resemburg, P. 2001. Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-*Saccharomyces* wine yeasts. *Journal of Applied Microbiology* 91:182–190.
- Surawicz, C.M., McFarland, L.V., Greenberg, R.N., Rubin, M., Fekety, R., Mulligan, M.E., Garcia, R.J., Brandmarker, S., Bowen, K., Borjal, D., Elmer, G.W. 2000. The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: Use of high dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. *Clinical Infections Diseases*, 31: 1012–1017.
- Syal, P., Vohra, A. 2013. Probiotic potential of yeasts isolated from traditional Indian fermented foods. *International Journal of Microbiological Research*, 5(2): 390-398.
- Şanlıdere Aloğlu, H., Demir Özer, E., Öner, Z. 2015. 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.
- Tempe, J.D., Steidel, A.L., Blehaut, H., Hasselmann, M., Lutun, P., Maurier, F. 1983. Prevention of diarrhea administering *Saccharomyces Boulardii* during continuous enteral feeding. *Sem. Hop.*, 59: 1409–1412.
- Todorov, S. D., Botes, M., Guigas, C., Schillinger, U., Wiid, I., Wachsman, M.B., Holzappel, W.H. 2008. Boza, a natural source of probiotic lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 104(2): 465–477.
- Tsapatsaris, S., Kotzekidou, P. 2004. Application of a central composite design and response surface methodology to the fermentation of olive juice by *Lactobacillus plantarum* and *Debaryomyces hansenii*. *International Journal of Food Microbiology*, 95: 157-168.
- Tsiouris, C.G., Tsiouri, M.G. 2017. Human microflora, probiotics and wound healing. *Wound Medicine*, 19: 33-38.
- Valdés-Varela, L., Hernández-Barranco, A.M., Ruas-Madiedo, P., Gueimonde, M. 2016. Effect of *Bifidobacterium* upon *Clostridium difficile* growth and toxicity when co-cultured in different prebiotic substrates. *Frontiers in Microbiology*, 7 :738.
- Vandenplas, Y., Benninga, M. 2009. Probiotics and functional gastrointestinal disorders in children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 48: 107-109.
- Viljoen, B.C. 2006. Yeast ecological interactions. Yeast–yeast, yeast–bacteria, yeast fungi interactions and yeasts as biocontrol agents. İçinde: *Yeasts in Food and Beverages*, Springer-Verlag, Berlin, 83-110.
- Visioli, F., Bellomo, G., Montedoro, G.F., Galli, C. 1995. Low-density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis*, 117: 25-32.

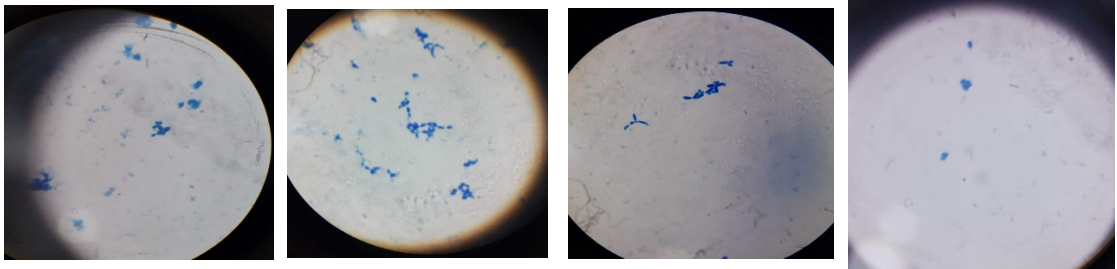
- Vohra, A., Satyanarayana, T., 2011. Probiotic yeasts. *İçinde: Microorganisms in Sustainable Agriculture and Biotechnology*. Springer, Dordrecht, 411-433.
- Vrese, D.M., Stegelmann, A., Richter, B., Fenselau, S., Laue, C., Schrezenmeir, J. 2001. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2): 421–429.
- Vrese, D.M., Schrezenmeir, J. 2008. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. *Food Biotechnology*, 111: 1-66.
- Wieser, A., Schneider, L., Jung, J. 2012. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics- identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93: 965-974.
- Whelan, K., Judd, P.A., Tuohy, K.M., Gibson, G.R., Preedy, V.R., Taylor, M.A. 2009. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89: 240-247.
- Whittenbury, R. 1964. Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria. *Journal of General Microbiology*, 35: 13-26.
- WHO. 1995. *The Treatment of Diarrhea: A manual for physicians and other senior health workers*. WHO/CDR/95.3, Geneva.
- Yiğit, N., Aktaş, A. E. 2008. *Candida* türlerinde hemolitik aktivite araştırılması. *Turkish Journal of Infection*, 22(2): 91-96.
- Young, T. W., Yagiu, M. 1978. A comparison of the killer character in different yeasts and its classification. *Antonie van Leeuwenhoek*, 44(1): 59-77.
- Zárate, G., Pérez-Chaia, A., González, S., Oliver, G., 2000. Viability and β -Galactosidase Activity of Dairy Propionibacteria Subjected to Digestion by Artificial Gastric and Intestinal Fluids. *Journal of Food Protection*, 63(9): 1214-1221.
- Zhang, C., Yu, Z., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., Chen, W. 2019. Colonization and probiotic function of *Bifidobacterium longum*. *Journal of Functional Foods*, 53: 157-165.
- Zhang, P., Zhang, R., Sirisena, S., Gan, R., Fang, Z. 2021. Beta- glucosidase activity of wine yeasts and its impacts on wine volatiles and phenolics: Amini review. *Food Microbiology*, 100: 103859.
- Zinjarde, S.S. 2014. Food-related applications of *Yarrowia lipolytica*. *Food Chemistry*, 152: 1-10.
- Zucko, J., Starcevic, A., Diminic, J., Oros, D., 2020. "Probiotic – friend or foe?" *Current Opinion in Food Science* 32: 45-49.
- Zullo, B.A., Cioccia, G., Ciafardini, G. 2010. Distribution of dimorphic yeast species in commercial extra virgin olive oil. *Food Microbiology*, 27(8): 1035-1042.
- 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: Maya izolatlarının mikroskop görüntüsü



Ek 1. (Deavmi)

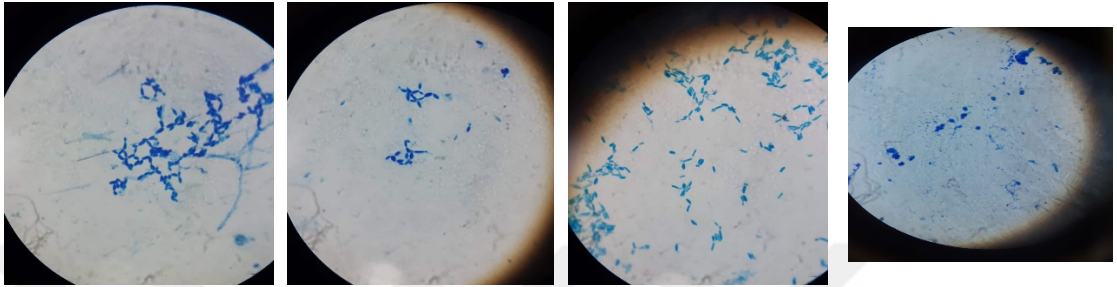


22

23

24

26

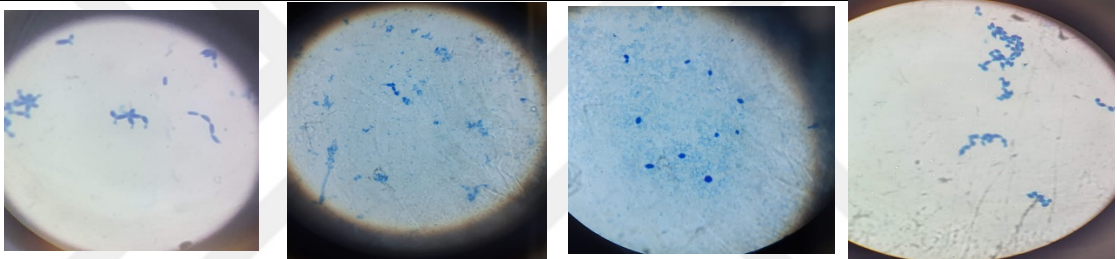


27

28

29

30

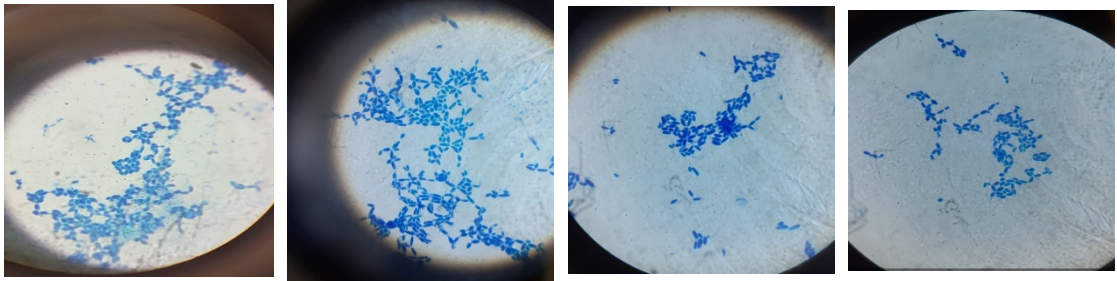


31

32

33

34

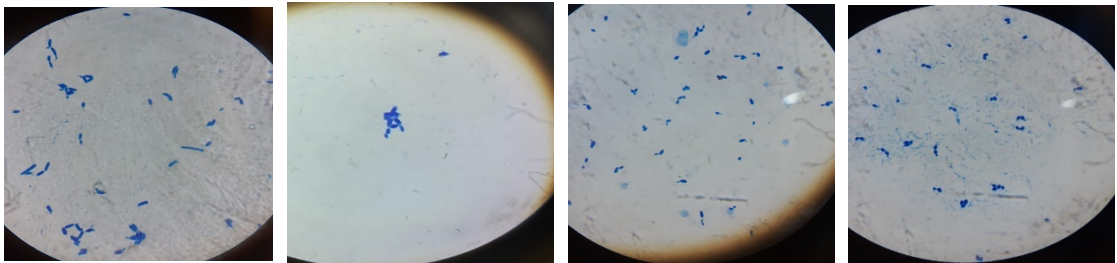


35

36

37

38



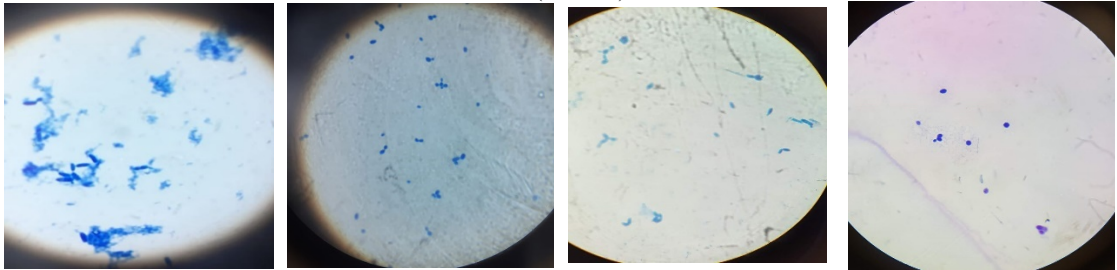
39

41

42

44

Ek 1. (Devami)

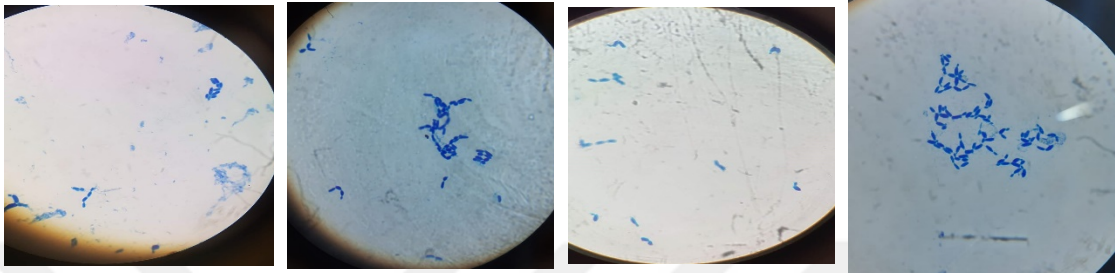


45

47

48

49

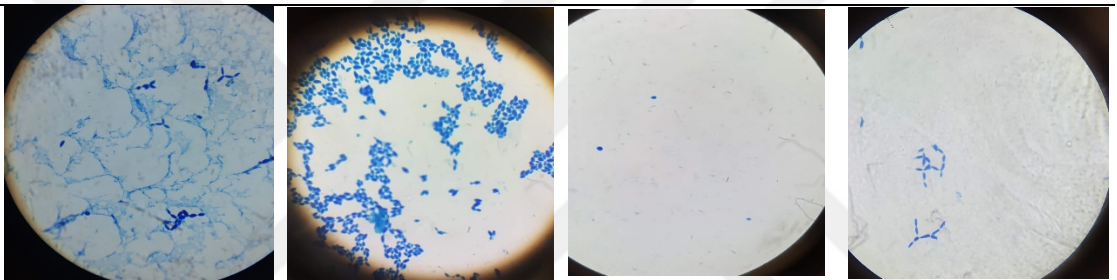


50

51

52

53

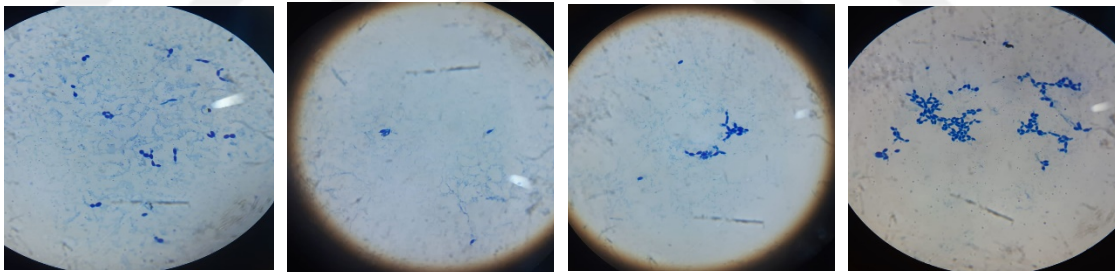


54

55

56

57

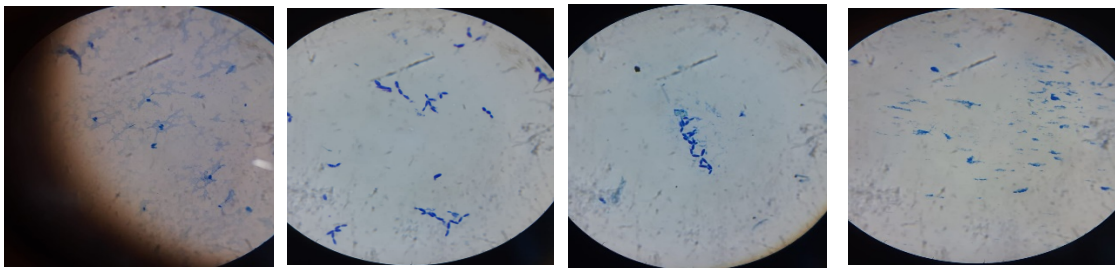


58

59

60

61



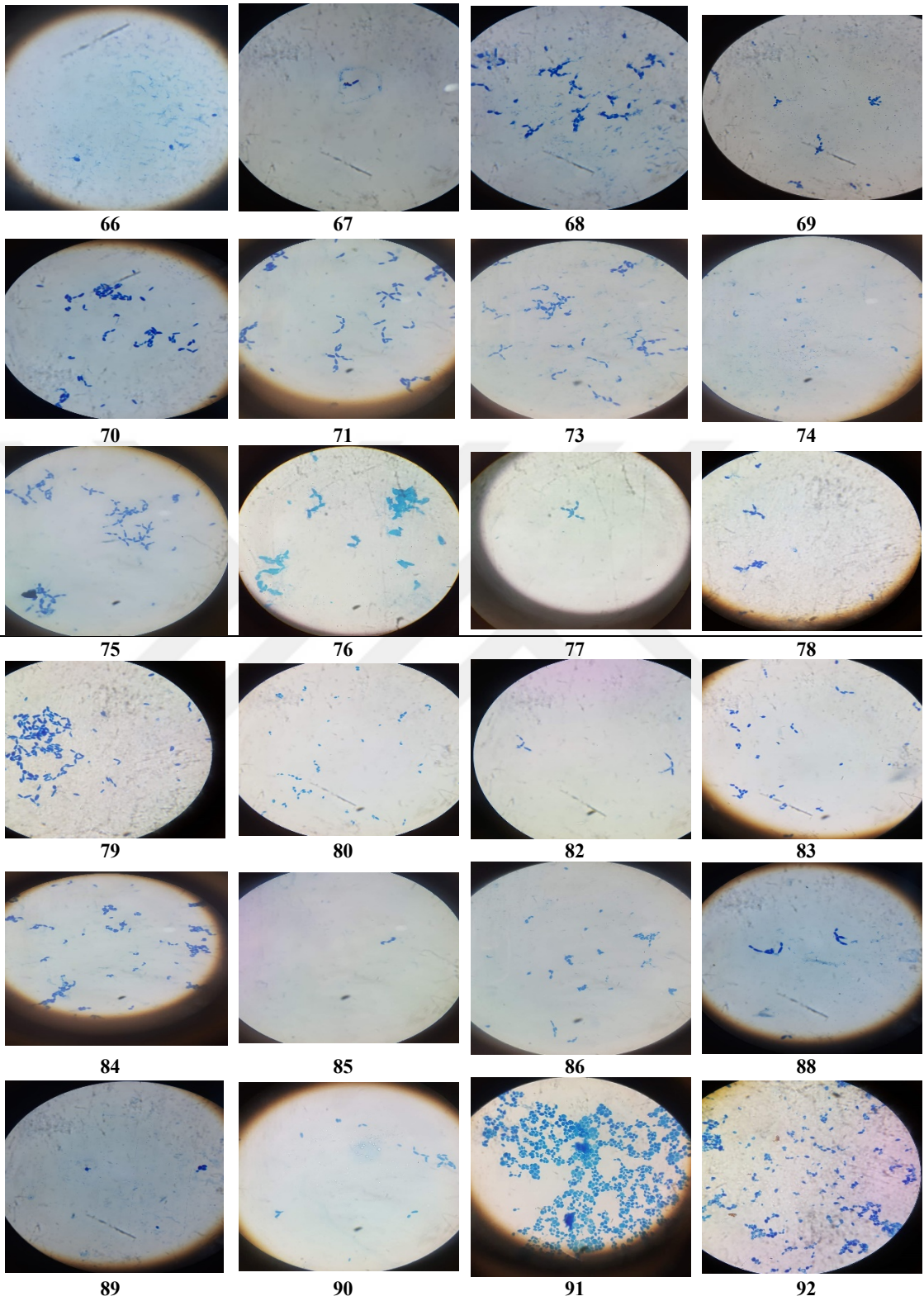
62

63

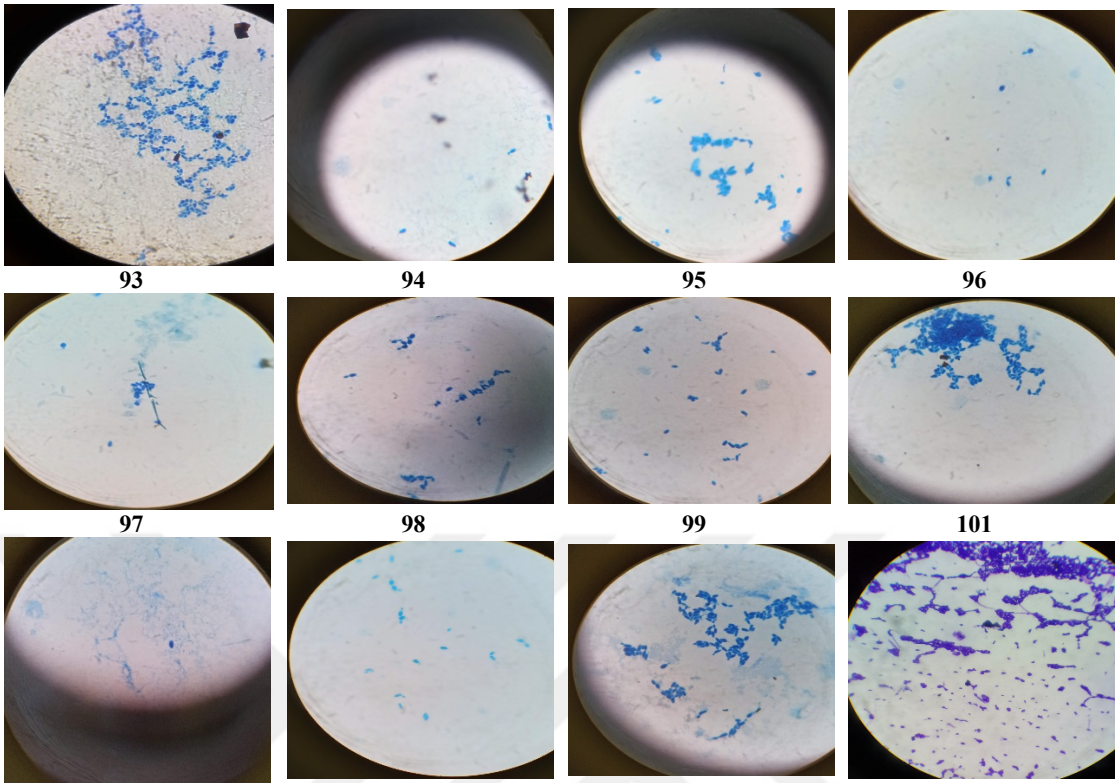
64

65

Ek 1. (Devamı)



Ek 1. (Devami)



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Pınar Cumur

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Gıda Mühendisliği	Devam ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Fakültesi / Beslenme ve Diyetetik	2011
Lise	Kdz. Ereğli Süper Lisesi	2006

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer	Görev
2011-Halen	Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Diyetisyen

YABANCI DİL

İngilizce