



**BEYAZ PEYNİRDEN İZOLE EDİLEN *CRYPTOCOCCUS HUMICOLA*  
 SUŞLARININ STARTER AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dilek Uzundağ<sup>1\*</sup>, Selda Arslan<sup>1</sup>, Zehranur Yüksekdağ<sup>1</sup>,  
 Yavuz Beyatlı<sup>1</sup>, Abdulla Sakallı<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Abd, Ankara, Türkiye  
<sup>2</sup>İskenderun Teknik Üniversitesi, Endüstri Mühendisliği Bölümü, İskenderun, Hatay, Türkiye

Geliş / Received: 04.06.2020; Kabul / Accepted: 09.08.2020; Online baskı / Published online: 15.08.2020

Uzundağ, D., Arslan, A., Yüksekdağ, Z., Beyatlı, Y., Sakallı, A. (2020). Beyaz peynirden izole edilen *Cryptococcus humicola* suşlarının starter aktiviteilerinin araştırılması. GIDA (2020) 45(5) 872-880 doi: 10.15237/gida.GD20076

Uzundağ, D., Arslan, A., Yüksekdağ, Z., Beyatlı, Y., Sakallı, A. (2020). Investigation of starter activity of the yeast species *Cryptococcus humicola* isolated from white cheese. GIDA (2020) 45(5) 872-880 doi: 10.15237/gida.GD20076

**ÖZ**

Starter kültür, kontrollü koşullarda standart kültür elde etmek için endüstride kullanılan mikroorganizmalardır. Mayalar destekleyici kültürler olarak fermente ürünlerin olgunlaşmasında, aroma ve kıvamın gelişmesinde katkıda bulunmaktadır. *Cryptococcus humicola* suşları birçok peynir çeşidinde doğal olarak bulunmaktadır. Bu mayanın gıda endüstrisinde kullanılabilmesi için starter özelliklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada peynirden izole edilen 8 *Cryptococcus humicola* maya izolatlarının bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Maya izolatlarının proteolitik ve lipolitik aktivite, maya içeren steril disklerin etrafında oluşan şeffaf zonlara göre tayin edilmiştir. Mayaların proteolitik aktivite sonucunda oluşturdukları şeffaf zon çaplarının büyüklükleri 10.23-17.40 mm arasında ölçülürken, lipolitik aktivite sonucunda oluşan zon çapları ise 9.12-12.44 mm arasında değişmiştir. 8 maya izolatından 2 izolat (*C. humicola* MBP2 ve MBP3) üreyi hidroliz edemezken, 1 izolat (*C. humicola* MBP7) üreyi güçlü hidroliz etmiştir. Farklı tuz konsantrasyonlarında maya izolatlarının (MBP4 ve MBP6 izolatları hariç) en yüksek canlılığın %4 NaCl konsantrasyonunun olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, *C. humicola* MBP4 ve MBP6 izolatları hariç diğer izolatların 37°C'de daha yüksek canlılık değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Mayaların amilaz enzim aktiviteilerinin 8.87-14.54 mm arasında değişmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Maya, starter aktivite, proteolitik aktivite, lipolitik aktivite, *Cryptococcus humicola*.

**INVESTIGATION OF STARTER ACTIVITY OF THE YEAST SPECIES  
*CRYPTOCOCCUS HUMICOLA* ISOLATED FROM WHITE CHEESE**

**ABSTRACT**

Starter culture are microorganisms used in industry to achieve standard culture under controlled conditions. Yeasts as supportive cultures contribute to the development of ripening, aroma and

\* Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author

✉ dilekuzundag@gmail.com

☎ (+90) 507 881 4885

Dilek Uzundağ; ORCID no: 0000-0002-6256-574X

Selda Arslan; ORCID no: 0000-0002-1711-8991

Zehranur Yüksekdağ; ORCID no: 0000-0002-0381-5876

Yavuz Beyatlı; ORCID no: 0000-0002-0458-4475

Abdulla Sakallı; ORCID no: 0000-0002-2488-7318

consistency of fermented products. *Cryptococcus humicola* strains are naturally found in many cheese varieties. To use this yeast in the food industry, it is very important to determine the starter properties. In this study, it was aimed to determine some starter culture properties of 8 *Cryptococcus humicola* yeast isolates isolated from cheese. Proteolytic and lipolytic activities of these isolates were determined according to clear zones around the sterile discs. The diameters of clear zones of the yeasts were measured in the range of 10.23 mm to 17.40 mm at proteolytic activity whereas zone diameters were measured in the range between 9.12 mm and 12.44 mm at lipolytic activity. While two isolates (*C. humicola* MBP2 and MBP3) from eight yeast isolates could not hydrolyze urea, one isolate (*C. humicola* MBP7) effectively hydrolyzed urea. At different salt concentrations, yeast isolates (except MBP4 and MBP6 isolates) were found to have the highest viability at 4% NaCl concentration. Except for *C. humicola* MBP4 and *C. humicola* MBP6 isolates, other isolates had higher viability values at 37°C. The amylase enzyme activity zone diameters of the yeasts were measured between 8.87-14.54 mm.

**Keywords:** Yeast, starter activity, proteolytic activity, lipolytic activity, *Cryptococcus humicola*.

## GİRİŞ

Beslenme alışkanlıklarımızda süt ve süt ürünleri önemli bir yer tutmaktadır. Dünyada süt ürünleri içinde en fazla tüketilen süt ürünü ise peynirdir (Eroğlu ve Özcan, 2018). Peynir içerdiği yüksek biyolojik değerli proteinler, vitaminler ve mineraller bakımından besin değeri bakımından oldukça zengindir. Dünyada ve ülkemizde hem peynir üretimi hem de peynir tüketimi gün geçtikçe artmaktadır (Kara ve Akkaya, 2015).

Starter kültürler çeşitli süt ürünlerinin üretiminde lezzet, yapı, tekstür ve görünüm bakımından arzu edilen nitelikleri kazandırmak amacıyla, süte katılan seçilmiş mikroorganizmaların kültürleri olarak tanımlanırlar. Endüstriyel boyutta Beyaz peynir üretiminde ise pastörize inek, koyun ve keçi sütleri kullanılır. Süte uygulanan pastörizasyon işlemleri, patojen ve zararlı mikroorganizmaların yanında mevcudiyeti arzu edilen ve starter kültür olarak bilinen mikroorganizmaların çoğunun da tahrip olmasına neden olur. Bu nedenle uygulanan ısı işlemleri sonrası arzu edilen tat ve aroma da peynir elde edebilmek için belirli mikroorganizmaların saf veya karışık kültürlerinin kullanımı teknolojik bir zorunluluk haline gelir (Tekinşen, 2000; Oğuz ve Andiç, 2020). Ancak ülkemizde endüstriyel boyutta starter kültür üretiminin olmaması, peynir üreticilerinin dışa bağımlı hale getirmiştir bu da ülkemizdeki starter kültür çalışmalarına olan ilgiyi artırmaktadır (Soran ve Çelik, 2018).

Peynir çeşitlerine özgü aromayı, tadı ve yapısal özellikleri belirleyen ise peynir mikrobiyotasındaki mikroorganizmalardır. Peynir üretiminden

peynirin olgunlaşmasına kadar geçen sürede kullanılan mikroorganizmalar birincil starter kültürler ve ikincil starter kültürleri olarak gruplandırılırlar. Birincil starter kültürler arasında çoğunlukla laktik asit bakterileri yer alır ve bu bakteriler laktozdan laktik asit üretimi ile peynirin karakteristik tadı için gerekli bir takım biyokimyasal olaylardan sorumludurlar (Irlinger vd., 2017). İkincil starter kültürler ise mayalar, küfler, propiyonik asit bakterileri, korineformlar, stafilokoklar ve starter olmayan laktik asit bakterileridir (Gürsoy ve Türkmen, 2018). Oldukça heterojen olan bu grup peynirin olgunlaşma sürecinde aktif rol oynamaktadır (Picon, 2018). Peynirin olgunlaşma aşamasında ikincil starter kültürlerin aktiviteleri, peynirin olgunlaşma süresini, endüstriyel boyutta üretilen peynirin tipini ve en önemlisi oluşan peynirin lezzetini etkilemektedir (Cotter ve Beresford, 2017; Lee vd., 2018; Oğuz ve Andiç, 2020).

Peynir tipi ile yakın ilişkili olan mayalar, peynirlerin sert veya yarı sert olması için kullanılır. Mayalar kalıplardan çıkarılan taze peynirlerin üzerine çözelti halinde püskürtülerek ya da istenilen peynir tipine göre kazanlarda çiğ süte değişen oranlarda eklenir (De Vuyst vd., 2016; Karaman vd., 2018). Tüm bunlara ilaveten mayaların değişik tipteki peynirlerin mikrobiyotasında önemli bir yere sahip olması destek kültür olarak kullanılabilmesi açısından dikkat çekicidir (Suzzi vd., 2001).

Mayaların olgunlaşma süresince başlıca katkısı ise özellikle ortam pH'ını düşüren laktik asidi kullanarak bakteriyel gelişmeyi desteklemek ve

olgunlaşmanın ikinci kademesini başlatmaktadır. Mayaların olgunlaşma süresince peynir pH'sında meydana getirdiği bu değişiklik sadece laktik asit kullanımı ile ilgili olmayıp, proteolizden kaynaklanan alkali metabolizma ürünleri de pH'yı düşürebilmektedir (Suzzi vd., 2001; Rossouw vd., 2016). Bunun yanında mayaların peynir lezzet ve aromasına katkıları, bazı türlerin genellikle laktozu fermente etme ve bunun sonucu olarak etanol, asetaldehit, etil asetat ve etil butirat oluşturmalarına bağlanabilir. Bazı mayaların yüksek lipolitik ve proteolitik aktiviteye sahip olmaları, aminoasit, yağ asitleri ve esterler gibi aroma oluşumuna öncülük eden maddelerin meydana gelmesinde büyük rol oynamaktadır. Bununla birlikte mayalar, diğer mikroorganizmalar için gerekli B vitaminleri; pantotenik asit, niasin, riboflavin ve biotin gibi bazı gelişme faktörlerini salgılayarak gelişimi desteklemektedir (Ferreira ve Viljoen, 2003).

Mayaların enzimatik özellikleri, genellikle proteinaz ve peptidazların aktiviteleri sonucu meydana gelen acı peptitlerin parçalanmasında da önemli rol oynamaktadır. Esas itibarıyla, acı peptitlerin daha küçük moleküllü peptitlere ve aminoasitlere parçalanmasında mayaların aminopeptidazları ve karboksipeptidazları katkıda bulunmaktadır (Wyder, 2001). Kısaca mayaların peynir üretiminde doğal veya kontrollü destek kültür olarak kullanımı ile ilgili özellikler; laktoz fermantasyonu, aroma bileşenleri oluşumu, laktat asimilasyonu, birincil starter ile olumlu interaksyonu, proteolitik ve lipolitik özellikler olarak özetlenebilir (Fröhlich-Wyder vd., 2019).

Starter kültür olarak en büyük ve kıymetli grubu oluşturan mikroorganizmalar arasında laktik asit bakterileri (LAB) kullanılmaktadır. Gıda kaynaklı çoğu LAB, GRAS (Genel Olarak Güvenilir) statüsünde olmasına rağmen, LAB arasında fazlaşan antibiyotik dirençlilik ve bu dirençliliğin patojen bakterilere aktarılabiliyor olması, LAB'ın özellikle ısı işlem yapılmadan tüketilen gıdalarda starter kültür olarak kullanılmasını sınırlamaktadır (Ksonzeková vd., 2016). Bu nedenle peynirlerden izole edilen mayaların starter kültür olarak değerlendirilmeleri üzerinde araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır.

Bu amaçla bu çalışmada, beyaz peynirden izole edilen 8 *Cryptococcus humicola* maya izolatının proteolitik aktivite, lipolitik aktivite, üreyi hidroliz etme yeteneği, farklı tuz konsantrasyonlarında ve sıcaklık derecelerinde canlılık miktarları ve amilaz enzim aktivitesi gibi bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Çalışmada Kullanılan Mayalar

Bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda daha önce yürütülmüş, Abudureyimu MAIHEBUBAI'nın Doktora Tezi kapsamında kullanılmış olan Beyaz peynirden izole edilen ve API 32C (bioMerieux) sistemi ile biyokimyasal tanıları yapılmış 8 maya izolatu kullanılmıştır.

### Mayaların Proteolitik, Lipolitik ve Amilaz Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Mayaların proteolitik, lipolitik (Piotr vd., 2005) ve amilaz enzim aktivitelerinin belirlenmesinde (Kim vd., 2004) spot agar yönetimi kullanılmıştır. Mayalar YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose) sıvı besiyerinde 37°C de 48 saatte aktifleştirilmiştir. Aktif kültürlerin optik yoğunlukları spektrofotometre de (Hithachi, Japonya) 600 nm'de 0.6'ya ayarlanmıştır. Proteolitik aktivitenin belirlenmesinde Skim milk agar (SMA) (3 g beef ekstrakt, 5 g pepton, 10 g skim milk, 15 g agar, 500 mL saf su), lipolitik aktivitenin belirlenmesinde Tribütirin agar (TA) (5 g pepton, 3 g yest ekstrakt, 10 mL Tribütirin, 15 g agar ve 1000 mL saf su) ve amilaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde ise Nişasta hidroliz agar (NA) (5 g beef ekstrakt, 20 g çözülebilir nişasta, 10 g triptoz, 5 g NaCl, 15 g agar, 1 L saf su) kullanılmıştır. Sterilizasyondan sonra Petri kutularına dökülen besiyerlerinin üzerine 10 µL aktif maya kültürlerini içeren 6 mm çaplı steril diskler yerleştirilmiş ve 30°C de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Diskler etrafında oluşan zonların çapı dijital kumpas ile ölçülmüştür. Proteolitik ve lipolitik aktivite de oluşan zon çapları d<2 mm: Enzim aktivitesi düşük, d= 2-10 mm: Enzim aktivitesi orta, d>10 mm: Enzim aktivitesi yüksek olarak değerlendirilmiştir. Amilaz enzim aktivitesinde

zonların daha berrak görünmesini sağlamak amacıyla besiyerine birkaç damla Gram iyot çözeltisi (%0.5 iyot, 1 g potasyum iyodür, pH 7) ilave edilmiştir.

**Mayaların Üreyi Hidroliz Edebilme Yeteneği**  
YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose) sıvı besiyerinde aktifleştirilen ve optik yoğunlukları spektrofotometre'de 600 nm de 0.6'ya ayarlan kültürlerin üre hidroliz etme yetenekleri Üre besiyerinde (20 g üre, 5 g NaCl, 2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g pepton, 1 g glukoz, 12 mL fenol kırmızısı, 2 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 100 mL saf su karıştırılarak pH 7'ye ayarlanmıştır) belirlenmiştir. Besiyeri renginin sarıdan pembeye dönüşmesi üreaz pozitif olarak yorumlanmıştır (Kim vd., 2004).

#### **Mayaların Farklı Tuz Konsantrasyonlarında ve Farklı Sıcaklıklarda Canlılıkları**

Mayaların farklı tuz konsantrasyonlarında (%4, %6, %10 NaCl) (Abdel Nasser ve Moghaz, 2010) ve farklı sıcaklıklarda (30°C ve 37°C) (Barnett vd., 2000) canlı mikroorganizma sayıları seri dilüsyonlar yapılarak log KOB/mL cinsinden hesaplanmıştır (Halkman, 2019).

#### **İstatistiksel Analizler**

Tüm çalışmalar, her çalışma için paralel sayısı değişmekle birlikte genel olarak üç paralelli ve iki tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler bu tekrarların ortalaması  $\pm$  standart sapma (SD) şeklinde verilmiştir. Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan istatistiksel analizlerde SPSS Inc. Software (22.0 Versiyonu; SPSS Inc., Chicago, IL) kullanılmıştır. Mayaların proteolitik ve lipolitik aktivitelerinin zon çapları arasında korelasyon olup olmadığı korelasyon testi ile analiz edilmiştir. Mayaların farklı tuz konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları arasındaki farklılığın anlamlı olup olmadığı LSD ve Tukey ( $P < 0.05$ ) testleri ile analiz edilmiştir. 8 maya izolatının iki farklı sıcaklıkta canlı hücre sayıları arasındaki farklılığın anlamlı olup olmadığı t-Testi ( $P < 0.05$ ) ile analiz edilmiştir.

#### **SONUÇ VE TARTIŞMA**

Artan nüfus, kırsaldan kente göç ve sanayileşme gibi faktörler endüstriyel gıda üretimini kaçınılmaz kılmıştır. Endüstriyel ölçekte fermente gıda

üretiminde kaliteyi her zaman aynı ölçüde koruyabilmek geleneksel yöntemlerle mümkün değildir. Bu amaçla, fermente gıda üretiminde hem standartlaşmaya hem de kalite kontrolüne olanak tanıyan starter kültürlerin kullanılması bir zaruriyettir (Kieliszek vd., 2017).

Starter kültürlerin temel işlevleri arasında; asit oluşturma, proteoliz ve lipoliz, lezzet ve aroma bileşiklerinin oluşumunda rol alması ve zararlı bakterilerin inhibisyonu sayılabilir (Andrade vd., 2017). Mayaların starter aktivite özelliklerinden dolayı endüstride kullanımlarına önem verilmektedir (Andrade vd., 2017). Yapılan araştırmalara göre peynirlerden izole edilen maya türlerinin çeşitlilik gösterdiği görülmektedir. Buna rağmen aralarında *Kluyveromyces marxianus*, *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica*, *Trichosporon cutaneum* (beigelü), *Rhodotorula mucilaginosa*, *Torulasporea delbrückii*'nin bulunduğu 10 tür en sık rastlanılan mayalardır (Suzzi vd., 2001). Peynirlerde tuzlamayı takiben maya biyotasında, *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus* ve *T. delbrückii* gibi laktoz pozitif mayalar hâkim olmaktadır. Olgunlaşma koşulları; özellikle de sıcaklık ve bağıl nem, peynirdeki maya biyotası kompozisyonunu önemli ölçüde etkilemektedir (Wyder, 2001). Asit üretimine dâhil olmayan ancak, olgunlaşma aşamasında yardımcı destek mikroorganizma olarak mayalar (*K. marxianus*, *K. lactis*, *D. hansenii*, *Geothricum candidum*, *Dipodascus capitatus*, *S. cerevisiae*, *S. unisporus*, *S. exiguus*, *Candida catenulata*, *C. intermedia*) oldukça önemli bir role sahiptir (Oğuz ve Andiç, 2019).

Bazı mayaların yüksek lipolitik ve proteolitik aktiviteye sahip olmaları, aminoasit, yağ asitleri ve esterler gibi aroma oluşumuna öncülük eden maddelerin meydana gelmesinde büyük rol oynamaktadır (Azad ve Tomar, 2016). Önemli starter kültür özelliklerinden biri proteolitik aktivite olduğu için bu çalışmada 8 *Cryptococcus humicola* maya izolatının proteolitik aktiviteleri agar spot yöntemi ile belirlenmiştir. Mayaların proteolitik aktiviteleri sonucunda oluşturdukları en büyük şeffaf zon çapı *C. humicola* MBP7'de (17.40 mm) tespit edilirken, en küçük şeffaf zon çapı *C. humicola* MBP3'te (10.27 mm) belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. İzolatların proteolitik, lipolitik, amilaz enzim aktiviteleri ve üreyi hidroliz edebilme yetenekleri

Table 1. Proteolytic, lipolytic, amylase enzyme activities, and ability to hydrolyze urea of isolates

İzolat	Proteolitik aktivite zon çapı (mm)	Lipolitik aktivite zon çapı (mm)	Amilaz enzim aktivite zon çapı (mm)	Üreyi hidroliz edebilme yetenekleri
Isolates	Proteolytic activity zone diameter (mm)	Lipolytic activity zone diameter (mm)	Amylase enzyme activity zone diameter (mm)	Ability to hydrolyze urea
<i>C. humicola</i> MBP1	13.22±0.32	10.47±0.20	14.54±1.88	Zayıf (Weak)
<i>C. humicola</i> MBP2	16.20±0.10	11.05±0.73	12.43±0.22	Yok (No Ability)
<i>C. humicola</i> MBP3	10.23±0.01	10.28±0.83	13.09±0.68	Yok (No Ability)
<i>C. humicola</i> MBP4	13.80±0.83	9.96±0.32	13.49±0.55	Zayıf (Weak)
<i>C. humicola</i> MBP5	12.90±0.45	9.12±1.02	10.96±0.64	Zayıf (Weak)
<i>C. humicola</i> MBP6	11.86±0.20	10.68±1.15	8.87±0.19	Zayıf (Weak)
<i>C. humicola</i> MBP7	17.40±0.08	12.44±1.21	12.78±1.09	Güçlü (Strong)
<i>C. humicola</i> MBP8	11.98±0.16	9.84±0.99	12.42±0.51	Zayıf (Weak)

Mayaların peynir mikrobiyotasında önemli bir yere sahip olduğu, proteolitik ve lipolitik enzimleri, alkali ürünler üretimi ve peynir kitlesine penetrasyonları ile olgunlaşmada önemli bir rol üstlenmektedirler (Azad ve Tomar, 2016; Kieliszek vd., 2017).

Sütün yapısında bulunan lipaz enzimi ile starter kültür olarak kullanılan mayaların ürettiği ekstraselüler lipaz enzimleri vasıtasıyla, sütün temel bileşenlerinden olan trigliseritler, gliserol ve serbest yağ asitlerine hidroliz olmaktadır (Budak vd., 2016). Serbest yağ asitleri de peynirin tat ve aroma gelişimine yardımcı olmaktadır. Bir çalışmada yardımcı starter kültür olarak kullanılan mayaların proteolitik ve lipolitik aktiviteleri sonucu peynirde tat ve koku oluşturduğu belirtilmiştir (Carrasco vd., 2016). Peynir olgunlaşması bakımından katkısı olabilecek

mayaların lipolitik özellikler taşıması peynirin lezzeti açısından önemli olduğundan çalışmamızda, mayaların lipolitik aktiviteleri mayaları içeren disklerin etrafında oluşan şeffaf zonlara göre tayin edilmiştir. Sekiz maya izolatında en büyük zon çapı 12.44 mm ile *C. humicola* MBP7'da tespit edilirken, en küçük şeffaf zon çapı 9.12 mm ile *C. humicola* MBP5 mayasında bulunmuştur. Mayaların proteolitik ve lipolitik aktivite zon çapları arasında korelasyon olup olmadığı Pearson Korelasyonuna göre tespit edilmiş ve bir korelasyon ( $r=0.661$ ) olduğu tespit edilmiştir.

Feta peyniri salamurasından izole edilen *S. cerevisiae* suşlarının *D. hansenii* suşlarından daha fazla lipolitik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Her iki mikroorganizmanın da lipolitik özellikleri bakımından Feta peyniri olgunlaşmasına katkıda bulunabilecekleri savunulmuştur (Bintsis vd.,

2003). Guerzoni vd., (2001) çeşitli kaynaklardan izole edilen 12 *Yarrowia lipolytica* türünün lipolitik aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Çalışmalarda elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, farklı maya türlerinin farklı düzeylerde proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip olabilecekleri ve bununda peynirlerin olgunlaşmasında katkısı olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Mayalar üreyebilmek için azot kaynağına ihtiyaç duyarlar. Fermantasyon sırasında arjinin aminoasidi yan ürün olarak üreyi oluşturur. Üre, azot kaynağı açısından zengindir ve mayalar için de önemli azot kaynağıdır. Çünkü mayaların gelişimi için azot kaynağının azalmaması gerekir (Wu vd., 2017). Üre, bazı mikroorganizmalar tarafından hidroliz edilerek amonyak ve karbamata dönüşür. Amonyak alkali madde olduğundan ortamın asitliğini azaltarak pH'nın yükselmesi açısından önemlidir (Escribano vd., 2017). Araştırmada aktif maya kültürleri %2 oranında üre içeren YEPD besiyerine inoküle edilmiştir. Besiyeri renginin sarıdan pembeye dönüşümü üre hidroliz yeteneği olarak değerlendirilmiştir. Yapılan bu çalışmada 8 maya izolatının üreyi hidroliz edebilme yeteneği araştırılmış ve çalışmada kullanılan suşlardan *C. humicola* MBP2, MBP3'ün üreyi hidroliz edebilme yeteneği yok iken, MBP1, MBP4, MBP5, MBP6, MBP8 izolatlarının üreyi hidroliz edebilme yeteneğinin zayıf olduğu, *C. humicola* MBP7'nin ise üreyi hidroliz edebilme yeteneğinin güçlü olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). Mayaların üreyi hidroliz etme yeteneği ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Tuza dirençli olarak canlılığını sürdüren mayalar peynir etrafında mikrofilm tabakası oluştururlar ve peynirin ekosistem içerisinde gelişimlerini sağlayarak peynirin tat ve aromasına katkı sağlarlar (Asada vd., 2020). Bu çalışmada 8 maya izolatının farklı NaCl konsantrasyonlarında (%0, %4, %6, %10) canlı hücre sayıları tespit edilmiştir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak canlılık miktarlarındaki değişimler Çizelge 2'de verilmiştir. Mayaların kontrol besiyerinde (YEPD) canlı hücre sayıları 3.10 log KOB/mL (MBP6) ile 2.71

log KOB/mL (MBP2) arasında olduğu tespit edilmiştir. Farklı tuz konsantrasyonlarında mayaların canlı hücre sayıları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $P>0.05$ ) Mayaların en yüksek canlılık gösterdikleri tuz konsantrasyonu %4 iken, en düşük canlılık gösterdikleri tuz konsantrasyonu ise %10'dur. Mayalar %4'lük NaCl'ü YEPD besiyerinde (MBP4 ve MBP6 izolatları hariç kontrol besiyerinde daha iyi gelişme göstermişlerdir) daha iyi gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir.

Hücredeki neredeyse tüm biyokimyasal süreçleri etkileyen termodinamik parametrelerden biri sıcaklıktır. Bu parametre canlı hücrelerin ölçülmesi için araştırma grupları tarafından kabul edilmiştir. Sıcaklığın ayarlanması, mikroorganizmaların çoğalmasını engellemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Liu vd., 2017). Mayalar için sıcaklık, beslenme ve gelişme açısından oldukça önemlidir. Sıcaklık enzim aktivitesini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Sıcaklıkta meydana gelecek değişiklik oluşan metabolizma ürünlerini de etkilemektedir (Molon ve Zdrag-Tecza, 2016). Bu çalışmada *C. humicola* türüne ait 8 maya kültürünün 30°C ve 37°C de canlı hücre sayıları Çizelge 2'de verilmiştir. *C. humicola* türüne ait 8 izolatın hepsi her iki sıcaklık derecesinde de farklı miktarlarda canlılık gösterirken, izolatlar içinde *C. humicola* MBP4 izolatının 30°C'de en yüksek canlılığa (3.95 log KOB/mL) sahip olduğu görülmektedir. MBP4 ve MBP6 izolatları hariç diğer izolatların 37°C'de daha iyi gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir. Mayaların her iki sıcaklıktaki canlı hücre sayıları arasındaki farklılığın ( $P=0.00$ ) anlamlı olduğu belirlenmiştir.

Mayaların soğuğa adaptasyonu, mevcut karbon kaynaklarını kullanmak için hücre dışı hidrolitik enzimlerin üretilmesi ile mümkün olmaktadır ve bu yolla besin geri dönüşümü ve organik madde mineralizasyonuna katkıda bulunmaktadır (Baeza vd., 2017). Amilazlar, gıda, deterjan, çamaşırhane, tekstil, unlu mamuller ve biyoyakıtlar gibi endüstrilerde kullanım için büyük potansiyele sahiptir. Özellikle gıda sektöründe amilaz enzim aktivitesine sahip mikroorganizmaların belirlenmesi çok önemlidir.

Mayalarda bu alanda uygun adaylar olarak görülmektedirler. Mayaların amilaz enzim aktivitesi, mayanın fermentasyon için ihtiyaç duyduğu şekerin oluşmasını, ekmeğin oluşmasını sağlayan mayalarda hamurun kıvamlı olmasını sağlamaktadır (Carrasco vd., 2016; Selwal vd., 2017). Bu çalışmada, mayaların amilaz enzim aktivitesi araştırılmasında agar spot yönetimi

kullanılarak mayaların steril disk etrafında oluşturduğu berrak zon çapı ölçülmüştür ve Çizelge 1’de verilmiştir. Yüksek amilaz aktivitesi sahip olan izolatlar olarak *C. humicola* MBP1 (14.535 mm), *C. humicola* MBP4 (13.49 mm), *C. humicola* MBP3 (13.09 mm) ve *C. humicola* MBP7 (12.78 mm) tespit edilmiştir.

Çizelge 2. İzolatların farklı tuz konsantrasyonunda ve farklı sıcaklıklarda canlı hücre sayısı (log KOB/mL)

Table 2. The number of live cells of the isolates at different salt concentrations and temperatures (log CFU/mL)

İzolatlar Isolates	Canlı hücre sayısı (log KOB/mL) Live cell count (log CFU/mL)				Canlı hücre sayısı (log KOB/mL) Live cell count (log CFU/mL)	
	Tuz Salt				Sıcaklık Temperature	
	Kontrol (YPD) Control	%4 NaCl	%6 NaCl	%10 NaCl	37°C (Kontrol) (Control)	30°C
MBP1	2.88±0.40	3.09±1.08	2.88±0.07	2.69±0.53	3.31±0.03	3.24±0.03
MBP2	2.71±0.70	3.26±1.80	2.91±0.76	2.59±0.07	3.20±0.21	2.97±0.53
MBP3	3.04±0.40	3.17±0.73	2.82±0.83	2.50±0.21	3.25±0.95	3.23±0.07
MBP4	2.89±1.00	2.77±0.33	2.73±0.40	2.63±1.55	3.32±0.70	3.95±0.47
MBP5	2.87±0.66	3.18±0.61	2.81±1.14	2.62±0.98	3.27±0.61	3.20±0.73
MBP6	3.10±0.10	3.00±0.40	2.98±0.66	2.64±0.53	3.20±0.09	3.26±0.12
MBP7	2.87±0.66	2.89±0.48	3.14±1.47	2.66±1.90	3.33±0.60	2.82±0.66
MBP8	3.06±0.33	3.07±1.8	2.51±1.21	2.60±0.03	3.17±0.07	3.04±0.87

Yapılan literatür taramalarında *C. humicola* türünde proteolitik aktivite, lipolitik aktivite, üreyi hidroliz etme yeteneği, farklı tuz konsantrasyonlarında ve sıcaklık derecelerinde canlılık miktarları ve amilaz enzim aktivitesi ile ilgili herhangi bir literatür bilgisine rastlanılmamıştır ve bu maya türünün ülkemizde de dâhil olmak üzere starter kültür olarak kullanımına yönelik araştırma yapılmamıştır. *Cryptococcus* cinsinin bilinen ve tanımlanmış 34 türü vardır ve hemen hemen hepsi (*C. neoformans*, *C. albidus*, *C. laurentii* ve *C. curvatus* gibi) klinik olarak izole edilmiştir (Fell ve Statzell-Tallman, 1998). Çalışmamızda Beyaz peynirden *C. humicola*’nın izole edilmesinin nedeninin ya süt kaynağından peynirin olgunlaşması aşamasına kadar geçen süre içerisindeki bulaştan dolayı ya da

çevresel etkilere bağlı olarak bulaşması ile izole edilmiş olabileceğini düşünmekteyiz. Ülkemizdeki süt sağımı koşulları ve peynir üretimindeki kontaminasyonlar göz önüne alındığında *C. humicola*’nın varlığının normal olduğunu düşündürmüştür.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

#### YAZAR KATKILARI

YB ve ZY çalışmayı tasarladı. SA ve DU analizleri gerçekleştirdi. DU, ZY ve AS makaleyi yazdı. HİK ve ÖŞ makalenin son halini okudu ve onayladı.

## KAYNAKLAR

- Abdel Nasser, A., El- Moghaz, (2010). Comprative study of salt tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia pastoris* yeast strains. *Adv Biol*, 1(1):169-176.
- Andrade, R. P., Melo, C. N., Genisheva, Z., Schwan, R. F. and Duarte, W. F. (2017). Yeasts from Canastra cheese production process: Isolation and evaluation of their potential for cheese whey fermentation. *Food Res Int*, 91, 72-79.
- Asada, C., Sasaki, C., Oka, C. (2020). Ethanol production from sugarcane bagasse using pressurized microwave treatment with inorganic salts and salt-tolerant yeast. *Waste Biomass Valor*, 11, 2001-2007.
- Azad, K., Tomar, R. (2016). Partial purification of histone H3 proteolytic activity from the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 33 (6), 217-226.
- Baeza M., Alcaíno J., Cifuentes V., Turchetti B., Buzzini P. (2017). Cold-active enzymes from cold-adapted yeasts. *Biotechnol Yeasts Filament Fungi*, 48 (6), 297-324.
- Barnett, J., A. Payne, R.W. and Yarrow, D. (2000). Yeasts: Characteristics and identification, (3<sup>rd</sup> ed.), Cambridge, United Kingdom. Cambridge University Press.
- Bintsis, T. and Robinson, R. K. (2004). A study of the adjunct cultures on the aroma compounds of Feta-type cheese. *Food Chem*, 88(3), 435-441.
- Budak, Ş., Wiebenga, A., Bron, P., Vries, R. (2016). Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese. *Int J Food Microbiol*, 237 (21), 17-27.
- Carrasco, M., Villarreal, P., Barahona, S., Alcaíno, J., Cifuentes, V., Baeza, M. (2016). Screening and characterization of amylase and cellulase activities in psychrotolerant yeasts. *BMC Microbiol*, 16 (21), 1-9.
- Cotter, P.D., Beresford, T.P. (2017). Microbiome Changes During Ripening. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P. Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 389-409.
- Darsanaki, R.K., Aliabadi, M.A. and Chakoosari, M.M.D., (2013). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria. *Sci J Microbiol*, 2(11), 201-206.
- De Vuyst L, Harth H, Van Kerrebroeck S, Leroy F. (2016). Yeast diversity of sourdoughs and associated metabolic properties and functionalities. *Int J Food Microbiol* 239, 26–34.
- Demirgöl, F., Tuncer, Y. (2017). Detection of antibiotic resistance and resistance genes in *Enterococci* isolated from Sucuk, a traditional Turkish dry-fermented sausage. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 37(5), 670-681.
- Eroğlu, E., Özcan, T. (2018). Sütün enzimatik koagülasyonu ve peynir üretiminde bitkisel pıhtılaştırıcılar. *Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 32(2), 201-214.
- Escribano, R., González-Arenzana, L., Garijo, P., Berlanas, C., López-Alfaro, I., López, R., Gutiérrez, A.R., Santamaría, P. (2017). Screening of enzymatic activities within different enological non-*Saccharomyces* yeasts. *J Food Sci Technol* 54, 1555–1564.
- Fell, J.W., Statzell-Tallman A. (1998). *Cryptococcus* V In: Kurtzman C.P. and Fell J.W. (eds), *The Yeasts—a Taxonomic Study*. 4th edn. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 742–767..
- Ferreira, A.D., Viljoen B.C. (2003). Yeasts as adjunct starters in matured Cheddar cheese, *Int J Food Microbiol*, 86(1-2), 131-140.
- Fröhlich-Wyder, M. T., Arias-Roth, E., Jakob, E. (2019). Cheese Yeasts. *Yeasts*, 36(3): 129-141. Doi: 10.1002/yea.3368.
- Guerzoni, M.E., Gobbetti, M., Lanciotti, R., Vannini, L. and Chaves, L.C. (2001). *Yarrowia lipolytica* as potential ripening agent in milk products, Yeasts in The Dairy Industry: Positive and Negative Aspects, Proceedings of International Dairy Federation Symposium, Copenhagen, 23-33.
- Gürsoy, A., Türkmen, N. (2018). Adjunct Cultures in Cheese Technology. In: *Microbial Cultures and Enzymes in Dairy Technology*, IGI Global, Hershey PA, the USA, pp. 234-256.
- Halkman, A.K. 2019. 08. Sayım Yöntemleri. Gıda Mikrobiyolojisi. Editör: A. Kadir Halkman. Başak



- Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd, Ankara, 648 s. ISBN: 978-605-245-683-5
- Irlinger, F., Helinck, S., Jany, J. L. (2017). Secondary and Adjunct Cultures. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P. Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 273-300.
- Kara, R., Akkaya, L. (2015). Afyon tulum peynirinin mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal özellikleri ile laktik asit bakteri dağılımlarının belirlenmesi. *Aku J. Sci. Eng*, 15: 1-6. Doi: 10.5578/fmbd.8717.
- Karaman, K., Sagdic, O., Durak, M.Z. (2018). Use of phytase active yeasts and lactic acid bacteria isolated from sourdough in the production of whole wheat bread. *Food Sci Technol*, 91, 557-567.
- Kieliszek, M., Kot, A., Bzducha-Wróbel, A., Błażej, S., Gientka, I., Kurcz, A. (2017). Biotechnological use of *Candida* yeasts in the food industry: A review. *Fungal Biol Rev*, 31 (4), 185-198.
- Selwal, K.K., Li, Y.F., Yu, Z. (2017) Functional display of amylase on yeast surface from *Rhizopus oryzae* as a novel enzyme delivery method. *Food Biotechnol*, 31(4), 233-244.
- Ksonzeková P, Bystrickýb P, Vlckováb S, Pätoprstýb V, Pulzováa L, Mudroňováa D, Kubaskováa T, Csanka T, L. (2016). Exopolysaccharides of *Lactobacillus reuteri*: Their influence on adherence of *E. coli* to epithelial cells and inflammatory response. *Carbohydr Polym*, 141: 10-19.
- Liu, J., Li, L., Zhou, L., Li, B., Xu, Z. (2017). Effect of ultrasound treatment conditions on *Saccharomyces cerevisiae* by response surface methodology. *Microb Pathog*, 111,497-502.
- Molon, M. and Zadrag-Tecza, R. (2016). Effect of temperature on replicative aging of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biogerontology*, 17(2), 347-357.
- Oğuz, Ş, Andiç, S. (2019). Peynir Üretiminde Kullanılan Starter Kültürler. *Gıda*, 44 (6), 1174-1196.
- Picon, A. (2018). Cheese Microbial Ecology and Safety. In: *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*, Papademas, P., Bintsis, T. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, pp. 71-99.
- Piotr, J., Maria, W., Barbara, A., Jozafe, C., Adam, M. (2005). Diversity of physiological and biochemical properties within yeast species occurring in rpkpol cheese. *Pol. J. Food Nutr. Sci*. 3:257-261.
- Wu, Q., Lin, J., Cui, K., Du, R., Zhu, Y., Xu, Y. (2017). Effect of microbial interaction on urea metabolism in Chinese liquor fermentation. *J Agric Food Chem*, 65(50), 11133-11139.
- Rossouw, D., Bauer, FF. (2016). Exploring the phenotypic space of non-*Saccharomyces* wine yeast biodiversity. *Food Microbiol*, 55:32-46.
- Russo, P., Fares, C., Longo, A., Spano, G., Capozzi, V. (2017). *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity as a protective starter culture for bread production. *Food*, 6 (12), 110.
- Soran, G. Ş., Çelik, Ş. (2018). Telemesi haşlanan geleneksel peynirlerimizin üretimine uygun doğal starter kültür geliştirilmesi. *HU. Müh. Derg.*, 3(1), 15-19.
- Kim, S., Kim, H., Chae, H. (2004). Selection of probiotic yeasts from soil, characterization and application for feed additives. *Agric. Chem Biotechnol*. 47(1), 20-26.
- Suzzi, G., Lanorte, M.T., Galagno, F., Andrighetto, C., Lombardi, A., Lanciotti, R., Guertzoni, M.E., (2001). Proteolytic, lipolytic, and molecular characterization of *Yarrowia lipolytica* isolated from cheese, *Int J Food Microbiol*, 69,69-77.
- Tekinşen, O.C. (2000). Süt Ürünleri Teknolojisi. Selçuk Üniv Basımevi, Konya.
- Wyder, M.T. (2001). *Yeasts in Dairy Products*, Swiss Federal Dairy Research Station, Fam Info No: 425, Liebefeld, CH-3003 Berne.