

MAYALARDA SAFRA TUZU TOLERANSININ BELİRLENMESİNDE FARKLI SICAKLIK VE BESİYERİ KULLANIMININ ETKİSİ

Bülent Çetin, Burcu Bazu Çırpıcı*

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

Geliş/Received: 02.08.2023; Kabul /Accepted: 14.09.2023; Online baskı /Published online: 21.09.2023

Çetin, B., Bazu Çırpıcı, B. (2023). Mayalarda safra tuzu toleransının belirlenmesinde farklı sıcaklık ve besiyeri kullanımının etkisi. GIDA (2023) 48 (5) 1004-1020 doi: 10.15237/ gida.GD23089

Çetin, B., Bazu Çırpıcı, B. (2023) The effect of different temperature and media usage on determining bile salt tolerance in yeasts. GIDA (2023) 48 (5) 1004-1020 doi: 10.15237/ gida.GD23089

ÖZ

Mikrobiyel karakterizasyonda deney şartları, sonuca etki eden önemli bir parametre olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada 50 maya izolatının, safra tuzuna toleransları 3 farklı sıcaklık (26°C, 30°C ve 37°C) ve 2 farklı besiyeri (Sabouraud-2% dekstroz broth, SDB ve Yeast Peptone Dextrose Broth, YPD) koşullarında araştırılmıştır. Genel olarak 26 ve 30 °C'de her iki besiyerinde de benzer gelişim gözlenmiştir. Fakat 37 °C'de suşların gelişimlerinde SDB besiyerinde %0.3, %0.5 ve %1 safra tuzunda sırasıyla dört, üç ve üç suş gelişirken, YPD besiyerinde dokuz suşun geliştiği belirlenmiştir. YPD ve SDB besiyerleri maya gelişimi açısından karşılaştırıldığında, YPD'nin farklı sıcaklık ve safra oranlarında daha fazla suşun gelişimini destekleyebildiği tespit edilmiştir. Çalışmada *Kazachstania unispora*'nın deney koşullarından en çok etkilenen tür olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Maya, safra tuzu, sıcaklık, YPD besiyeri, SDB besiyeri

THE EFFECT OF DIFFERENT TEMPERATURE AND MEDIA USAGE ON DETERMINING BILE SALT TOLERANCE IN YEASTS

ABSTRACT

In microbiological characterisation, experimental conditions emerge as a significant parameter affecting the result. In this study, the tolerance of 50 yeast isolates to bile salts was investigated under three different temperature conditions (26°C, 30°C, and 37°C) and two different media (Sabouraud-2% dextrose broth and Yeast Peptone Dextrose Broth, YPD). In general, similar growth was observed in both media at 26°C and 30°C. However, at 37°C, it was determined that four, three, and three strains developed in SDB medium with 0.3%, 0.5%, and 1% bile salt, respectively, while nine strains developed in YPD medium. When YPD and SDB media were compared in terms of yeast growth, it was observed that YPD supported the growth of a greater number of strains at different temperatures and bile ratios. The study determined that *Kazachstania unispora* was the species most affected by the experimental conditions.

Keywords: Yeast, bile salt, temperature, YPD medium, SDB medium

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: burcu.cirpici@atauni.edu.tr

☎: (+90) 442 231 1111

☎: (+90) 442 231 5878

Burcu Bazu Çırpıcı; ORCID no: 0000-0001-6353-4438

Bülent Çetin; ORCID no: 0000-0002-4679-2555

GİRİŞ

Mayalar, çevrede yaygın olarak bulunan tek hücreli ökaryotik mikroorganizmalardır. Aynı zamanda birçok geleneksel fermente yiyecek ve içeceğin üretiminde rol aldığı gibi gıda bozulmalarında da etkili olabilmektedir (Tamang ve Lama, 2022). Dünya genelinde gıda endüstrisinde hayvan ve insan tüketimi için en yaygın kullanılan mikroorganizma gruplarından biri mayalardır. Mayalar, sake, şarap, ekmek, kefir, elma şarabı ve bira gibi birçok yiyecek ve içeceğin üretiminde kritik bir rol oynar ve bazı peynirlerin olgunlaşma sürecinde de yer alır ve genellikle güvenli olarak kabul edilirler (Hsu ve Chou, 2021, Fernández-Pacheco vd., 2021). İnsan ve hayvan tüketiminde yer alan cinsler arasında *Saccharomyces* ve *Kluyveromyces* dikkat çekmektedir (Diosma vd., 2014). *Saccharomyces* cinsi, alkollü içeceklerde en yaygın bulunan maya türüyken *Kluyveromyces* cinsi fermente süt ürünlerinde baskın maya olarak bulunur (Tamang ve Lama, 2022).

Bir mikroorganizmanın probiyotik grubuna dahil olabilmesi için yüksek vücut sıcaklığı (37 °C), gastrointestinal sistemden geçerken pH'daki değişiklikler, mide suyuna maruz kalma, enzimler, oksijen konsantrasyonu, safra ve pankreas tuzları gibi konakçı organizmada hayatta kalmak için belirli kriterlerin üstesinden gelmesi gerekir (Fernandez-Pacheco vd., 2018). Gastrointestinal sisteme giren probiyotik adayları için in vitro seçim kriterleri arasında 37 °C'de büyüebilme, mide asiditesine ve safra tuzlarına karşı direnç, insan sindirim sisteminin elverişsiz koşullarında (örneğin sindirim enzimleri, pankreas suyu ve düşük pH) hayatta kalabilme, organik asitlerin varlığı gibi yerel strese karşı dirençli olabilme, mukus ve epitel hücrelerine patojenlerle rekabetçi yapışma, mikrobiyotayı düzenlemenin yanı sıra biyolojik fonksiyonları yerine getirerek konakçı ortamın sağlığına katkıda bulunabilme, patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite ve safra tuzlarını hidrolize etme kapasitesi yer almaktadır (García-Hernández vd., 2012, Staniszewski ve Kordowska-Wiater, 2021, Hsiung vd., 2021).

Bağırsak, yiyeceklerin sindirilmesi ve besinlerin emilmesinden sorumlu olan sindirim sistemi içinde önemli bir rol oynar. Bağırsak sağlığı, genel

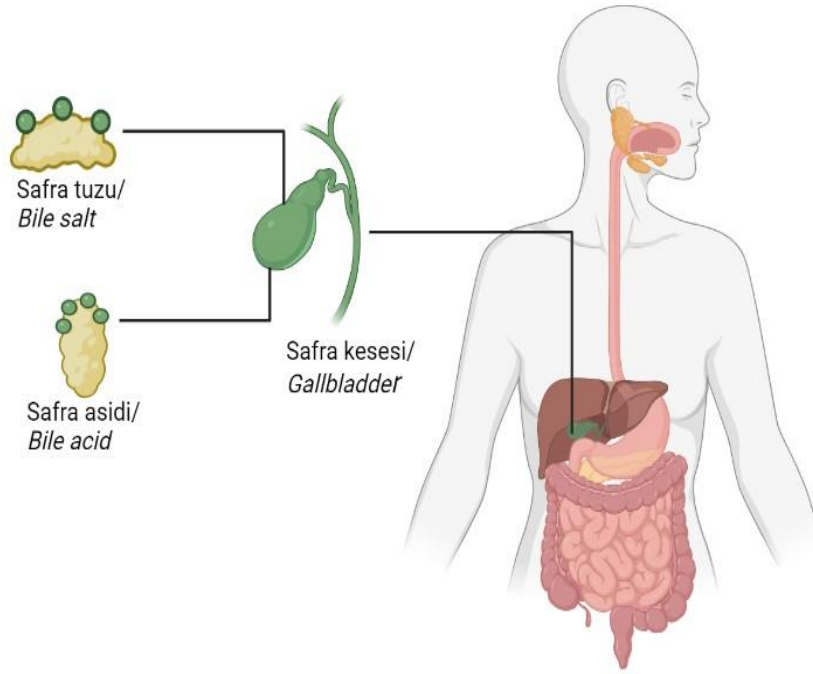
sağlık üzerinde etkili olabilir çünkü birçok simbiyotik mikroorganizma bağırsakta yaşamaktadır (Hsu ve Chou, 2021). Gastrointestinal sistemde safra tuzlarının varlığı, mikroorganizmaların canlılığını etkileyen kritik bir faktördür. Bu nedenle, potansiyel probiyotik mikroorganizmaların seçiminde kullanılan kriterler arasında safra tuzlarını tolere etme kabiliyeti öncelikle bir test olarak yer almaktadır (Chen vd., 2010, Ayyash vd., 2021, Hsiung vd., 2021). Erkkilä ve Petäjä (2000) %0.3 safra tuzu oranında gelişimin, dirençli suşları belirlemek için kritik bir konsantrasyon olduğunu belirtmişlerdir. Safra asidi konsantrasyonu, safra kesesinde ~%8, bağırsakta ~%0.2 ile %2 arasında değişir. Ancak bu değerler mutlak değildir, çünkü diyet alımı gibi faktörlere bağlı olarak safra asidi seviyelerinde kişiden kişiye farklılıklar mevcuttur (Gunn, 2000).

Safra; proteinler, kolesterol, pigmentler, iyonlar ve çeşitli safra tuzları dahil olmak üzere çok sayıda bileşenden oluşur (Merritt ve Donaldson, 2009). Safra tuzları; bilirubin, kolesterol ve fosfolipitler gibi organik bileşiklerin yanı sıra elektrolitler ve su gibi inorganik bileşikler içerir (Champe ve Harvey, 1997). Fosfatidilkolin (lesitin) ve safra tuzları, safranın miktar olarak en önemli bileşenleridir. Safra, ihtiyaç duyulduğunda karaciğerden onikiparmak bağırsağına direkt olarak safra kanalıyla geçebilir veya sindirim için anında gereksinim olmadığında safra kesesinde depolanabilir. Safra içinde en yaygın bulunan safra asitleri keno-deoksikolik asit ve kolik asittir. Safra asitleri amfipatiktir, yani moleküllerinin hem polar hem de nonpolar bir yüzeyi vardır. Bu özellikleri sayesinde bağırsakta yağları çözebilen ajanlar olarak görev yapabilirler. Şekil 1'de safranın insan vücudundaki yeri ve kısımları görülmektedir. Safra asitleri, diyetle alınan lipidlerin pankreasın sindirim enzimleri tarafından parçalanması için yardımcı olurlar (Champe ve Harvey, 1997).

Karbonhidrat ve yağ asidi metabolizmasında, amino asit ve azotlu baz biosentezinde yer alan proteinlerin ekspresyonu ve genel stres tepkisi safranın varlığından sıklıkla etkilenir (Bustos vd., 2018, Ayyash vd., 2021). Safra ve safra asitlerinin ürettiği karmaşık stresin doğası göz önüne alındığında, mikroorganizmaların tolere

edebilmesi için dışı atım (effluks) pompalama sistemlerinin varlığı, safra tuzu hidrolaz (BSH) enzimi, hücrelerin içsel homeostazı koruma yeteneği ve hücre zarının yapısında ve bileşiminde değişiklikler gibi farklı savunma mekanizmalarını kullanabildikleri görülmektedir (Bustos vd., 2018). Mikrobiyel dönüşümler arasında, BSH tarafından safra asitlerinin dekonjugasyonu en önemlisidir

(Bustos vd., 2018). Safra tuzu hidrolaz aktivitesi, mikroorganizmalar tarafından serbest bırakılan amino asitleri karbon ve azot kaynakları olarak kullanma, safra detoksifikasyonunu kolaylaştırma veya kolesterolün hücre duvarına dahil edilmesini destekleme olasılığını sağlayabilmektedir (Horáčková vd., 2018).



Şekil 1. Safranın insan vücudundaki yeri
Figure 1. The location of bile in the human body

Bu çalışmada, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan alınan 50 maya izolatının 3 farklı sıcaklık (26 °C, 30 °C ve 37 °C) ve 2 farklı besiyerindeki (Sabouraud-2% dextrose broth (SDB) ve Yeast Peptone Dextrose (YPD) broth) safra tuzuna toleransı araştırılmıştır. Böylece mayalardaki safra tuzuna toleransının belirlenmesinde farklı sıcaklık ve besiyeri kullanımının etkisi ortaya koyulmaya çalışılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan 50 adet maya izolatu Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği

Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Temin edilen maya suşları farklı kefir danelerinden izole edilmiştir. İzolatların tanıları önceki çalışmalar çerçevesinde makroskopik, mikroskopik ve moleküler teknikler (M13 RAPD-PCR ve 26S rRNA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 6 türe ait (*Geotrichum candidum*, *Kazachstania unispora*, *Pichia fermentans*, *Kazachstania turicensis*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyveromyces marxianus*) 50 farklı suş kullanılmış olup 30 izolat ile *Kazachstania unispora* en yoğun grubu temsil etmektedir. Çalışmada farklı sıcaklık, besiyeri ve safra oranları için en değişken ve hassas tür olan *Kazachstania unispora*'ya özellikle yer verilmiştir.

Mayalarda safra tuzu toleransında sıcaklık ve besiyeri etkisi

Yöntem

Maya İzolatlarının Safliklerinin Kontrolü

Kültür koleksiyonundan alınan maya izolatları safliklarının kontrolü ve safra tuzuna toleransının belirlenmesi için -80 °C dereceden çıkarılıp Potato

Dextrose Agar (PDA, Merck, Darmstadt, Almanya) agara çizilmiş ve saflik kontrolleri gerçekleştirilmiştir. Kullanılan maya suşları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan suşların kodu ve adı
Table 1. Code and name of the strains used in the study

İzolat kodu/ <i>Isolate code</i>	İzolat adı/ <i>Isolate name</i>	Erişim Numarası	İzolat kodu/ <i>Isolate code</i>	İzolat adı/ <i>Isolate name</i>	Erişim Numarası
M1	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1	M26	<i>Geot. candidum</i>	MN493828.1
M2	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M27	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M3	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M28	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M4	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M29	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M5	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M30	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M6	<i>Pich. fermentans</i>	MN704650.1	M31	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M7	<i>Pich. fermentans</i>	MN704650.1	M32	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1
M8	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M33	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M9	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M34	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1
M10	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M35	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M11	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M36	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M12	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M37	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M13	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1	M38	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M14	<i>Kazı. turicensis</i>	MH978869.1	M39	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M15	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M40	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M16	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1	M41	<i>Kluy. marxianus</i>	OR250079.1
M17	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M42	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1
M18	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M43	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M20	<i>Sacc. cerevisiae</i>	OR268347.1	M45	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M21	<i>Kazı. turicensis</i>	MH978869.1	M46	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M22	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1	M47	<i>Kazı. unispora</i>	MN493828.1
M23	<i>Kazı. turicensis</i>	MH978869.1	M48	<i>Kluy. marxianus</i>	OR250079.1
M24	<i>Kluy. marxianus</i>	OR250079.1	M49	<i>Kluy. marxianus</i>	OR250079.1
M25	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1	M50	<i>Geot. candidum</i>	MT212722.1

Geot: *Geotrichum*; Kazı: *Kazıchstanıa*; Pich: *Pichia*; Sacc: *Saccharomyces*; Kluy: *Kluyveromyces*

Maya İzolatlarının Safra Tuzuna Toleransı

Maya izolatlarının safra tuzlarına karşı direncinin belirlenmesi amacıyla %0.3, %0.5 ve %1 (w/v) safra tuzları (Merck, Darmstadt, Almanya) içeren ve safra içermeyen Sabouraud-2% dextrose broth (SDB, Merck, Darmstadt, Almanya) (Et peptonu 5.0 g/L, D (+) Glikoz 20.0 g/L, Kazein peptonu 5.0 g/L) ve Yeast Peptone Dextrose broth (YPD Broth, Sigma Aldrich, Milano, İtalya) (Bakteriyolojik pepton 20.0 g/L, Glikoz 20.0 g/L, Maya ekstraktı 10.0 g/L) kullanılmıştır.

İnkübasyon 96 kuyucuklu mikro plakada yapılmış ve her bir kuyucuğa steril besiyerlerinden 140 µL ilave edilmiştir. Her bir maya izolatının maya süspansiyonu steril %0.85 FTS ile hazırlanmış ve 1.0 McFarland bulanıklığına standardize edilip (DEN-1 dansitometre; Biosan, Riga, Letonya) her bir kuyucuğa 10 µL inoküle edilmiştir. Kontrol amacıyla kullanılan kuyucuklara inokülasyon işlemi yapılmamıştır. Plakalar 26, 30 ve 37 °C'de 48 saat boyunca inkübe edilmiş ve maya gelişimi 600 nm'de plaka okuyucu (Epoch, BioTek, USA)

ile yapılmıştır (Gürkan Özlü vd., 2022, Akay Yüce, 2022). Çalışma 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

Safra tuzlarına tolerans sonuçları; maya izolatları ile inkübe edilen, içinde safra tuzu bulunmayan (pozitif kontrol) sıvı besiyerleri ve içine inokülasyon yapılmayan (negatif kontrol) sıvı besiyerlerinin absorbanslarının karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir. Absorbans sonuçlarına göre negatif kontrolden daha yüksek absorbans değerine sahip izolatlar "+", negatif kontrol ile benzer absorbans değerine sahip olanlar ise "-" olarak ifade edilmiştir.

37 °C'de gelişim göstermeyen maya suşlarının gelişme nedenlerinin sıcaklık olup olmadığını belirlemek ve suşların canlı olup olmadığını anlamak için 37 °C'den alınan aynı plâtelere önce 20 °C'de daha sonra 26 °C'de inkübe edilmiştir. Böylece mayaların canlılık kontrolü sağlanıp,

gelişme nedeninin sıcaklık kaynaklı olup olmadığı belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Araştırma bulguları genel olarak incelendiğinde çalışmada kullanılan izolatların farklı sıcaklık, besiyeri ve safra konsantrasyonları için aynı gelişme özelliklerini göstermediği belirlenmiştir. Örneğin; %0.3, %0.5 ve %1 safra içeren SDB besiyerinde 26 °C'de *Pichia fermentans* M6 ve *Saccharomyces cerevisiae* M20 izolatları gelişme göstermemiştir. *Kluyveromyces marxianus* M24 suşu ise %0.3 ve %0.5 safra içeren SDB içinde gelişme gösterirken, %1 safra içeren SDB içinde gelişmemiştir. Geriye kalan 47 suş ise %0.3, %0.5 ve %1 safra içeren SDB içinde pozitif olarak gelişmiştir. 26 °C'de %0 safra bulunan SDB besiyerinde tüm izolatlar pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. SDB besiyerinde maya suşlarının farklı sıcaklıklarda safra tuzlarındaki gelişimi
Table 2. Growth of yeast strains in SDB medium at different temperatures with bile salts

İzolat kodu/ Isolate code	26 °C			30 °C			37 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M1	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M2	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M3	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M4	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M5	+	+	+	+	+	+	+	-	-
M6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M7	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M8	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M9	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M10	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M11	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M12	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M13	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M14	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M15	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M16	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M17	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M18	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M19	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M20	-	-	-	+	-	-	-	-	-

Mayalarda safra tuzu toleransında sıcaklık ve besiyeri etkisi

İzolat kodu/ Isolate code	26 °C			30 °C			37 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M21	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M22	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M23	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M24	+	+	-	+	+	-	+	+	+
M25	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M26	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M27	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M28	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M29	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M30	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M31	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M32	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M33	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M34	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M35	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M36	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M37	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M38	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M39	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M40	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M41	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M42	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M43	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M44	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M45	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M46	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M47	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M48	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M49	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M50	+	+	+	+	+	+	-	-	-

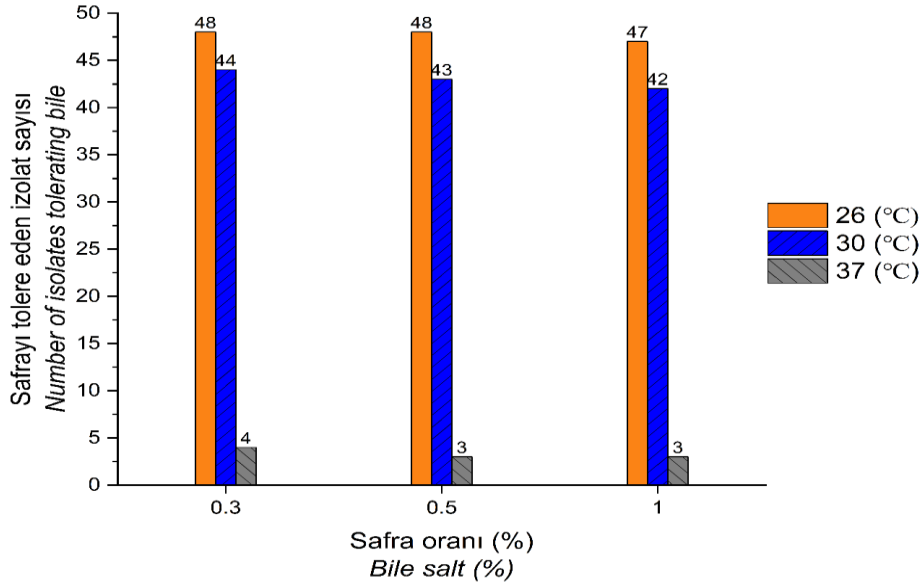
Kazachstania unispora M4, M8, M43, M47, M49 ve *P. fermentans* M6 izolatları 30 °C'de %0.3, %0.5 ve %1 safra içeren SDB içinde gelişim belirlenmemiştir. *S. cerevisiae* M20 suşu %0.3 safra içeren SDB içinde gelişme gösterirken, %0.5 ve %1 safra içeren SDB içinde gelişim olmamıştır. *K. marxianus* M24 izolatı ise %0.3 ve %0.5 safra içeren SDB içinde gelişme gösterirken, %1 safra içeren SDB içinde gelişme gözlenmemiştir. Geriye kalan 42 izolat ise tüm safra oranlarında 30 °C'de SDB içinde gelişim göstermiştir. *K. unispora* M43, M47 ve *K. marxianus* M49 izolatları 30 °C'de safra içermeyen SDB besiyerinde gelişim göstermezken

diğer 47 maya izolatı gelişim sonucu vermiştir (Çizelge 2).

K. marxianus M24, M41 ve M48 numaralı maya izolatları 37 °C'de SDB içinde tüm safra oranlarında pozitif gelişim gösterirken, *K. unispora* M5 suşu sadece %0.3 safra içeren SDB içinde gelişme göstermiştir. Diğer kalan 46 suş ise 37 °C'de SDB içinde tüm safra oranlarında gelişmemiştir. Bu safra konsantrasyonunda (%0.3) gelişim göstermeyen suşlardan *K. unispora* M5, M8, *P. fermentans* M6, *Geotrichum candidum* M13, M44 ve *S. cerevisiae* M20 maya izolatları safra

içermeyen SDB besiyerinde gelişim göstermiştir. SDB içinde 50 farklı maya izolatının farklı sıcaklık ve safra tuzu oranındaki gelişimi Çizelge 2’de,

safraya tolerans gösteren izolat sayısı ise Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. SDB besiyerinde safraya tolerans gösteren izolat sayısı
Figure 2. Number of isolates tolerant to bile in SDB medium

Çalışmada kullanılan diğer besiyeri olan YPD broth besiyerinde 26 °C’de %0.3, %0.5 ve %1 safra içeren ve safra içermeyen besiyerinde tüm maya izolatları gelişim göstermesine rağmen SDB’de gelişmeyen maya izolatları bulunmaktadır (Şekil 2 ve Şekil 3). Farklı oranlarda safra içeren

YPD brothda, 30 °C’de *K. unispora* M43 ve M47 suşları gelişim gösterememiştir. *K. unispora* M4 maya izolatı ise 30 °C’de sadece %0.3 safra içeren YPD broth içinde gelişme göstermiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. YPD besiyerinde maya suşlarının farklı sıcaklıklarda safra tuzlarındaki gelişimi
Table 3. Growth of yeast strains in YPD medium at different temperatures with bile salts

İzolat kodu/ Isolate code	26 °C			30 °C			37 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M1	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M2	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M3	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M4	+	+	+	+	-	-	-	-	-
M5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M6	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M7	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M9	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M10	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M11	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M12	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Mayalarda safra tuzu toleransında sıcaklık ve besiyeri etkisi

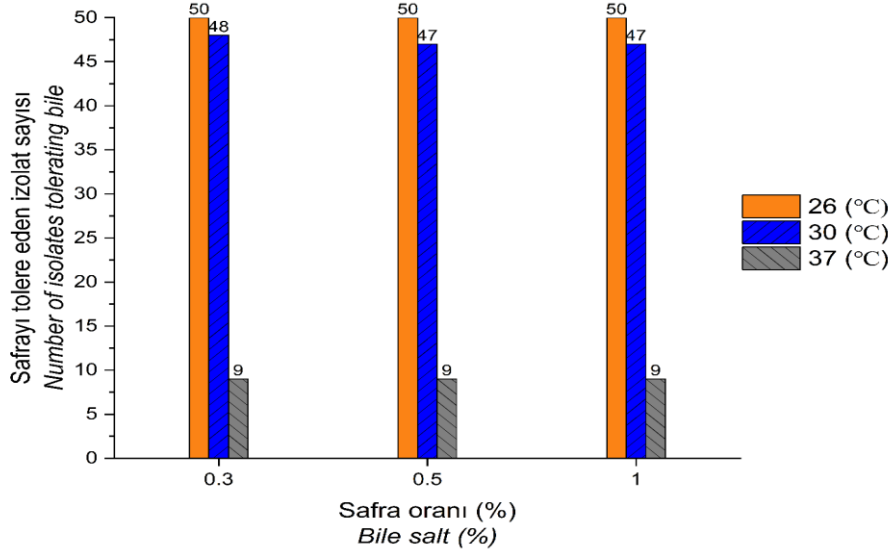
İzolot kodu/ <i>Isolate code</i>	26 °C			30 °C			37 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M13	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M14	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M15	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M16	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M17	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M18	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M19	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M20	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M21	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M22	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M23	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M24	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M25	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M26	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M27	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M28	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M29	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M30	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M31	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M32	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M33	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M34	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M35	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M36	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M37	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M38	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M39	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M40	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M41	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M42	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M43	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M44	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M45	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M46	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M47	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M48	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M49	+	+	+	+	+	+	-	-	-
M50	+	+	+	+	+	+	-	-	-

K. unispora M5, M8, *P. fermentans* M6, *G. candidum* M13, M44, *S. cerevisiae* M20 ve *K. marxianus* M24, M41, M48 numaralı maya izolatları 37 °C'de YPD broth içinde tüm safra oranlarında pozitif gelişim

gösterirken, diğer 41 maya suşu herhangi bir gelişme (safra içermeyen YPD broth dahil) göstermemiştir. SDB ile mukayese edildiğinde YPD brothda daha fazla maya suşununun

gelişebildiği ancak tüm maya suşlarının gelişemediği görülmektedir. YPD broth içinde 50 farklı maya izolatının farklı sıcaklık ve safra tuzu

oranındaki gelişimi Çizelge 3'te, safraya tolerans gösteren izolat sayısı ise Şekil 3'te gösterilmektedir.



Şekil 3. YPD broth içinde safraya tolerans gösteren izolat sayısı

Figure 3. Number of isolates tolerant to bile in YPD broth

SDB besiyerinde 37 °C'de, tüm safra oranlarında pozitif gelişim gösteren *K. marxianus* M24, M41 ve M48 numaralı maya izolatları hariç geriye kalan 47 izolat önce 20 °C'de daha sonra 26 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Böylece maya izolatlarının canlılıkları ve gelişimleri 600 nm'de plaka okuyucu ile kontrol edilmiştir. *K. unispora* M5 suşu ise sadece %0.3 safra içeren SDB'de

gelişme gösterdiği için %0.5 ve %1 safra içeriğinde gelişiminin belirlenmesi için 20 °C ve 26 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Buna göre, *P. fermentans* M7, *K. unispora* M5, M9, M11, M12, M15, M17, M22, M28 ve *G. candidum* M13, M25 suşları 20 °C ve 26 °C'de inkübasyona bırakılması ardından tüm safra konsantrasyonlarında gelişim gösterdikleri gözlenmiştir (Çizelge 4.)

Çizelge 4. SDB besiyerinde 37 °C'de gelişim gösteremeyen maya izolatlarının 20 °C ve 26 °C'de canlılıklarının tespiti

Table 4. Determination of the viability of yeast isolates at 20°C and 26°C that did not grow in SDB medium at 37°C

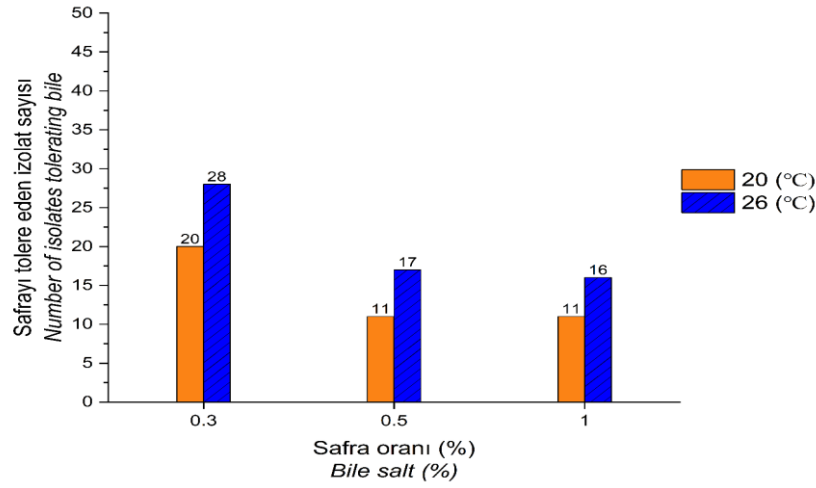
İzolat kodu/ Isolate code	20 °C			26 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M1	-	-	-	+	+	-
M2	-	-	-	-	-	-
M3	-	-	-	-	-	-
M4	-	-	-	-	-	-
M5	+	+	+	+	+	+
M6	-	-	-	-	-	-
M7	+	+	+	+	+	+
M8	-	-	-	-	-	-
M9	+	+	+	+	+	+
M10	-	-	-	+	+	+

Mayalarda safra tuzu toleransında sıcaklık ve besiyeri etkisi

İzolat kodu/ <i>Isolate code</i>	20 °C			26 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M11	+	+	+	+	+	+
M12	+	+	+	+	+	+
M13	+	+	+	+	+	+
M14	+	-	-	+	-	-
M15	+	+	+	+	+	+
M16	-	-	-	-	-	-
M17	+	+	+	+	+	+
M18	+	-	-	+	-	-
M19	+	-	-	+	-	-
M20	+	-	-	+	-	-
M21	-	-	-	-	-	-
M22	+	+	+	+	+	+
M23	+	-	-	+	-	-
M25	+	+	+	+	+	+
M26	-	-	-	+	+	+
M27	+	-	-	+	-	-
M28	+	+	+	+	+	+
M29	+	-	-	+	-	-
M30	-	-	-	-	-	-
M31	-	-	-	-	-	-
M32	-	-	-	-	-	-
M33	-	-	-	-	-	-
M34	-	-	-	+	-	-
M35	-	-	-	+	-	-
M36	-	-	-	+	+	+
M37	-	-	-	+	+	+
M38	-	-	-	-	-	-
M39	-	-	-	-	-	-
M40	-	-	-	-	-	-
M42	+	-	-	+	-	-
M43	-	-	-	-	-	-
M44	-	-	-	-	-	-
M45	-	-	-	-	-	-
M46	-	-	-	+	-	-
M47	-	-	-	-	-	-
M49	-	-	-	-	-	-
M50	+	-	-	+	+	+

K. turicensis M14, M23, *K. unispora* M18, M19, M27, M29, *S. cerevisiae* M20 ve *G. candidum* M42 izolatları sadece %0.3 safra içeriğinde 20 °C ve 26 °C'de pozitif gelişme göstermiştir. *G. candidum* M50 suşu ise 20 °C'de %0.3 safra içeriğinde gelişim gösterirken 26 °C'de %0.3, %0.5 ve %1 safra içeriğinde gelişim göstermiştir. *G. candidum* M1 suşunun 20 °C'de gelişimi görülmezken 26 °C'de %0.3 ve %0.5 safra içeriğinde geliştiği belirlenmiştir. *K. unispora* M10, M36, M37 ve *G. candidum* M26 suşunun da 20 °C'de gelişimi

görülmezken 26 °C'de %0.3, %0.5 ve %1 safra oranında geliştiği belirlenmiştir. *G. candidum* M34 ve *K. unispora* M35, M46 suşları ise 20 °C'de gelişimi göstermezken 26 °C'de %0.3 safra içeren SDB içinde gelişmiştir. 19 tane maya izolatı ise hiç safra oranında gelişme göstermemiştir. SDB içinde 37 °C'de gelişim göstermeyen maya izolatlarının 20 °C ve 26 °C'de canlılıklarının tespiti Çizelge 4'de, gelişenlerin sayısı ise Şekil 4'de verilmiştir.



Şekil 4. SDB besiyerinde 37 °C'de gelişim gösteremeyen 47 maya izolatının 20 °C ve 26 °C'deki gelişim durumu

Figure 4. Growth status of 47 yeast isolates at 20°C and 26°C that did not grow in SDB broth at 37°C

YPD broth besiyerinde 37 °C'de pozitif gelişim gösteren *K. unispora* M5, M8, *P. fermentans* M6, *G. candidum* M13, M44, *S. cerevisiae* M20 ve *K. marxianus* M24, M41, M48 nolu maya izolatları dışında kalan diğer tüm izolatlar (41 adet) önce 20 °C'de daha sonra 26 °C'de ayrı ayrı inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda 600 nm'de

plaka okuyucu ile plâtelere okunmuştur. *K. unispora* M2, M3, M9, M10, M11, M12, M15, M17, M19, M22, M27, M28, M29, M30, M31, M33, M36, M37, M38, M39, M40, *P. fermentans* M7, *G. candidum* M1, M16, M25, M26, M32, M34, M42 ve M50 izolatları inkübasyon sonunda tüm safra oranlarında gelişmiştir (Çizelge 5.)

Çizelge 5. YPD brothta 37 °C'de gelişim gösteremeyen maya izolatlarının 20 °C ve 26 °C'de canlılıklarının tespiti

Table 5. Determination of the viability of yeast isolates at 20°C and 26°C that did not grow in YPD broth at 37°C

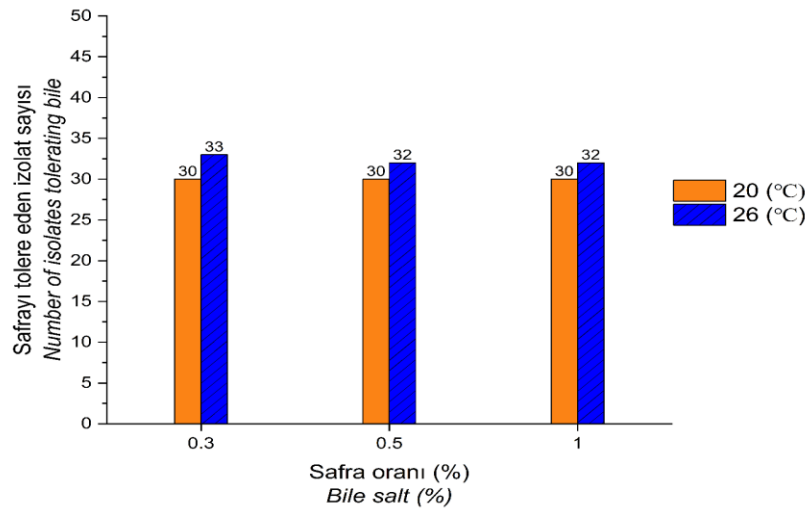
İzolat kodu/ Isolate code	20 °C			26 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M1	+	+	+	+	+	+
M2	+	+	+	+	+	+
M3	+	+	+	+	+	+
M4	-	-	-	+	+	+
M7	+	+	+	+	+	+
M9	+	+	+	+	+	+
M10	+	+	+	+	+	+
M11	+	+	+	+	+	+
M12	+	+	+	+	+	+
M14	-	-	-	-	-	-
M15	+	+	+	+	+	+
M16	+	+	+	+	+	+
M17	+	+	+	+	+	+
M18	-	-	-	+	-	-
M19	+	+	+	+	+	+
M21	-	-	-	-	-	-
M22	+	+	+	+	+	+
M23	-	-	-	-	-	-

Mayalarda safra tuzu toleransında sıcaklık ve besiyeri etkisi

İzolat kodu/ <i>Isolate code</i>	20 °C			26 °C		
	%0.3	%0.5	%1	%0.3	%0.5	%1
M25	+	+	+	+	+	+
M26	+	+	+	+	+	+
M27	+	+	+	+	+	+
M28	+	+	+	+	+	+
M29	+	+	+	+	+	+
M30	+	+	+	+	+	+
M31	+	+	+	+	+	+
M32	+	+	+	+	+	+
M33	+	+	+	+	+	+
M34	+	+	+	+	+	+
M35	-	-	-	+	+	+
M36	+	+	+	+	+	+
M37	+	+	+	+	+	+
M38	+	+	+	+	+	+
M39	+	+	+	+	+	+
M40	+	+	+	+	+	+
M42	+	+	+	+	+	+
M43	-	-	-	-	-	-
M45	-	-	-	-	-	-
M46	-	-	-	-	-	-
M47	-	-	-	-	-	-
M49	-	-	-	-	-	-
M50	+	+	+	+	+	+

K. unispora M4 ve M35 suşları 20°C'de gelişim göstermezken 26 °C'de tüm safra oranlarında gelişim göstermektedir. *K. unispora* M18 suşu ise 20°C'de gelişim göstermezken 26 °C'de sadece %0.3 safra oranında gelişim göstermektedir.

Geriye kalan 8 suş ise her iki sıcaklıkta da gelişim göstermemiştir. Çizelge 5'de YPD broth içinde 37 °C'de gelişim göstermeyen maya izolatlarının 20 °C ve 26 °C'de canlılıklarının tespiti ve gelişenlerin sayısı ise Şekil 5'de verilmiştir.



Şekil 5. YPD broth içinde 37 °C'de gelişim gösteremeyen 41 maya izolatının 20 °C ve 26 °C'deki gelişim durumu

Figure 5. Growth status of 41 yeast isolates at 20°C and 26°C that did not grow in YPD broth at 37°C

Yukarıdaki sonuçlar incelendiğinde sıcaklık ve safra konsantrasyonu ile besiyeri çeşitliliğinin denemelerde kullanılan maya izolatları üzerinde etkili faktörler olduğu gözlenmiştir. Genel gelişim özellikleri açısından bakıldığında 26 °C'de YPD besiyeri kullanımının en fazla suş gelişimine olanak tanıdığı tespit edilmiştir. Bununla beraber sıcaklık açısından en düşük oradan gelişimin 37 °C'de gerçekleştiği belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan izolatlar görüldüğü üzere farklı sıcaklık, besiyeri ve safra konsantrasyonu açısından farklı gelişim özellikleri göstermiştir. Konu ile ilgili beraber benzer çalışmaların sonuçları aşağıda sunulmuştur.

Bebek dışkısı ve Feta peyniri kaynaklı iki *S. cerevisiae* suşunun kullanıldığı bir çalışmada insan orjinli olanın %0.3 safra tuzu içeren YPD besiyerinde 37 °C'de inkübe edildiğinde safraya dirençli olduğu belirlenmiştir (Psomas vd., 2003). Bu sonuç, çalışma verileri ile mukayese edildiğinde; *S. cerevisiae* M20 suşunun 37 °C'de SDB broth içinde gelişim göstermediği halde YPD brothda gelişim açısından benzer olduğu görülmektedir.

Kumura vd. (2004) maya suşları ile yapmış olduğu çalışmada safra asidinin varlığından bağımsız olarak, 27°C'de inkübasyon yapıldığında test edilen tüm suşlarda gelişme gözlemlendiğini, 37°C'de inkübasyon yapıldığında ise sınırlı gelişme gözlemlendiğini gözlemlenmişlerdir. Ayrıca *S. cerevisiae*'nin safra varlığında gelişebildiğini belirtmişlerdir.

Çin'deki çiftliklerden toplanan çiğ sütlerden elde edilen *G. candidum* ve *P. fermentans* suşlarının bulunduğu 19 maya izolatı %0.1, %0.3 ve %0.5 safra tuzu içeren YPD brothda 25 °C'de 72 saat inkübe edilmiştir. Sonuç olarak %0.3 safra varlığında 19 suştan 17'sinin iyi geliştiği gözlenmiştir (Chen vd., 2010). İlgili suşlar arasında değerlendirildiğinde benzer sonuçların bizim çalışmamızda da tespit edildiği görülmektedir.

Başka bir çalışmada Portekiz salamura zeytinlerinden maya izolasyonu gerçekleştirilmiş ve 37 °C'de safra tuzuna direnci (3g/L)

incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda *S. cerevisiae* 'nın (10 suş) ve *P. fermentans* 'ın (8 suş) tüm suşlarının safraya dirençli olduğu bulunmuştur (Silva vd., 2011). Bu çalışmada ise SDB besiyerinde 37 °C'de *P. fermentans* M6, M7 ve *S. cerevisiae* M20 suşları gelişim göstermezken YPD brothta *P. fermentans* M6, *S. cerevisiae* M20 ve *Geotrichum candidum* M44 suşlarının safraya karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Fermente bir gıda olan Fura'dan elde edilen 330 maya suşu %0.3 safra tuzu ve 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüm maya suşları (*C. krusei* ve *K. marxianus* baskın türler) safraya toleranslı olup, %0.3 (w/v) oxgall içinde geliştikleri gözlenmiştir (Pedersen vd., 2012). Benzer verilere bu çalışmada da ulaşıldığı görülmektedir.

García-Hernández vd. (2012) yapmış olduğu çalışmada fermente edilmiş piliç dışkularından 9 maya suşu izole edilmiş olup %0.3 ve %0.6 safra içeren ve safra içermeyen Sabouraud dextrose agarda 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir ve tüm suşların safraya dirençli oldukları belirlenmiştir.

Diosma vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada 4 farklı kefir danesinden 34 adet maya izole etmişlerdir. İlgili çalışmada 15 adet *S. cerevisiae* suşu ve 9 adet *K. marxianus* suşu kullanılmıştır. Bu izolatların safraya dirençleri içinde %1 oranında safra tuzu bulunan YPD broth besiyerinde 30 °C'de incelemiştir. Kullanılan 11 izolat %1 safra tuzu varlığında gelişim gösterirken; %0.5 safra tuzu içeriğinde tüm izolatların gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Benzer durum çalışmada kullandığımız *S. cerevisiae* M20 ve *K. marxianus* suşlarının tümü için geçerli olduğu görülmektedir.

Gürkan (2018) tarafından yapılan çalışmada 36 farklı kaynaktan (ev yapımı kırmızı şarap, Antep peyniri, pirinç, tarhana hamuru, mısır gevreği, bebek dışkısı, anne sütü, kefir mayası, keçi kefir, yaş maya, ev yapımı limon sirkesi, probiyotik balık yemi, ev yapımı elma sirkesi, salamura turşu, çiğ inek sütü, boza, kırmızı, ev yapımı kiraz sirkesi, ekşi ekmekek hamuru, beyaz peynir, nohut ekmeği hamuru, çiğ keçi sütü, salamura zeytin, probiyotik yoğurt, probiyotik yoğurt mayası, ev yoğurdu

mayası, ev yoğurdu, köy yoğurdu mayası, Feta peyniri, ve buğday gevreği) toplam 140 adet maya izolasyonu yapılmıştır. Probiyotik ve teknolojik özellikleri en iyi olan 48 suş için tanı işlemi gerçekleştirilmiştir. İzolatların safraya toleranslarının belirlenmesi için %0.3, %0.5, %0.6 ve %1 oxgall bulunan besiyerlerinde 27 °C ve 37 °C'de inkübasyon gerçekleştirilmiştir. 27 °C'de tüm suşlar pozitif sonuç verirken, 37 °C'de %0.3 safra tuzu içeren besiyerinde 48 izolattan 42'si, %0.5 ve %0.6 safra tuzu içeren besiyerinde 39'u, %1 safra tuzu içeren besiyerinde ise 38'i gelişim göstermiştir.

Yalman (2018) tarafından yapılan çalışmada manda sütünden üretilmiş 7 adet Mozzarella ve 13 adet Beyaz peynirden toplamda 406 maya izole edilmiştir. İzole edilen mayalardan 180'i tanılanmıştır. Tanısı yapılan izolatlar 37 °C sıcaklıkta %0.3 safra tuzu varlığında test edilmiş ve 104 izolatın bu şartlarda gelişebildiği belirlenmiştir.

İtalya'nın Marche bölgesinde bulunan doğal çevre (odun, toprak, meyve tabakaları, kumtaşı çukurları, kiler ve mandıra) ve fermente ürünlerden (ekşi mayalar, peynirler, şaraplar, biralalar ve şeker kamışı suyu vb.) kendiliğinden fermente olan işlenmiş gıdalardan toplam 179 tane maya izole edilmiş ve *Kazachstania*, *Kluyveromyces*, *Pichia* ve *Saccharomyces* dahil olmak üzere 12 cins belirlenmiştir. İlgili izolatlar, %0.3 safra tuzu içeren YPD brothda 37 °C'de 48 ve 120 saat inkübe edilmişlerdir. *Kazachstania* ve *Saccharomyces* cinslerine ait tüm suşlar %0.3 safra tuzları ile 48 saat boyunca hayatta kalabildiği, sadece *S. cerevisiae* 4PV suşunun 120 saat inkübasyonun sonunda %90.9 oranında ocanlılığını koruduğu belirlenmiştir (Agarbatı vd., 2020).

Tayvan'da toplanan farklı fermente gıda ürünlerinden ve içeceklerinden 16 adet maya izole edilmiş olup bunların içerisinde 5 adet *K. marxianus*, 2 adet *K. turicensis*, 2 adet *K. unispora*, 2 adet *S. cerevisiae* suşu olduğu görülmektedir. İlgili suşlar içerisinde %0.3 safra tuzu bulunduran YPD brothta 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Yapılan testler sonucunda, *K. marxianus* JYC2614 ve *K.*

marxianus JYC2610 suşlarının safra tuzu toleransına iyi uyum sağladığı gözlemlenmiştir. *K. unispora* JYC2608 ve *K. unispora* JYC2611 suşlarının ise safra tuzu içeren YPD ortamında inhibe olduğu görülmüştür. (Hsiung vd., 2021). Benzer sonuçlar bu çalışmada da görülmektedir. *K. marxianus* suşları safra içeren besiyerlerinde 37 °C'de gelişim gösterirken, *K. unispora* suşlarının hemen hemen hepsi safra içeren besiyerlerinde 37 °C'de gelişme göstermemiştir.

Alkay vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada toplam 62 mayanın izole edildiği ekşi maya örnekleri Türkiye'nin 6 bölgesindeki köylerden toplanmıştır. Maya suşlarının FTIR (Fourier-transform infrared spektroskopisi) ile tanımlanması yapılmış olup ilgili suşlar içerisinde *S. cerevisiae* suşu yer almaktadır. Maya izolatları 37 °C'de içinde %0.3 safra bulunan besiyerinde 72 saat inkübe edilmiş ve tüm maya suşları ilk 24 saatte %0.3 safra tuzuna direnç gösterdiği bulunmuştur.

Yedi geleneksel kefir danesi ve bir geleneksel kefir örneği İran'ın farklı bölgelerinden toplanmış ve toplam 26 adet maya izole edilmiştir. İzolatlar *Pichia fermentans*, *K. marxianus* *S. cerevisiae* dahil olmak üzere dört türe ait olduğu görülmektedir. Çalışmada, izolatların 37 °C'de %0.3 safra tuzu içerisinde 8 saat inkübe edildiğinde, tüm suşların canlılıklarını koruduğu belirlenmiştir (Rahmani vd., 2022).

SDB besiyerinde 37 °C'de gelişim gösteremeyen 46 maya izolatının %0.3 safra tuzu içeriğinde 20 °C'de gelişim durumuna bakıldığında 20 tanesinin geliştiği, 26 °C'de ise 28'inin geliştiği görülmüştür. %0.5 ve %1 safra tuzu içeriğinde ise 11 suşun 20 °C'de, sırasıyla 17 ve 16 izolatın ise 26 °C'de geliştiği görülmüştür. YPD besiyerinde ise 37 °C'de gelişim gösteremeyen 41 maya izolatının %0.3, %0.5 ve %1 safra tuzu içeriğinde 20 °C'de gelişim durumuna bakıldığında 30 tanesinin geliştiği, 26 °C'de ise sırasıyla 33, 32 ve 32 maya izolatının geliştiği görülmüştür. Görüldüğü üzere sıcaklığın maya gelişimi üzerinde etkili faktör olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeni olarak çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde, suşların aslında canlılıklarını koruyup 37 °C'de

gelişemediği, 37 °C'nin maya gelişimi açısından kısıtlayıcı bir faktör olduğu düşünülmektedir. Muhtemel probiyotik maya izolasyonunda 37 °C'nin kriter olduğu varsayılırsa, bazı izolatların gelişiminin bu sıcaklıkta gerçekleşemeyeceği ayrıca besiyeri farklılığının (YPD/SDB) sıcaklıkla beraber gelişimi etkileyen bir diğer faktör olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

YPD ve SDB besiyerleri maya gelişimi açısından kıyaslandığında, YPD'nin farklı sıcaklık ve safra oranlarında daha fazla suşun gelişimini destekleyebildiği tespit edilmiştir. Genel olarak *K. marxianus* izolatları safraya karşı en dirençli tür iken, *K. unispora* en dirençsiz tür olarak belirlenmiştir. Sıcaklık derecelerinden 37 °C'nin mayaların gelişimi açısından kısıtlayıcı faktör olduğu, diğer sıcaklık derecelerine göre bu sıcaklık derecesinde mayaların daha az geliştiği belirlenmiştir. Eğer muhtemel probiyotik maya izolasyonunda 37 °C'nin kriter gelişme sıcaklığı olduğu düşünülürse, YPD besiyerinin tercih edilmesinin daha doğru olacağı görülmektedir. Bilindiği üzere *K. unispora*, *Saccharomyces unisporus*'un güncel tür ismidir. Bu maya türü kefir üretiminde önemli rol oynamakta olup, ürünün probiyotikliği değerlendirilirken çalışmamızda verilen sonuçların göz önüne alınması faydalı olacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Burcu Bazu Çırpıcı analizlerin yapılması, araştırma, görselleştirme, yazım-orijinal taslak, yazım- inceleme ve düzenlemesinde; Bülent Çetin kavramsallaştırma, süpervizyon, metodoloji, yazım-orijinal taslak, yazma-inceleme ve düzenlemesinde katkısı olmuştur.

KAYNAKLAR

Agarbatı, A., Canonico, L., Marini, E., Zannini, E., Ciani, M., Comitini, F. (2020). Potential Probiotic Yeasts Sourced from Natural Environmental and Spontaneous Processed

Foods. *Foods*, 9, 287. <https://doi.org/10.3390/foods9030287>

Akay Yüce, M. (2022). Kefir tanelerinden izole edilen bazı mikroorganizmaların probiyotik özelliklerinin in vitro karakterizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 162 s.

Alkay, Z., Dertli, E., Durak, M. Z. (2021). Investigation of probiotic potential of yeasts isolated from sourdoughs from different regions of Turkey. *Acta Alimentaria*, 50(4), 610-619. <https://doi.org/10.1556/066.2021.00150>

Ayyash, M. M., Abdalla, A. K., Alkalbani, N. S., Baig, M. A., Turner, M. S., Liu, S.-Q., Shah, N. P. (2021). Invited review: Characterization of new probiotics from dairy and nondairy products— Insights into acid tolerance, bile metabolism and tolerance, and adhesion capability. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8363-8379. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20398>

Bustos, A. Y., Font De Valdez, G., Fadda, S., Taranto, M. P. (2018). New insights into bacterial bile resistance mechanisms: the role of bile salt hydrolase and its impact on human health. *Food Research International*, 112, 250-262. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.035>

Champe, P. C. , Harvey, R. A. (1997). *Biyokimya*, Nobel Tıp Kitabevi Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye.

Chen, L.-S., Ma, Y., Maubois, J.-L., He, S.-H., Chen, L.-J. , Li, H.-M. (2010). Screening for the potential probiotic yeast strains from raw milk to assimilate cholesterol. *Dairy Science & Technology*, 90(5), 537-548. <https://doi.org/10.1051/dst/2010001>

Diosma, G., Romanin, D. E., Rey-Burusco, M. F., Londero, A. , Garrote, G. L. (2014). Yeasts from kefir grains: isolation, identification, and probiotic characterization. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 30, 43-53. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1419-9>

Erkkilä, S. , Petäjä, E. (2000). Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Science*, 55(3), 297-300.

- [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00156-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00156-4)
- Fernandez-Pacheco, P., Arévalo-Villena, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Briones Pérez, A. (2018). Probiotic characteristics in *Saccharomyces cerevisiae* strains: Properties for application in food industries. *LWT*, 97, 332-340. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.007>
- Fernández-Pacheco, P., Ramos Monge, I. M., Fernández-González, M., Poveda Colado, J. M., Arévalo-Villena, M. (2021). Safety Evaluation of Yeasts With Probiotic Potential. *Frontiers in Nutrition*, 8, 659328. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.659328>
- García-Hernández, Y., Rodríguez, Z., Brandão, L. R., Rosa, C. A., Nicoli, J. R., Elías Iglesias, A., Pérez-Sánchez, T., Salabarría, R. B., Halaihel, N. (2012). Identification and in vitro screening of avian yeasts for use as probiotic. *Research in Veterinary Science*, 93(2), 798-802. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.09.005>
- Gunn, J. S. (2000). Mechanisms of bacterial resistance and response to bile. *Microbes and Infection*, 2(8), 907-913. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)00392-0](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00392-0)
- Gürkan, B. (2018). Çeşitli kaynaklardan probiyotik mayaların izolasyonu ve identifikasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 191 s.
- Gürkan Özlü, B., Terzi, Y., Uyar, E., Shatila, F., Yalçın, H. T. (2022). Characterization and determination of the potential probiotic yeasts isolated from dairy products. *Biologia*, 77(5), 1471-1480. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01032-8>
- Horáčková, Š., Plocková, M., Demnerová, K. (2018). Importance of microbial defence systems to bile salts and mechanisms of serum cholesterol reduction. *Biotechnology Advances*, 36(3), 682-690. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.005>
- Hsiung, R.-T., Fang, W.-T., Lepage, B. A., Hsu, S.-A., Hsu, C.-H., Chou, J.-Y. (2021). In Vitro Properties of Potential Probiotic Indigenous Yeasts Originating from Fermented Food and Beverages in Taiwan. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13, 113-124. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09661-8>
- Hsu, S.-A., Chou, J.-Y. (2021). Yeasts in Fermented Food and Kefir: In Vitro Characterization of Probiotic Traits. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 31(2), 567-582. <https://doi.org/10.36899/JAPS.2021.2.0245>
- Kumura, H., Tanoue, Y., Tsukahara, M., Tanaka, T., Shimazaki, K. (2004). Screening of Dairy Yeast Strains for Probiotic Applications. *Journal of Dairy Science*, 87(12), 4050-4056. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73546-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73546-8)
- Merritt, M. E., Donaldson, J. R. (2009). Effect of bile salts on the DNA and membrane integrity of enteric bacteria. *Journal of Medical Microbiology*, 58(12), 1533-1541. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.014092-0>
- Pedersen, L. L., Owusu-Kwarteng, J., Thorsen, L., Jespersen, L. (2012). Biodiversity and probiotic potential of yeasts isolated from Fura, a West African spontaneously fermented cereal. *International Journal of Food Microbiology*, 159(2), 144-51. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.016>
- 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. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73945-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73945-9)
- Rahmani, B., Alimadadi, N., Attaran, B., Nasr, S. (2022). Yeasts from Iranian traditional milk kefir samples: isolation, molecular identification and their potential probiotic properties. *Letters in Applied Microbiology*, 75(5), 1264-1274. <https://doi.org/10.1111/lam.13794>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.029>

Staniszewski, A. , Kordowska-Wiater, M. (2021). Probiotic and Potentially Probiotic Yeasts—Characteristics and Food Application. *Foods*, 10(6), 1306. <https://doi.org/10.3390/foods10061306>

Tamang, J. P. , Lama, S. (2022). Probiotic properties of yeasts in traditional fermented foods and beverages. *Journal of Applied Microbiology*, 132(5), 3533-3542. <https://doi.org/10.1111/jam.15467>

Yalman, M. (2018). Manda sütünden üretilen farklı çeşit peynirlerin karakterizasyonu, mayaların izolasyonu ve potansiyel probiyotiklerin seçilmesi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Çanakkale, Türkiye, 196 s.