
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

YOĞURTTAN İZOLE EDİLEN MAYA SUŞLARININ STARTER AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Seda ERYILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EYLÜL 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Seda ERYILMAZ

12/09/2024

YOĞURTTAN İZOLE EDİLEN MAYA SUŞLARININ STARTER AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Seda ERYILMAZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Eylül 2024

ÖZET

Aroma ve tat gelişimi, karbon dioksit üretimi ve alkol oluşumu gibi farklı özelliklere sahip olan mayalar fermente gıdaların üretim sürecinde yardımcı starter kültür olarak kullanılmaktadırlar. Bu çalışmada süzme yoğurtlarından izole edilmiş olan 5 ve köy yoğurtlarından izole edilmiş olan 9 maya suşu kullanılmıştır. Toplamda 14 izolatın bazı starter özelliklerinin (proteolitik aktivite, lipolitik aktivite, tuz toleransı, farklı sıcaklık derecelerinde üremeleri, amilaz enzim aktiviteleri, üreyi hidroliz etme yetenekleri ve beta-galaktosidaz enzim aktivitesi) belirlenmesi amaçlanmıştır. Maya suşlarının proteolitik aktiviteleri 1,78-4,43 mm arasında, lipolitik aktiviteleri 8,83-18,52 mm arasında değişmektedir. Farklı tuz konsantrasyonlarından; %4 NaCl ortamında en yüksek canlı hücre sayısına *Saccharomyces kefyr* (SSYS4) (6,01±0,28 log kob/mL) sahipken, %6 NaCl ortamında en yüksek canlı hücre sayısı *Saccharomyces kefyr* (SSYS5) (6,31±0,06 log kob/mL) ve %10 NaCl ortamında da en yüksek canlı hücre sayısına yine *S.kefyr* (SSYS5) (6,14±0,57 log kob/mL) suşlarının sahip olduğu tespit edilmiştir. Farklı sıcaklık derecelerinden 37ºC'de en yüksek canlı hücre sayımı *S.kefyr* (SSYS5) (6,59±0,81 log kob/mL) suşunda ve 30ºC'de en yüksek canlı hücre sayımı *S.kefyr* (SSYS4) (6,96±0,50 log kob/mL) suşunda tespit edilmiştir. Mayaların amilaz enzim aktiviteleri 8,90-17,97 mm arasında değişirken hiçbiri üreyi hidrolize etme yeteneği göstermemiştir. Beta galaktosidaz enzim aktiviteleri ise mayalarda yüksek (+++) ve orta (++) olarak belirlenmiştir.

BilimKodu : 20309
AnahtarKelimeler : Starter aktivite, yoğurt, maya
SayfaAdedi : 59
Danışman : Prof. Dr. Zehranur YÜKSEKDAĞ

INVESTIGATION OF STARTER ACTIVITIES OF YEAST ISOLATED FROM YOGHURT

(M. Sc. Thesis)

Seda ERYILMAZ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

September 2024

ABSTRACT

Yeasts, which have different characteristics such as aroma and taste development, carbon dioxide production and alcohol formation, are used as auxiliary starter cultures in the production process of fermented foods. In this study, 5 yeast strains isolated from strained yoghurts and 9 yeast strains isolated from village yoghurts were used. A total of 14 isolates were aimed to determine some starter properties (proteolytic activity, lipolytic activity, salt tolerance, reproduction at different temperature degrees, amylase enzyme activities, urea hydrolysis capabilities and beta-galactosidase enzyme activity). The proteolytic activities of yeast strains vary between 1.78-4.43 mm, lipolytic activities range between 8.83-18 mm. From different salt concentrations; *Saccharomyces kefyr* (SSYS4) has the highest number of live cells in 4% NaCl medium (6.01±0.28 log kob/mL), *while Saccharomyces kefyr* (SSYS5) has the highest number of live cells in 6% NaCl medium (6.31±0.06 log kob/mL) and the highest number of live cells in 10% NaCl medium again.it was found *S. kefyr* (SSYS5) (6.14±0.57 log kob/mL) strains had. The highest live cell count at 37ºC from different temperature degrees S.the highest live cell count was in *S. kefyr* (SSYS5) (6.59±0.81 log kob/mL) strain and at 30ºC. It was detected in the *S.kefyr* (SSYS4) strain (6.96±0.50 log kob/mL). While the amylase enzyme activities of yeasts ranged between 8.90-17.97 mm, none of them showed the ability to decontaminate urea. Beta-galactosidase enzyme activities were determined as high (+++) and medium (++) in yeasts.

ScienceCode : 20309
Key Words : Starter activity, yogurt, yeast
Page Number : 59
Supervisor : Prof. Dr. Zehranur YÜKSEKDAĞ

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca değerli tecrübe ve bilgilerinden yararlandığım değerli danışman hocam Prof. Dr. Zehranur YÜKSEKDAĞ' a ve şu an emekli olan hocam Prof. Dr. Yavuz BEYATLI' ya teşekkür ederim. Maddi ve manevi desteğiyle yanımda olmuş olan rahmetli babam Mümtaz MERMER' e, sevgili eşim Uğur Bulut ERYILMAZ' a ve canım kızlarım Esra ERYILMAZ ve Eda ERYILMAZ'a teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ ix

ŞEKİLLERİN LİSTESİ x

SİMGELER VE KISALTMALAR xi

1. GİRİŞ 1

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 3

2.1. Yoğurt 3

2.1.1. Yoğurdun sağlığa faydaları 4

2.1.2. Yoğurt yapımı 5

2.1.3. Süzme yoğurt 6

2.2. Mayalar 7

2.2.1. Mayalarda eşleşme 8

2.2.3. Mayaların biyoteknolojik önemi 8

2.2.4. Yoğurtta mayalar 10

2.3. Starter Aktivite 11

2.3.1. Proteolitik aktivite 12

2.3.2. Lipolitik aktivite 14

2.3.3. Tuz toleransı 14

2.3.4. Amilaz enzim aktivitesi 15

2.3.5. Üreyi hidroliz edebilme yeteneği 15

2.3.6. Beta-galaktosidaz enzim aktivitesi 16

Sayfa

2.3.7. Farklı sıcaklık derecelerinde üremeleri 17

3. MATERYAL VE METOT 19

3.1. Materyal 19

3.2. Metot 19

3.2.1. Besiyerleri ve maya kültürlerinin hazırlanması 19

3.2.2. Mayaların muhafazası 21

3.2.3. Biyolojik aktivite 21

3.2.4. Tuz toleransı 23

3.2.5. Farklı sıcaklık derecelerinde üreme 23

3.3. İstatistiksel Analizler 24

4. DENEYSEL BULGULAR 25

4.1. Proteolitik Aktivite 25

4.2. Lipolitik Aktivite 26

4.3. Amilaz Enzim Aktivitesi 27

4.4. Üre Hidrolizi 27

4.5. Beta-Galaktosidaz Enzim Aktivitesi 27

4.6. Tuz Toleransı 28

4.7. Farklı Sıcaklık Derecelerinde Üreme 29

5. TARTIŞMA 33

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 43

KAYNAKLAR 45

ÖZGEÇMİŞ 59

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Mayaların farklı sıcaklık derecelerinde üremeleri 17

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan mayalar..... 19

Çizelge 3.2. Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD) besi yeri içeriği 20

Çizelge 3.3. Proteolitik enzim aktivitesi sonuç değerlendirmesi 22

Çizelge 4.1. Mayaların starter kültür aktiviteleri 25

Çizelge 4.2. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların tuz toleranslılıkları (log kob/mL)..... 30

Çizelge 4.3. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların farklı sıcaklık derecelerinde üremeleri..... 31

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Endüstriyel olarak yoğurt üretim aşamaları 6

Şekil 2.2. Endüstriyel olarak süzme yoğurt üretimi aşamaları 7

Şekil 2.3. Mayaların modern biyoteknolojide uygulama alanları 10

Şekil 4.1. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların proteolitik aktiviteleri 26

Şekil 4.2. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların lipolitik aktiviteleri 26

Şekil 4.3. Köy ve süzme yoğurtlarından elde edilen mayaların amilaz enzim aktiviteleri 27

Şekil 4.4. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların tuz toleranslılıkları 29

Şekil 4.5. Köy ve süzme yoğurtlardan elde edilen mayaların 30ºC ve 37ºC'de üremeleri 31

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
%	Yüzde
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
Ca	Kalsiyum
dk	Dakika
g	Gram
kob	Koloni oluşturan birim
mL	Mililitre
mm	Milimetre
NaCl	Sodyum klorür
pH	Hidrojen gücü
A	Alfa
B	Beta

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
cfu (kob)	colony forming unit=koloni oluşturan birim
EPS	Ekzopolisakkarit
GRAS	Generally recognized as safe =Genel olarak zararsız
IPTG	İzopropil-β-D-tiyogalaktopiranozit
LAB	Laktik Asit Bakterileri
spp	Bir cinse ait tüm türler
subsp	Alttür
YAC	Yapay Maya Kromozomu
YEPD	Yeast Extract-Peptone-Dextrose

1. GİRİŞ

Mayalar, Ascomycetes'lere dâhil olan sıvı ya da nemli ortamlarda yaşayabilen bir hücreli funguslardır (Campbell, Reece, 2006). Fungusların bir hücreli yaşam formudur (Madigan, Martinko, Bender, Buckley, Stahl, 2021). Mayalar; su, hava ve gıdada yaygın olarak bulunurlar, hayvansal ve bitkisel kökenlidir; İnsan bağırsağındaki mikrobiyotanın %<0,1'ini oluşturmaktadırlar (Alkalbani ve diğerleri, 2022). Çoğu maya türü, insanlar ve hayvanlar için patojenik değildir ve bu nedenle, insan faaliyetleri için önemli olan çeşitli disiplinlerde daha fazla kullanım görmesi beklenmektedir (Johnson , Carlos, 2011). Yoğurt tipik *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'tan oluşan karışık starter kültürleri kullanılarak üretilen fermente bir süt ürünüdür (Ayivi, İbrahim, 2022). Aynı zamanda yutulduğunda bağırsak mikrobiyomunu destekleyen, yararlı bakteri sağlayabilen ve böylece belirli sağlık faydaları sağlayan probiyotik bir gıda ürünü olarak kabul edilmektedir (Weerathilake, 2014). Yoğurt üretiminde starter kültür, yoğurda özgü tat ve aromayı vermek, pıhtının oluşmasını sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (Gümüş, 2010). Arzu edilen bu nitelikleri kazandırmak amacıyla kullanılan mikroorganizmalara starter kültür denilmektedir. Aroma ve tat değişimine neden olmadan yoğurdun raf ömrünü uzatma, viskozite ve tekstürel özelliklerini iyileştirmek, tüketici beklentisine uyan ve standart şekilde olan yoğurt üretmek amacıyla kullanılmaktadır (Akan, Yerlikaya, Saygılı, Kınık, 2020). Modern yöntemlerle yüksek kalitede ürün elde etmek için bu özelliklerin bilinmesi gerekmektedir. Çünkü geleneksel yöntemle üretilen fermente ürün başarısız fermantasyona, bozulmaya neden olabilmektedir. Mayalar biyoteknoloji de birçok önemli görevi yerine getirmektedir. Fermente süt ürünlerindeki mayalar doğal olarak bulunurlar ya da ortama ilave edilebilirler. Mayalar, laktik asit bakterileri (LAB) ile süt ürünlerinin olgunlaşmasında önemli katkı sağlarlar (Viljoen , B.C., 2006). S*accharomyces* suşları hala gıda fermantasyon işlemlerinde kullanılan ana mayalar olmasına rağmen, çok sayıda çalışma *Pichia* veya *Kluyveromyces* suşları gibi diğer organizmaların potansiyelini göstermiştir (Liszkowska , Berlowska, 2021). Mayalar destekleyici kültürler olarak fermente ürünlerin olgunlaşmasında, aroma ve kıvamın gelişmesinde katkıda bulunmaktadırlar (Uzundağ, Arslan, Yüksekdağ, Beyatlı, Sakallı, 2020). Günümüzde de yoğurt üretiminde tek suşlu kültür kullanımı büyük oranda yoktur (Özer, 2006). Gıda kaynaklı birçok LAB (Laktik asit bakterileri), GRAS (Genel Olarak Güvenilir) statüsündedir fakat LAB arasında artan antibiyotik dirençlilik ve bu özelliğin patojen bakterilere aktarılabiliyor olması, LAB'ın gıdalarda starter kültür olarak kullanılmasını

sınırlamaktadır (Ksonzekova ve diğerleri, 2016). Maya türlerinin fermente ürünlerde bulunmaları avantaj sağlarken, bazı maya türlerinin ise bu ürünlerde bulunması bozulmaya, arzu edilmeyen tat ve aromanın geliştirilmesine neden olabilmektedir (Welthagen ve Viljoen, 1996). Yoğurt içinde doğal olarak bulunan ya da kontamine olabilen mayaların starter özelliklerinin çalışılması bilim dünyasında ilgi görmektedir. Bu amaçla bu tez de süzme ve köy yoğurtlarından izole edilmiş olan mayaların proteolitik aktivite, lipolitik aktivite, amilaz enzim aktivitesi, üreaz enzim aktivitesi, beta-galaktosidaz enzim aktivitesi, tuz toleransı ve farklı sıcaklık derecelerinde üreme gibi bazı starter aktivite özellikleri araştırılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Yoğurt

Fermente süt ürünleri arasında en çok bilinen ve tüketilen süt ürünü olan yoğurt, özellikle çeşitli starter kültürler kullanılarak laktik asit fermantasyonu yoluyla üretilir. Özellikle *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* gibi canlı bakteri suşları içeren önemli bir fermente gıda ürünüdür (Ayivi; Selam A. İbrahim, 2022). Yoğurt, sütün mayalanmasıyla elde edilen besin maddesidir. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde yoğurt; "simbiyotik kültürler olan *Lactobacillus bulgaricus* ile *Streptococcus thermophilus*'un dahil olduğu fermente süt ürünü" olarak tanımlanmaktadır (URL3). Hoş tadı ve dokusunun yanında besin ve biyoaktif bileşik kaynağı nedeniyle yaygın tüketilen süt bazlı üründür (Tiwari, KavitakePalanisamy, Devi, Halady, Shetty, 2021).

Yoğurdun ilk defa nerede, kimlerce ve ne zaman üretildiğine dair farklı bilgiler bulunmaktadır. Arkeolojik çalışmalar sonucunda, yoğurdun insanlığın gıda toplayıcısı konumdan üretici konuma geçtiği dönemden (M.Ö. 5000-10000 arası) bu yana bilindiğini göstermektedir (Pederson, 1979). Yoğurtla ilgili bilgilerin eskiçağ yazıtlarında ve kutsal kitaplarda geçtiğinden de söz edilmektedir. Meleklere armağan olarak insanların yoğurt sunduğu ya da Budist Türk kavimlerinin korunmak için meleklere yoğurdu adak olarak sundukları literatürlerde yer almaktadır. İncil'de Musa ve İbrahim peygamberlere yoğurdun hediye olarak sunulduğu bilgisi yer almaktadır (Kurt, 1995). Bu yiyeceğin en az 1000 yıl önce Türk ülkelerinde işlendiği ifade edilmektedir (Yöney,1979). Divan-ı Lügati Türk ve Kutadgu Bilig adlı eserlerde yoğurt kelimesi bugünkü anlamıyla kullanılmıştır (İzmen, 1935). Tarihçilerin çoğunluğuna göre yoğurdun Orta Asya'da ki göçebe topluluklarca geliştirildiği kabul görmektedir. Bu insanlar hayvanlardan sağım yapmayı keşfetmeleriyle yoğurt yapmayı da keşfetmişlerdir (Gümüş, 2010). Moğol tarihinde; Cengiz Han kurduğu Moğol imparatorluğunun yayılma devrinde ulaklarından biri aracılığıyla köylüden matarasına su konmasını istediği, Moğol istilasından rahatsız olan köylü mataraya su yerine süt koyduğu, asker çölde giderken susayınca matarasında su yerine beyaz bir sıvı olduğunu fark etmesiyle ve sıvıyı içmek zorunda kalmaları ve içtikleri bu sıvının tadını beğenmeleri şeklinde anlatılmaktadır. Askerler tadını beğenince tulum içerisinde doğal yolla fermente olan sütü Cengiz Hanın ordusunun beslenme listesine

ürünü eklediği bildirilmektedir (Özen, 2011). Türklerin Orta Asya'dan batı ve güneye göçüyle birlikte süt mayalanması tekniği de Dünya'nın birçok bölgesine (Anadolu, Kafkaslar, Doğu ve Orta Avrupa ülkeleri, Çin ve Hindistan) yayılmıştır (Gümüş, 2010). 16. yüzyılda I. Fransuva'yı tedavi amacıyla Kanuni Sultan Süleyman tarafından görevlendirilen hekim tarafından Fransa'ya götürüldüğü ve o tarihlerde Fransa'da genel olarak ilaç olarak kullanıldığı ifade edilmektedir (Yöney, 1979). Yoğurt, günümüzde de Asya, Akdeniz ve Avrupa ülkelerinde üretilmektedir.

2.1.1. Yoğurdun sağlığa faydaları

Besin değeri süte oranla daha yüksek olmakla birlikte önemli bir protein, vitamin, yağ, mineral madde kaynağı olduğu bildirilmektedir. Fermantasyon aşamasında laktozun bir kısmı hidrolize olduğundan sütü sindirmekte zorluk çeken insanlar için alternatif olduğu bildirilir. Çünkü sindirimi daha kolaydır ve sindirim sistemini de düzenleyicidir (Gümüş, 2010). Yoğurttaki vitamin ve minarellerin biyolojik yarayışlılığı yüksektir (Özer , 2006). Vücuda önemli miktarda kalsiyum sağlayabilir (Mckinley, 2005). Ayrıca; ekşimiş süt ürünleri binlerce yıldır kadınların vücut ve saç bakımında, ishal tedavisinde, hayvanların temizliğinde, kadınların vajinal akıntılarının tedavisinde kullanılmaktadır (Özen, 2011). Yoğurt ve peynir gibi fermente süt ürünleri, sağlıklı besin içerikleri, duyusal özellikleri ve çeşitli diyetlerle uyumlulukları nedeniyle yaygın olarak tüketilmektedir. Yoğurt birçok insanın beslenmesinde özel bir yer tuttuğu için güvenli ve kaliteli yoğurt üretimi çok önemlidir (Aslani ve diğerleri, 2023).

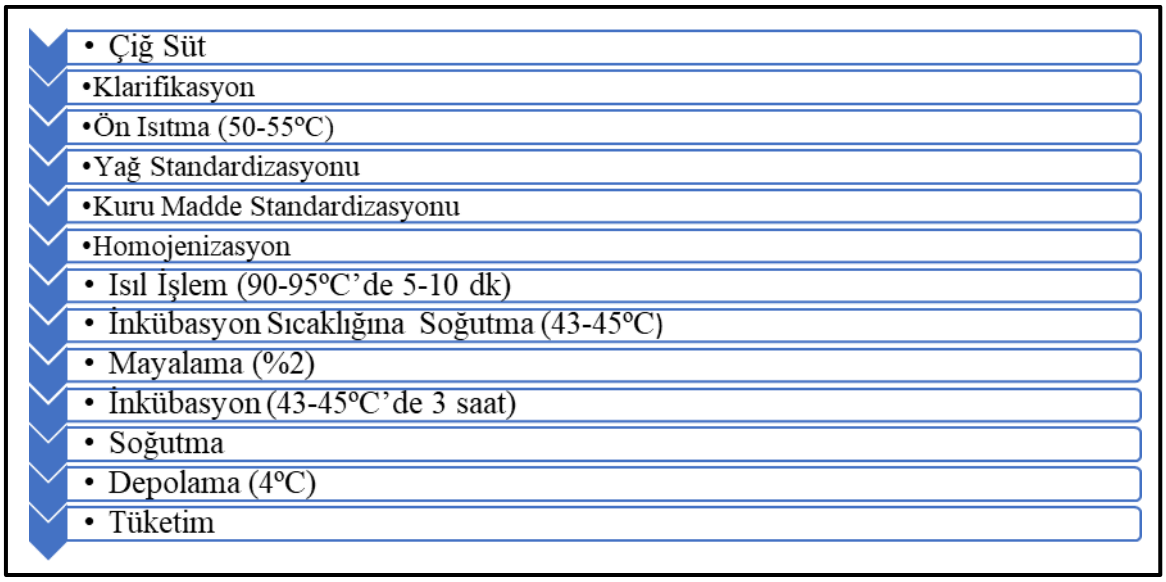
Yoğurt, sağlık açısından birçok fayda sağlayan besleyici bir gıda olan yoğurdun sağlığa faydaları kısaca özetlenecek olursa;

- *Bağırsak Sağlığı:* Yoğurt içindeki probiyotikler sayesinde sindirim sistemini düzenlemektedir. Probiyotikler, bağırsaklardaki faydalı bakterilerin çoğalmasına yardımcı olarak sindirimi kolaylaştırır, bağışıklık sistemini güçlendirir ve bazı sindirim sorunlarının (şişkinlik, kabızlık gibi) önlenmesine yardımcı olur.
- *Kemik Sağlığı:* Yoğurdun yüksek kalsiyum içeriği sayesinde kemiklerin güçlenmesine ve kemik erimesi riskini azaltmaya yardımcı olur. Özellikle büyüme çağındaki çocuklar ve menopoz dönemindeki kadınlar için önemli bir kalsiyum kaynağıdır.

- *Bağışıklık Sistemi:* Yoğurdun probiyotik içeriği, bağışıklık sistemini güçlendirerek vücudu hastalıklara karşı korur. Özellikle soğuk algınlığı ve grip gibi mevsimsel hastalıklara yakalanma riskini azaltabilir.
- *Kas Kütlesi:* Yoğurt, kaliteli protein kaynağı olduğundan kasların onarılmasına ve büyümesine yardımcı olur.
- *Cilt Sağlığı:* Yoğurdun içindeki laktik asit bakterilerin ürettikleri laktik asit, cildin pH dengesini koruyarak akne ve egzama gibi cilt sorunlarının giderilmesine yardımcı olur.
- *Kan Basıncı:* Yoğurdun düzenli tüketimi, kan basıncını düşürmeye yardımcı olabilir. İçeriğindeki potasyum, vücuttaki sodyumun etkilerini dengeleyerek tansiyonu kontrol altında tutar.
- *Kilo Kontrolü:* Yoğurt, tokluk hissi vererek daha az yemek yemenize yardımcı olabilir. Özellikle düşük yağlı yoğurtlar, kilo verme sürecinde tercih edilebilir (Gümüş, 2010; Özer , 2006; Özen, 2011; Aslani ve diğerleri, 2023).

2.1.2. Yoğurt yapımı

Geleneksel yöntemde kaynatılıp soğutularak ılık hale getirilmiş süte bir miktar yoğurt katılıp uzun süre karanlıkta ve sıcak tutularak hazırlanmaktadır. Bu ilkel düzen ülkemizde bozulmuş değildir (Yöney, 1979). Teknolojinin gelişmesi ve artan nüfusla birlikte talep artışıyla yoğurt, üretimde geleneksellikten sanayi tipine taşınmıştır. Endüstriyel üretiminde de standartlar belirlenmiş olup *L. bulgaricus, S. thermophilus* starter mikroorganizmalar kullanılarak her firma kendine göre bir standart geliştirmiştir (Demirci ve Ocak, 2020). Endüstriyel olarak, herhangi bir türden elde edilen sütün, başta laktik asit bakterileri olmak üzere gıda sınıfı başlangıç kültürleri kullanılarak fermente edilmesiyle hazırlanmaktadır (Garrigues, 2018). Endüstriyel olarak yoğurt üretim aşamaları Şekil 2.1'de verilmiştir.

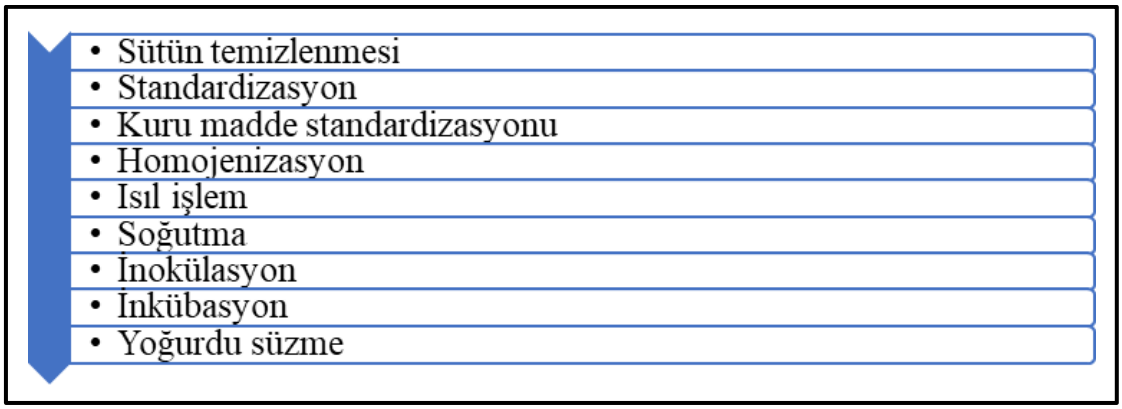


Şekil 2.1. Endüstriyel olarak yoğurt üretim aşamaları (Demirci ve Ocak, 2020)

Yoğurt kültürleri, çok suşlu kültürlerdir. Yoğurt yapımında *Lactobacillus debrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşları kullanılmaktadır. Her iki suşun birlikte kullanımı bu iki mikroorganizma arasında simbiyoz oluşması bakımından avantajlıdır. (İnal, Ergün, 1990). *S. thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* süt fermantasyonu esnasında birbirlerine besin bileşenlerini sağlamaktadır. *S. thermophilus* formik asit ile bazı peptitleri sağlarken; *L.delbrueckii* subsp.*bulgaricus* de methiyonin, lösin, aspartik asit, lisin gibi aminoasitleri üretmektedir. Bu oluşan bileşenler hem her iki mikroorganizma için hem de yoğurdun tat ve aroması gelişmesinde önemli olmaktadır (Demirci ve Ocak, 2020).

2.1.3. Süzme yoğurt

Konsantre yoğurt 'süzme yoğurt' olarak adlandırılmaktadır (Kırdar ve Gün, 2007). Kuru madde oranı yüksek olup, yumuşak ve kolay sürülebilen yapıda olmaktadır (Yaralı ve Çetiner, 2020). Türk Gıda Kodeksi'ne göre ise süzme yoğurt, protein oranı en az %5,6 oranına yükseltilmiş yoğurt olarak tanımlanmaktadır (Türk Gıda Kodeksi, 2009). Geleneksel yöntemlerle süzme yoğurt üretimi, klasik yoğurdun bez torbalar içinde süzdürülmesi ile elde edilmektedir. Bu süzülme işlemi de 20-30 saat sürebilmektedir (URL2). Endüstriyel yöntemle süzme yoğurt aşamaları ise Şekil 2.2'de gösterildiği şekildedir.



Şekil 2.2. Endüstriyel olarak süzme yoğurt üretimi aşamaları (Çetiner, 2017)

2.2. Mayalar

Mayalar, Fungi Alemi'nde yer alan tek hücreli ökaryotik mikroorganizmalardır (Thieman ve Palladino, 2013). Mayalar, bitki özsuyu ve hayvan dokuları dahil, nemli veya sıvı ortamlarda yaşayan bir hücreli fungus olup Ascomycetes'lere dahildir (Campbell ve Reece, 2006). Boyutları, türlere ve kültür koşullarına göre değişmek üzere, 2-8 µM çapında 3-15 µM uzunluğundadır. Özellikle aktif üreme devresinde düz veya dallı zincirler yaparlar. Kloroplast içermediklerinden fotosentez yapamazlar. Kitin yapılı hücre duvarları vardır. Maya hücrelerinin bakterilerden mikroskobik olarak farkı, nukleus ve sitoplazmik vakuoller gibi hücre içi yapılarının açık biçimde gözükmesi ve büyük boyutta olmasıdır. Mayalar meyve, çiçek ve ağaç kabukları gibi şeker bakımından zengin habitatları tercih etmekle birlikte (Madigan, Martinko, Bender, Buckley, Stahl, 2021) cildimizde, sindirim kanalımızda ve akciğerlerimizde de yaşamaktadırlar (Sheldrake, 2022). Fakültatif aerop olduklarından oksijenli ve oksijensiz solunum yapabilmektedirler. Eşeyli ve eşeysiz üreme görülmektedir. Alkol ve ekmek yapımında kullanılırlar. Bazı türleri patojendir (*Candida albicans, Cryptococcus neoformans, Malassezia pachydermatis*) (Üstel, 2020). Birçok maya türü özellikle böcekler başta olmak üzere hayvanlarla simbiyotik olarak yaşamaktadır. En önemli ticari mayalar *Saccharomyces* cinsine ait ekmek ve bira mayalarıdır. Ökaryot yaşamın en basit formu mayalardır ve insan genlerinin birçoğunun eşdeğerini içerir (Sheldrake, 2022). Oksijen varlığında (aerobik koşullar) ya da oksijen yokluğunda (anaerobik koşullar) gelişebilmektedirler. Çoğunluğu bakterilerden büyüktür. Maya tipleri küresel, eliptik, silindirik gibi çeşitli şekiller göstermektedir (Thieman ve Palladino, 2013).

Mayalar, dünyanın tüm biyomlarında yaygın olarak dağılmıştır. Atmosferin üst seviyelerinde (stratosferdeki bulutların üstünde), okyanusların en derin kısımlarında, deniz altındaki akiferlerde, eski buzul buzlarında filosferde bol miktarda bulunurlar. Mayaların ortakları arasında virüsler, bakteriler, diğer mantarlar, algler, bitkiler ve hemen hemen her türden hayvan bulunmaktadır (Kurtzman, Fell, Boekhout, 2011).

2.2.1. Mayalarda eşleşme

Mayalarda tipik olarak eşeysiz üreme görülmektedir. Hücre bölünmesi ya da ana hücreden tomurcuk hücrelerin kopması ile gerçekleşmektedir. Bazıları ise askus ya da bazidiyum oluşturup eşeyli olarak ürerler (Campbell ve Reece, 2006). İki hücrenin birleşmesi yoluyla eşeyli üreme de görülebilir. Bunun sonucunda oluşan zigot mayoz bölünme ile askosporlar oluşturmaktadır. Örneğin *S. cerevisiae* hem haploit hem de diploit safhadayken vejetatif olarak üreyebilmektedir. Eşleşme sonrasında ise nukleuslar kaynaşır ve diploit zigot oluşur. Zigot tomurcuklanmayla vejetatif ürer. Fakat açlık durumunda mayoz bölünme geçirip askosporlar oluşturmaktadır (Madigan, Martinko, Bender, Buckley, Stahl, 2021).

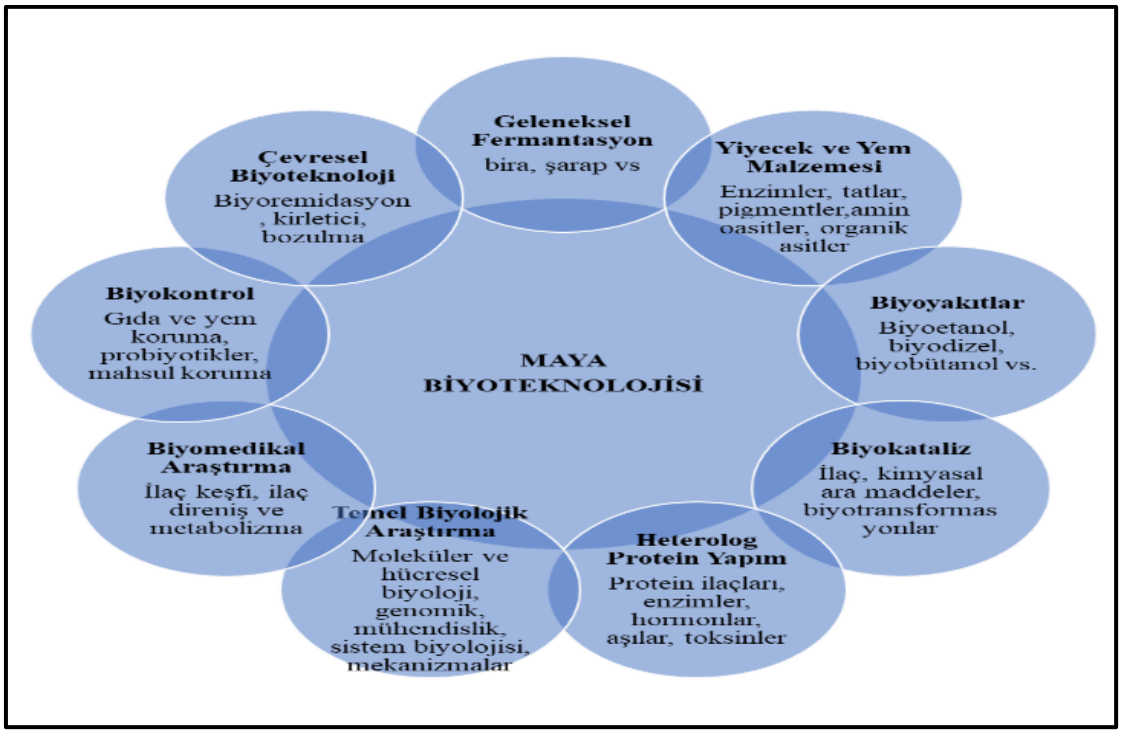
2.2.3. Mayaların biyoteknolojik önemi

İnsanlar, ekmeği kabartmak, birçok içeceği fermente etmek için binlerce yıldan beri mayaları kullanmaktadırlar. Fermantasyon sürecinin kalbi mayalardır (Jacques, Lyons, Kelsall, 2003). Mayalar, bugün biyoloji ve genetikte yaygın kullanılan model organizmalardır (Sheldrake, 2022). Rekombinant insan antikorları üreten mayalar da mevcuttur (Thieman ve Palladino, 2013). Ökaryot bir hücre olan mayada insan genlerinin birçoğunun eşdeğeri bulunmaktadır. *S. cerevisiae*, 1996'da ilk genom dizisi çıkarılan ökaryot olmuştur ve 2010'dan beri Tıp ve Fizyoloji dallarında Nobel Ödüllerinin dörtte birinden fazlası mayalarla yapılan çalışmalara verilmiştir (Sheldrake, 2022). Maya yaşam döngüsünün haploit ve diploit alternatifli olması, genetik analizler için avantajlıdır. Çünkü haploit hücrelerde çekinik allel, yabanıl tipteki allelle maskelenmeyeceğinden çekinik mutasyonları saptamak kolay olmaktadır (Klug, Cummings, Spencer, 2009). Mayalar ökaryot hücrelerdekine benzer yapılara sahip olmalarının yanı sıra; sitoplazmalarında zarla çevrili organeller, hücre iskeleti ve insan hücresindekine benzer olan kromozom yapıları içermektedir. Maya hücreleri aynı zamanda birçok bakteriden daha büyük bir genoma sahiptir. Bu özellikler maya hücrelerini çok değerli bir model organizma yapmaktadır.

Yapay maya kromozomları (YAC'lar) İnsan Genom Projesinde önemli roller üstlenmiştir. İnsan hastalık genlerinin birçoğu mayalarda da bulunmuştur ve böylece bilim insanları bunları araştırıp, bu genlerin insanda nasıl işlev gördüğü mayalarla olan evrimsel ilişkimiz hakkında çok şey öğrenilebilmektedir (Thieman ve Palladino, 2013). Mayanın kolaylıkla üretilmesi, plazmitlerle transforme edilebilmesi, mutasyona uğratılabilmesi, genetik olarak manipüle edilebilmesi gibi özellikleri nedeniyle genetik incelemeler içinde popüler bir model haline gelmektedir (Klug, Cummings, Spencer, 2009).

Ekmek yapımında ve alkol endüstrisinde yüzyıllardır kullanılmakta olup, aşılar ve tedavi edici ajanlar için protein üretiminde kullanılmaktadır (Klug, Cummings, Spencer, 2009). Mayalar fermantasyon koşullarının iyi olmaması veya üretim sonrası kontaminasyondan kaynaklı olarak gıdalarda bozulmalara yol açtığı bildirilmektedir (Akpınar, 2008). Diğer yandan mayaların probiyotik uygulamalarında da artış olmaktadır. ABD Gıda ve İlaç İdaresi *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Candida utilis*'i insan tüketimi için genel olarak güvenli (GRAS) olarak kabul etmiştir (Mirzaei, Mirdamadi, Ehsani, Aminlari, 2018). Maya proteinleri, kısmen bitki proteinlerinin yerini almak için protein bazlı biyo ürünlere dönüştürülebilir ve de tarıma olan bağımlılığı azaltır (Ma ve diğerleri, 2023). Mayalar fonksiyonel gıdaların üretimi için renklendirici ve ilginç katkı maddesi olarak kullanılabildiği kanıtlanmıştır (Rubio ve diğerleri, 2021). Mayalar, özellikle *S. cerevisiae,* protein ekspresyonu için konakçı olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır (Türker, 2014).

Faydalı maya ekstraktları, gıda ürünlerinin doğal biyolojik fermentörlerinden biri olarak kabul edilmiştir. Bu maya metabolitleri, özellikle mikosinleri, yoğurdun saklama süresini uzatmak için kullanılabilir (Abdullah, Elbarbary, Mohamed, Nassif, 2024). Bakterilerin ana probiyotikler olduğu bilinmektedir, ancak son zamanlarda bazı maya türlerinin probiyotik özellikleri araştırılmıştır (Khablenko, Danylenko, Yalovenko, Duhan, Potemskaia, 2022). Maya preparatları, doğal fonksiyonel katkı maddeleri olarak kullanım olanaklarını yoğunlaştıran GRAS statüye sahiptir (Sadowska, Dybkowska, Swiderski, 2017). Ayrıca mayalar, genetik olarak kolayca geliştirilebildikleri, büyük ölçekli fermantasyon için uygun oldukları ve endotoksin içermedikleri için biyoteknolojik çalışmalarda çok umut verici görülmektedir (Beopoulos ve Nicaud, 2012). Mayaların modern biyoteknolojide uygulama alanları Şekil 2.3'de gösterilmektedir.



Şekil 2.3. Mayaların modern biyoteknolojide uygulama alanları (Türker, 2014)

2.2.4. Yoğurtta mayalar

Mayaların GRAS (Generally Recognised as Safe =Genel Olarak Güvenilir) ve QPS (Quality Positioning System=Kalite Konumlandırma Sistemi) olarak rapor edilmiştir (Barin ve diğerleri, 2015).

- ✓ Beslenme açısından zengindir,
- ✓ Düşük pH ve safra koşullarına direnir,
- ✓ Birçok bakteri toksinlerinin inhibisyonu ile birlikte antagonistik etkilere sahiptir,
- ✓ Antibiyotik direnç yeteneğine sahiptir,
- ✓ Bağışıklık modülasyonu mevcuttur,
- ✓ Kolesterol asimilasyonu vardır,
- ✓ İyi antioksidan durumu mevcuttur.

Son yıllarda süt endüstrisinde mayalara verilen önem artmıştır. Yapay koruyucuların veya ürünün kimyasal özelliklerini etkileyecek işlemlerin yerini almak için fermantasyonda mikroorganizmaların kullanımına artan bir ilgi vardır (Fernandez-Pacheco, Monge, Poveda, Diaz-Maroto, Arevalo-Villena, 2022). Süt ürünlerinden izole edilmiş mikroorganizmalara bakıldığında genellikle bakteri olduğu maya türlerinin oldukça sınırlı

olduğu görülmektedir. Mayalar süt ürünlerinde ikincil biyota olarak bulunmaktadır (Ürkek, Şengül, Erkaya, 2014). Son yıllarda yapılan çalışmalarda probiyotik süt, sadece laktik asit bakterilerinin (LAB) bulunmasından ötürü değil, aynı zamanda potansiyel olarak maya aktivitesinden dolayı sağlığı geliştirici etkilere sahip fermente süt sınıfıdır (Galli, Venturi, Mari, Guerrini, Granchi, 2022). Mayalar, süt fermantasyonu sırasında düşük pH, yüksek tuz konsantrasyonu ve düşük sıcaklıkta saklama koşullarına uyum sağlama yetenekleri nedeniyle çeşitli fermente gıdalarda bulunur (Chaveslopez ve diğerleri, 2012). Maya ve küf sayısı, yoğurtların mikrobiyolojik kalitesini belirler. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre süt ürünlerinde, maya ve küf sayısı en fazla $1,0x10^2$ ve $1,0x10^3$ kob/g olmalıdır (Tolu ve Altun, 2022).

Aureobasidium pullulans mayası tarafından üretilen doğal bir hücre dışı polisakkarit olan pullulan (PUL) maddesinin az yağlı yoğurda depolama sırasında ilavesinin *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'un canlılığını arttırdığı gösterilmiştir (Kycia ve diğerleri, 2020). Mayalardan *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii, Kluyveromyces marxianus* yoğurt veya ilgili süt ürünlerine dahil edilebilen probiyotik mikroorganizmalar olarak kabul edilmiştir (Olson ve Aryana, 2022). Süt kaynakları, dünya çapında mevcut olan 380'den fazla probiyotik ürünün %80'ini oluşturmaktadır (Küçükgöz, Trzaskowska, Nondairy, 2022).

2.3. Starter Aktivite

Starter kültürler; gıdalarda güvenilir, kontrollü fermantasyon sağlanması ve gıdalara bazı özellikler kazandırması amacıyla kullanılan yararlı mikroorganizmalardır (Çiftçi, Öncül, 2021). Starter kültürler aynı zamanda insan sağlığına zarar vermeyen bunun yanı sıra mayalanma sürecinde insan sağlığına faydalı etkiler gösteren mikroorganizmalardır (Halkman ve Taşkın, 2001). Güvenilir ve kontrollü bir fermantasyon için gıdalara eklenir (Çiftçi ve Öncül 2021). Mayalar, hücre dışı enzimatik aktivitelerde büyük biyoteknolojik potansiyele sahiptir ve mayadan üretilen enzimler, hayvan veya bitki kaynaklı enzimlerden daha çevre dostu ve ekonomik olma eğilimindedir (Carvalho ve diğerleri, 2021). Gıda kaynaklı çoğu LAB, GRAS (Genel Olarak Güvenilir) statüsünde olmasına rağmen, LAB arasında artan antibiyotik dirençlilik ve bu özelliğin patojen bakterilere aktarılabiliyor olması, LAB'ın özellikle ısıl işlem yapılmadan tüketilen gıdalarda starter kültür olarak kullanılmasını sınırlamaktadır (Ksonzekova ve diğerleri, 2016). Bu nedenle mayaların

starter kültür olarak değerlendirilmesi çalışmaları artmaktadır (Uzundağ, Arslan, Yüksekdağ, Beyatlı, Sakallı, 2020). Yoğurttaki starter kültür bakterileri gastrointestinal koşullarda hayatta kalmaz veya insan bağırsağını kolonize etme yeteneğinden yoksundur, bu da terapötik faydalar sağlamalarını sınırlar (Fazilah ve diğerleri, 2018). Gastrointestinal sistemden geçebilen ve tüketici sağlığına fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olduklarından, insanlar için fonksiyonel faydalar elde etmek için yoğurt başlangıç kültürleri ile birlikte probiyotik mikroorganizmalar eklenir (Guimarães ve diğerleri, 2020). Yoğurttaki probiyotik mikroorganizmalar esas olarak *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerinin suşlarından oluşur, ancak *Bacillus, Pediococcus* ve bazı maya türleri de vücudu zararlı ajanlara karşı korumada ve bağışıklık sistemini güçlendirmede önemli bir rol oynadıkları için sağlıkla ilgili olumlu yönleri nedeniyle tanımlanmıştır (Soccol ve diğerleri, 2010). Başlangıç kültürünün türü yoğurt kalitesini etkileyebilir. Örneğin, ekzopolisakkarit (EPS) üreten başlangıç kültürleri, yüksek su tutma ve doku iyileştirme yetenekleri nedeniyle giderek daha popüler hale gelmektedir (Feng , Gyawali, Chen, Lorenzo, Ibrahim, 2022).

2.3.1. Proteolitik aktivite

Proteinleri parçalama yeteneği olarak ifade edilen proteolitik aktivitede proteaz enzimleri gereklidir. Proteolitik enzimler peptit bağlarının hidrolizinden sorumludur. Proteazlar proteinlerden peptitleri ve amino asitleri oluşturur, böylece maya için asimile edilebileceği nitrojeni arttırır ve ürünün aroması üzerinde olumlu bir etki oluşturur (Chasseriaud ve diğerleri, 2015). Proteazlar endüstri için en önemli olan enzimlerdir ve toplam endüstriyel enzim pazarının yaklaşık %60'ını oluştururlar (Rodarte, Disney Ribeiro Dias , Danielle Marques Vilela , Rosane Freitas Schwan, 2011).

Proteolitik suşlar, peptit bağlarına etki ederek ve bunun sonucunda amino asitlerin salınması ve süt ürününün aroması ve dokusunda iyileşme için yardımcı kültürler olarak kullanılabilmektedir (Martins, 2018). Proteolitik aktivite gösteren mikroorganizmalar özellikle süt ürünlerinde proteini parçalayarak istenmeyen tat ve kokulara da neden olabilmektedir (Demir, Öksüztepe, İncili, İlhak, 2015).

Yoğurtta geleneksel olarak bulunan *S. salivarius* ssp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* bakterilerinin proteolitik aktivitelerinin eksikliğinden dolayı sütteki gelişmeleri

yavaştır. Bundan dolayı yoğurt bakterilerinin fermantasyon süresinin azaltılması amacıyla proteolitik aktivitesi yüksek olan mikroorganizmaların katılması önemlidir (Sağdıç, Küçüköner, Özçelik, 2004). Ticari yoğurtlarda mikrobiyotaya *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* hakim de olsa geleneksel yoğurtlarda bu mikroorganizmanın yanı sıra probiyotik özellik taşıyan bazı farklı LAB ve mayalar da biyotaya dahil olmaktadır. Ancak çoğu zaman mayalar gıda kalite indikatörleridir ve kirliliğin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Mayalar çok miktarda bulunduğunda yoğurdun tat ve aromasını kötü etkilemektedir. Probiyotik özellik gösteren türlerin ise yoğurtta starter kültür olarak kullanılması yoğurt kültürüne zenginlik katacağı düşünülmektedir (Çetin, 2017). Yoğurdun probiyotik mikroorganizmaların proteolitik aktiviteleri sayesinde çok sayıda potansiyel biyoaktif peptit üretmektedir (Sah ve diğerleri, 2014). Bu peptitlerin insan sağlığı açısından önemli etkileri olduğu bildirilmiştir (Pessione ve Cirrincione, 2016). Bazı mayaların yüksek proteolitik aktiviteye sahip olmaları aroma oluşumuna öncülük eden maddelerin meydana gelmesinde büyük rol oynamaktadır. Bununla birlikte mayalar, diğer mikroorganizmalar için gerekli biotin, niasin, riboflavin, pantotenik asit gibi gelişme faktörlerini salgılayarak gelişimi desteklemektedir (Kesenkaş ve Akbulıut, 2006).

Mikroorganizmanın yavaş proteolitik aktivitesi onun gelişimini yavaşlatabilir (Gürsoy, 2006). Yüksek bir proteolitik aktivite sonucu ise yoğurtta tat ve kokuda bozulmaya yol açabilir. Süt proteinlerinin enzimatik hidrolizi çeşitli büyüklüklerde peptitler ve serbest aminoasitlerin açığa çıkmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu muhtemel değişiklikler yoğurt oluşumu esnasında etkilenebilir ve yoğurdun fiziksel yapısını etkileyebilmektedir (Akın, 2006). Bazı mayalarında yüksek proteolitik aktivite göstermesi sebebiyle yoğurdun tat ve aromasına katkı sağlayabilir ve yoğurttaki enzim sisteminin parçası olabilir. Mayalar tarafından salgılanan karboksipeptidaz ve aminopeptidaz gibi proteolitik enzimler ile acılaşmaya sebep veren uzun zincirli peptitler, daha kısa zincirli peptitlere ve aminoasitlere parçalanmaktadırlar (Yalçın, Şenses Ergül, Özbaş, 2011).

Yoğurt üretiminde görev alan bakterilerin proteolitik aktiviteleri sonucu oluşan serum ve kazein proteinlerinin hidrolizi sonucu oluşan biyoaktif peptitler insan sağlığını olumlu yönde etkilemektedir (Gürbüz, Erkaya Kotan, Gürmeriç, Şengül, 2023). *Aspergillus fumigatus, Basidiobolus* spp., *Conidiobolus* spp., *Candida albicans, Cryptococcus neoforman* gibi bazı patojenik mantarlarda proteolitik enzimlerin konakçıyı hidrolize ettiği bildirilmiştir (Muotoe-Okafor, Gugnani, Obidoa, 1996). Proteolitik aktivitesi 50 µg/mL

tirozinin üzerinde olan suşlar, oluşan fazla miktardaki aminoasit ve protein kalıntıları sebebiyle acı bir tadın oluşmasına neden olduğundan, fermente süt endüstrisinde tercih edilmemektedir (Özkalp, 2006).

2.3.2. Lipolitik aktivite

Sütün içindeki lipitlerin mikrobiyal hidrolizi sonucu gliserol ve serbest yağ asitlerine dönüştüğü süreç lipolitik aktivite olarak tanımlanabilir. Bu lipitler bütirik, kaproik, kaprik yağ asitleri bakımından zengindir ve düşük moleküler ağırlığındadır. Süt ürünlerinde lipolitik aktivite çok istenmese de bazı süt ürünlerinde aroma ve kıvam oluşumu açısından belirli bir lipoliz seviyesi istenmektedir (Yerlikaya, 2019). Bununla birlikte lipazlar, ürünün duyusal kalitesini artıran uçucu aromatik bileşiklerin öncüleri olan serbest yağ asitlerinin salınmasında önemli bir rol oynar (Meng ve diğerleri, 2018; Bintsis, 2018). Serbest yağ asitleri, tat ve aroma bileşiklerinin öncül maddeleridir. Serbest yağ asitleri katabolik reaksiyon ile laktonlar, alkanlar, metil ketonlar, esterler, sekonder alkoller gibi aromatik bileşiklere dönüştürülür (Collins ve diğerleri, 2004). Maya tür ve suşlarının serbest yağ asitlerinin farklı enzimatik sistemlerle metabolize ettikleri bildirilmiştir. Yoğurt starter kültürleri tarafından yağın hidrolizi sadece sınırlı bir derecede meydana gelmesine rağmen ürünün lezzetini oluşturmaya yeterli olabilir (Suzzi ve diğerleri, 2001).

2.3.3. Tuz toleransı

Potansiyel starter kültür olarak kullanılacak suş, bağırsakta hayatta kalmak için safra ve pankreas tuz toleransına sahip olmalıdır (Kanak, Öztürk Yılmaz, 2019). Aroma üreten mayaların tuz toleransını geliştirmek çok önemlidir (Li ve diğerleri, 2021). Yüksek tuz konsantrasyonları genellikle mikrobiyal metabolizmayı inhibe eder. Bu nedenle temel mikroorganizmaların tuz toleransının iyileştirilmesi önemlidir (Li ve diğerleri, 2021). Mayalar endüstriyel fermentasyonda biyolojik, fiziksel, kimyasal stres koşullarından etkilenebilir. Mayalar, hiper ozmotik ortamlarda hızlı bir şekilde hücre suyunu kaybeder (dehidrasyon olayı). Mayalar, bu stres koşullarına karşı savunma mekanizması geliştirir. Ozmotik stres koşulunda, mayalarda fizyolojik değişiklikler meydana gelir ve birçok mekanizma savunma mekanizması geliştirir (Dejasus ve diğerleri, 2003). Mayaların tuzlu ortama karşı toleransı cins ve türler arasında farklılıklar gösterir (Nasser , El-Moghaz, 2010). Fermente gıdaların çoğunluğunun üretiminde %1-10 NaCl konsantrasyonunda tuz

kullanılmasından dolayı starter ve/veya probiyotik kültür mikroorganizmaların seçiminde tuza dayanıklılık önem taşımaktadır (Ertekin , Çon, 2014). Mayaların olası starter kültür kombinasyonlarında kullanılabilmesi için tuz toleranslarının belirlenmesi önemlidir (Kahve, 2022).

2.3.4. Amilaz enzim aktivitesi

Amilaz, Ca^{+2} gerektiren bir metallo enzimdir. α-1-4 glikozid bağlarını parçalar. Endüstriyel enzimlerin en fazla kullandığı madde nişastadır ve alfa amilaz enzimi nisaştanın α-1,4-glikozidik bağları parçalayıp glikozdan gliko-oligosakkaritlere uzanan birçok ürünün sentezlenmesini sağlarlar. Amilaz enzim üretimi endüstride ekonomik büyüklük bakımından ikinci sırada yer alır (Durak ve Toker, 2015). Çoğunlukla α-amilaz; bakteri, mantar ve maya gibi mikroorganizmalardan sentezlenir (Farooq, Shaukat Ali, Shumaila Mumtaz, 2021). Gıda, deterjan, tekstil, fırıncılık ve biyoyakıt gibi endüstrilerde büyük bir potansiyele sahiptir (Carrasco ve diğerleri, 2016). Nişastanın amilazlarla maltoz ve dekstrine hidrolizi, en önemli enzimatik reaksiyonlardan biridir, endüstriyel ölçekte gerçekleştirilir (Hernández-Montañez ve diğerleri, 2012). α-amilazın başlıca işlevi nişasta ve glikojenin yıkımıdır (Demirel, 2021).

Amilaz enzimi ticari olarak kullanılan ilk enzimdir (Güven, 2011). Amilaz enzimine sahip bazı suşların enzim teknolojisinde kullanımı tavsiye edilebilmektedir (Günyaktı, 2017). Bugün mikroorganizma kaynaklı olan çok sayıdaki amilaz enzimleri hayvan ve bitki kaynaklı enzimlere nazaran daha stabil (kararlı) olmaları sebebiyle, nişasta işleme endüstrisinde neredeyse tamamen yerini almıştır ve çok geniş bir yelpazede kullanılmaktadır (Souza, 2010).

2.3.5. Üreyi hidroliz edebilme yeteneği

Mikroorganizma salgıladığı üreaz enzimi ile alkali bir ortam oluşturarak mide asidinden korunmaktadır (Ceyhan ve Alıç, 2012). Üreaz, üreyi amonyak ve karbondioksite hidrolizini katalize eder (Jahns, 1995). *Sporobolomyces roseus* mayasından üreaz saflaştırılmıştır ve enzimin 70ºC ısıya kadar dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Üreazın üreyi amonyağa (NH_3) parçalanmasıyla karbonik asidin yan ürün olarak oluşması akabinde oluşan amonyak birikimi nedeniyle ortam asitliği kısmen bazik karakter kazanıp sütte

asitlik gelişimi yavaşlamaktadır (Spinnler ve Corrieu, 1989). Bu olumsuzluğun giderilmesi amacıyla yoğurt üretiminde üreaz aktivitesine sahip olmayan mutantların kullanılması önerilmektedir (Monnet ve diğerleri, 2004; Mora ve diğerleri, 2002; Mora ve diğerleri, 2004; Louaileche ve Bracquart, 2001).

Mayalar çoğalırken asimile nitrojen kaynağına gereksinim duyar ve fermantasyon süresinde üreyi yan ürün olarak arjinin aminoasit metabolizmasında oluşturur. Mayalar tarafından fermentasyonda oluşturulan üre miktarı suşa özgüdür. Üre (NH_2CONH_2) nitrojen bakımından zengin ve maya için nitrojen kaynağıdır. Ortamdaki asimile nitrojen kaynağı azaldığında mayanın aktivasyonu zayıflar ve inhibisyona neden olur (Satyanarayana, 2001).

2.3.6. Beta-galaktosidaz enzim aktivitesi

β-galaktosidaz, laktozu glikoz ve galaktoza hidrolize eden ve süt ve süt endüstrisinde faydalı kullanımı olan bir enzimdir (Ayivi, İbrahim, 2022). β-galaktosidaz, çoklu uygulamaları nedeniyle süt ve ilaç endüstrileri için ana enzimdir (Singh ve Sambyal, 2022). β-Galaktosidaz ayrıca bakteri, maya, mantar, bitki ve hayvanlar dahil olmak üzere birçok kaynaktan elde edilir. Gıda endüstrisinde prebiyotiklere olan talebin artması ve yeni oligosakkaritlerin aranması, araştırmacıları çeşitli özelliklere sahip yeni β-galaktosidaz kaynakları aramaya zorlamıştır (Kalathinathan, Sain, Pulicherla, Muthukaliannan, 2023).

Organizmada yeterli miktarda laktaz enzimi sentezlenemediği durumda, laktoz bağırsaklarda parçalanamamakta ve emilememektedir. Bu durum kramp, ishal gibi sindirim bozukluklarına, neden olmaktadır. Buna laktoz intoleransı denir (Gbadamonsi ve diğerleri, 2020). Mikrobiyal beta-galaktosidazların ticari önemi diğer kaynaklara (bitkiler, hayvan organları) oranla daha fazladır (Uyanık, 2008). Çünkü yüksek enzim aktivitesi gösterirler ve kararlıdırlar.

Beta-galaktosidazlar, süt ürünlerindeki laktozun hidrolizi amacıyla gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılırlar (Hosken ve diğerleri, 2023). B-galaktosidaz (laktaz) enzimini süt endüstrisinde kullanımını teşvik eden iki önemli madde vardır. İlki; laktozsuz süt elde eldesi, ikincisi; galaktooligosakkaritlerin biyosentezinin gerçekleştirilmesidir (Yang, 2002). Laktoz, şekerin β-galaktosidaz enzimi ile glikoz ve galaktoza hidrolizi

biyoteknoloji, farmokoloji ve gıda üretim endüstrisinde büyük öneme sahiptir. Dünyadaki yetişkin nüfusunun yaklaşık %70'ine tekabül eden laktoz intoleransı olan bireyler için uygun laktozsuz ürünlerin geliştirilmesini sağlar ve bunun yanı sıra oluşan düşük pH ortamı nedeniyle patojenlerin çoğalmasını inhibe eder (Hosken ve diğerleri, 2023). Son yıllarda değerlendirilen β-galaktosidazların bir başka uygulaması, fermantasyon işlemi sırasında pH'ın düşme sebebiyle güvenliğin artmasıdır (Hosken ve diğerleri, 2023).

2.3.7. Farklı sıcaklık derecelerinde üremeleri

Mayaların, yüksek sıcaklık ve liyofilizasyon gibi endüstriyel koşullara karşı iyi direnç gösterdiği bildirilmiştir (Alkalbani ve diğerleri, 2022). Süt ürünlerindeki starter kültürler; termofilik ve mezofilik kültürler olarak iki gruptur (Yaygın ve Kılıç, 1993; Mayra-Makinen ve Birget, 1998). Fermantasyon ve depolama sırasındaki sıcaklık hem optimal büyüme koşulları açısından hem de bu mikroorganizmaların sayısını azaltmada probiyotiklerin korunmasında çok önemli bir rol oynar (Mortazavian ve diğerleri, 2011; Beheshtipour ve diğerleri, 2012).

Süt, ender hallerde ısı işlemine tabi tutulmadan tüketilir (İnal ve Ergün, 1990). Yoğurt yapımında kullanılacak süte uygulanan ısıl işlemin yoğurdun sertliği, konsistensi ve serum ayrılması üzerine olumlu etkisinden dolayı yoğun olarak kullanılmaktadır. Isıl işlemler, ortaya çıkan bazı aminoasitler ve inhibitörlerin inaktive edilmesiyle yoğurt sütünü starter kültürlerin daha uygun hale gelmesi sağlanır. Sıcaklık mayaların üreme ve metabolizmalarında önemlidir. Sıcaklık maya metabolizmasında enzim aktivitesini etkileyen önemli bir faktördür. Mayaların farklı sıcaklık derecelerinde üremeleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir (Jackson, 2000).

Çizelge 2.1. Mayaların farklı sıcaklık derecelerinde üremeleri

Sıcaklık Derecesi	Maya Aktivite
0-10 ºC	Üreyemez. Ancak maya hücrelerinde ölüm de meydana gelmez.
10-37 ºC	İyi üreme ve çoğalma.
30-37 ºC	Optimum ve hızlı üreme.
37-50 ºC	Stres ortamı, hücresel bileşimde bozulma.
>50 ºC	Enzim denatrasyonu, hücresel ölüm.

Yoğurt üretimi 43-46ºC'de gerçekleştirilir. Genelde fermente süt ürünleri 5ºC'de buzdolabında farklı sürelerde korunur. Fermente ürünlerinin üretiminde uygulanan farklı işlemler sonucu mikrobiyal popülasyonda farklılıklar ortaya çıkabilmektedir. Bu ürünlerde de mayalar tür, cins ve sayısı bakımından farklılık gösterebilir. Ayrıca, bazı süt ürünlerin üretiminde destekleyici maya kültürleri de kullanılmaktadır (K.P., 2015). Yüksek sıcaklıklara dayanıklılık birçok endüstriyel enzimlerde fazla istenen bir özelliktir. Çünkü enzimlerin kullanıldığı işlemler genel olarak yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilir (Güven, 2011). Starter kültür olarak kullanılacak olan mayaların gelişme sıcaklıklarının belirlenmesi fermente gıdaların üretim ve depolama şartlarının belirlenmesi açısından da önemlidir (Ertekin ve Çon, 2014).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu tez çalışmasında, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı stok kültür koleksiyonunda bulunan, (Uysal, 2016) tarafından geleneksel yöntemlerle yapılan yoğurtlardan izole edilen ve tanımlamaları API® / ID 32C kit ile gerçekleştirilmiş 9'u köy yoğurdundan, 5'i süzme yoğurttan olmak üzere toplam 14 maya kültürü kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan suşlar Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan mayalar

No	Kod	Tür	İzolasyon kaynağı
1	SKYP3	*Cryptococcus humicola*	Köy yoğurdu
2	SKYP4	*Cryptococcus humicola*	Köy yoğurdu
3	SKYP5	*Cryptococcus humicola*	Köy yoğurdu
4	SKYP7	*Cryptococcus humicola*	Köy yoğurdu
5	SKYP9	*Saccharomyces cerevisiae*	Köy yoğurdu
6	SKYP10	*Saccharomyces kefyr*	Köy yoğurdu
7	SKYP11A	*Saccharomyces kefyr*	Köy yoğurdu
8	SKYP12A	*Saccharomyces kefyr*	Köy yoğurdu
9	SKYP14B	*Saccharomyces kefyr*	Köy yoğurdu
10	SSYS1	*Saccharomyces kefyr*	Süzme yoğurt
11	SSYS2	*Saccharomyces cerevisiae*	Süzme yoğurt
12	SSYS3	*Saccharomyces kefyr*	Süzme yoğurt
13	SSYS4	*Saccharomyces kefyr*	Süzme yoğurt
14	SSYS5	*Saccharomyces kefyr*	Süzme yoğurt

3.2. Metot

3.2.1. Besiyerleri ve maya kültürlerinin hazırlanması

Çalışmada, maya izolatları YEPD (Yeast Extract Peptone Dextrose) sıvı besi ortamında geliştirilmiştir. Besiyeri içeriği Çizelge 3.2'de verilmiştir. Çizelgede bulunan maddeler belirli miktarlarda tartılmış ve ardından bir miktar distile su ile manyetik karıştırıcıda

tamamen homejen hale gelinciye kadar karıştırılmıştır. Son hacim 1000 mL olacak şekilde üzeri distile su ile tamamlanıp, pH 6,5±0,2'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan besi yeri otoklavda 121ºC'de 15 dk steril edilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. Katı besi yeri hazırlamak için, 1000 mL sıvı besi yeri içerisinde 15 g agar (Merck) olacak şekilde tartılmış ve otoklavda 121ºC'de 15 dk steril edilmiştir. Oda koşullarında sıcaklık yaklaşık 50ºC'ye düştüğünde petri kaplarına aktarılmış agarlar donduktan sonra 37ºC'lik etüve kaldırılmıştır. Bir gece etüvde kalan petrilerin temizliğinden emin olunduktan sonra kullanılana kadar petriler +4ºC'de muhafaza edilmiştir. YEPD besi yeri içeriği Çizelge 3.2'de verilmiştir (Ausebel, ve diğerleri, 1994). Mayaların inokülasyon miktarları %2 olacak şekilde YEPD besi yerlerine ekimleri yapılmış ve 37ºC'de 48 saat geliştirilen kültürler en az iki kez aktifleştirildikten sonra çalışmalara alınmıştır.

Çizelge 3.2. Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD) besi yeri içeriği

Maddeler	Miktar (g/L)
D-Glukoz	20
Yeast Extract	10
Pepton	20
Kloramfenikol	0,1
Agar-agar	15

- *Skim Milk Agar:* 5 g pepton, 3 g Beef extract, 15 g agar, 500 mL skim milk, 500 mL distile su karıştırılmış ve pH 6,8'e ayarlanmıştır. Her petride 15 µL agarlı besi ortamı vardır. Besi ortamı 121ºC'de 15 dk sterilize edilip, steril petri kaplarına aktarılıp donmaya bırakılmıştır (Juszczyk, J.W., Bennie, C.V., 1998).
- *Tibutyrin Agar Dehidre Besiyeri:* 5 g peptone, 3 g yeast extract,10 mL tibutyrin, 15 g agar ile 1000 mL distile su karıştırılıp, pH'sı 7,5±0,2'ye ayarlanmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dk sterilize edilmiş ve 45-50°C'ye soğutulduktan sonra steril petri kaplarına 12,5 mL ilave edilmiştir. (Juszczyk, J.W., Bennie, & C.V., 1998).
- *Starch Hyrolysis Agar:* 5 g beef extract, 20 g soluble starch, 10 g tryptose, 5 g NaCl, 15 g agar, 1000 mL distile su ile hazırlanmış ve pH 7,4'e ayarlanmıştır. Daha berrak görünmesi amacıyla besi ortamına Gram iyot çözeltisi damlatılmıştır (Gram iyot

çözeltisi; %0,5 g iyot, 1 g potasyum iyodür, 98,5 mL distile su içermektedir) (Kim, Kim, Chae, 2004).

- *Üre hidroliz besiyeri:* 20 g üre, 5 g NaCl, 2 g KH_2PO_4, 1 g peptone, 1 g glukoz, 12 mL fenol kırmızısı, 100 mL distile su ile hazırlanıp pH 7'ye ayarlanmış ve 121ºC'de 15 dk steril edilmiştir (Kim, Kim, Chae, 2004).

3.2.2. Mayaların muhafazası

Maya kültürleri YEPD sıvı besi ortamında iki kez aktifleştirilmiş ve basit boyama yapılarak mikroorganizmaların kontaminasyon kontrolü yapılmıştır. Mayaların yapılan çalışmalarda kullanılan kültür stokları gliserol (Merck) ve uygun besi yeri içinde 80ºC'lik derin dondurucu içerisinde, ana stoklar ise liyofilize edilerek +4ºC'de muhafaza edilmiştir (Harrigan ,McCance, 1976).

3.2.3. Biyolojik aktivite

Çalışmada mayaların proteolitik, lipolitik ve amilaz enzim aktivitelerinin görselleştirilmesi hızlı bir şekilde bilgi sağladığından (Baur ve diğerleri, 2015) spot agar plak yöntemi kullanılmıştır. Ancak, bu yöntem ile bu aktivite miktarının belirlenmesi mümkün değildir.

Proteolitik aktivite

Mayaların proteolitik aktiviteleri Spot Agar Test yöntemi ile belirlenmiştir. Mayalar YEPD sıvı besi ortamında 37°C'de 48 saat inkübe edilip aktifleştirilmiştir. %10'luk Skim Milk Agar (Yağsız süt tozu) besi yerine 6 mm çapı olan steril diskler yerleştirilerek üzerine test edilecek aktif maya kültürlerinden disklerin üzerine 5'er µL inoküle edilmiştir. 37°C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda disk etrafında oluşan berrak zonların çapları kumpas (digital caliper) ile ölçülmüştür (Lee, B.H., Simard, & R.E., 1984). Proteolitik enzim aktivite değerlendirmesi ise Çizelge 3.3'deki değerlendirmeler kullanılmıştır (Juszczyk ve diğerleri, 2005).

Çizelge 3.3. Proteolitik enzim aktivitesi sonuç değerlendirmesi

Zon çapı	Sonuç
0	Enzim aktivitesi yok
D<2 mm	Enzim aktivitesi düşük
D<10 mm	Enzim aktivitesi orta
D>10 mm	Enzim aktivitesi yüksek

D=zon çapı

Lipolitik aktivite

Mayaların lipolitik aktiviteleri Spot Agar Testi yöntemi ile belirlenmiştir. Mayalar YEPD sıvı besi ortamında 37°C'de 48 saat aktifleştirilmiştir. Tibutyrin Agar üzerine 6 mm çaplı steril diskler yerleştirilip test edilecek aktif maya kültürlerinden disklerin üzerine 10'ar µL mayalar inoküle edilip 37ºC'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda disk etrafında oluşan berrak zonların zon çapları kumpas (digital caliper) ile ölçülmüştür (Pailin ve diğerleri, 2001).

Amilaz enzim aktivitesi

Mayaların amilaz (nişasta) hidroliz aktivite testleri Spot Agar Testi yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla mayalar YEPD sıvı besi ortamında 37ºC'de 48 saat inkübe edilip aktifleştirilmiştir. Starch Hydrolysis Agar besi yerinin üzerine 6 mm çaplı steril diskler yerleştirilip, 10 µL'lik aktif maya kültürleri disklerin üzerine inoküle edilmiştir. Petriler, 37ºC'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda disk etrafında oluşturulan berrak zon çapları kumpas (digital caliper) ile ölçülmüştür (Kim, Kim, Chae, 2004).

Üre hidrolizi

Mayalar, YEPD sıvı besi ortamına 37ºC'de 48 saat inkübe edilip aktifleştirilmiştir. Sonrasında aktif kültürler üre hidroliz besi ortamına inoküle edilip, 37ºC'de 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde besi ortamının renginin sarıdan pembeye dönüşmesi ile üreaz enzim aktivitesinin varlığı şeklinde yorumlanmıştır. Renk değişimine göre sonuçlar: + (açık pembe); zayıf enzim aktivitesi, ++ (pembe); orta enzim aktivitesi ve +++ (koyu pembe); yüksek enzim aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (Kim, Kim, Chae, 2004).

Beta-Galaktosidaz enzim aktivitesi

Mayaların, β-Galaktosidaz aktivite testleri için mayalar YEPD sıvı besi ortamında 37ºC'de 48 saatte aktifleştirilmiştir. Laktoz içeren ve laktoz içermeyen (kontrol grubu) besi yerlerine ekim yapılmıştır. 3,75 g pepton, 2,25 g yeast extract, 0,008 g brom thymol mavisi, 5 g laktoz, 500 mL distile su ile hazırlanan ve pH 6,9'a ayarlanan laktozlu besiyerine ekilen mayalar 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon bitiminde besi yerinin sarıya dönüşümünün gözlenmesi β-Galaktosidaz enzim aktivitesinin varlığı olarak yorumlanmıştır. Renk değişimine göre sonuçlar: + (kırmızı); zayıf enzim aktivitesi, ++ (sarı); orta enzim aktivitesi ve +++ (koyu sarı); yüksek enzim aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (A., S.S., O.P., 2011).

3.2.4. Tuz toleransı

Mayalar YEPD sıvı besi ortamında 37ºC'de 48 aktifleştirilmiştir. Aktif kültürler %4, %6 ve %10 oranında NaCl içeren ve NaCl içermeyen (kontrol grubu) YEPD sıvı besi ortamına inoküle edilip, 37ºC'de aerobik koşullarda 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Mayalar, seri dilüsyon yöntemiyle dilüe edilmiştir. Elde edilen dilüsyonların her birinden 10'ar µL alınıp, YEPD katı besi ortamlarına drigalski öze ile yayma ekim yapılmıştır. Çalışmalar 2 paralelli olacak şekilde yürütülmüştür. 37ºC'de 24 saaat inkübasyonda bekledikten sonra gelişen mayaların canlı hücre sayımları aşağıda verilen formüle göre kob/mL olarak belirlenmiştir (Barnett, R.W., D., 2000; S.K., 2011).

Toplam canlı hücre sayısı/mL (kob /mL) = Koloni Sayısı x Seyreltme Faktörü (Madigan, Martinko, Bender, Buckley, Stahl, 2021).

3.2.5. Farklı sıcaklık derecelerinde üreme

Mayalar YEPD sıvı besi ortamında 37ºC'de 48 saat aktifleştirilmiştir. Aktif kültürler %2 oranında YEPD sıvı besi ortamına inoküle edilmiş ve farklı sıcaklık derecelerinde (30 ve 37ºC) 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde farklı sıcaklık derecelerinde gelişen mayaların seri dilüsyonları yapılarak YEPD agar besiyerlerine 100 µL ekimden sonra 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra canlı hücre sayımları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (kob/mL) (Barnett, 2000).

Toplam canlı hücre sayısı/mL (kob /mL) = Koloni Sayısı x Seyreltme Faktörü (Madigan, Martinko, Bender, Buckley, Stahl, 2021).

3.3. İstatistiksel Analizler

Tüm çalışmalar farklı günlerde çalışılan iki tekerrür ve üç farklı paralelin ortalama sonuçları ± standart sapma şeklinde verilmiştir. İstatistiksel analizlerde SPSS Inc. Software (22.0 Versiyonu; SPSS Inc., Chicago, IL) kullanılmıştır. Suşların proteolitik, lipolitik ve amilaz aktiviteleri arasında, farklı sıcaklık derecelerinde canlılık arasında korelasyon olup olmadığı Pearson korelasyonu ile incelenmiştir. Ayrıca farklı tuz konsantrasyonlarında mayaların canlı hücre sayıları ile artan konsantrasyon arasındaki ilişki Regresyon analizi ile değerlendirilmiştir.

4. DENEYSEL BULGULAR

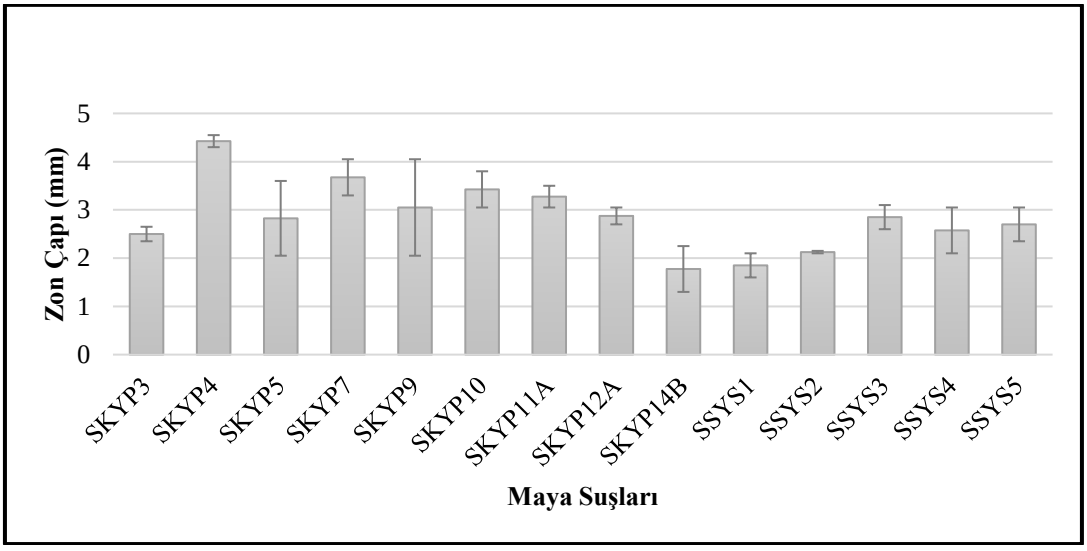
4.1. Proteolitik Aktivite

Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların proteolitik aktivite sonuçları Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Köy yoğurdu örneklerinde en yüksek proteolitik aktiviteyi 4,43 mm zon çapı ile *Cryptococcus humicola* SKYP4'de tespit edilirken, en düşük sonuç 1,78 mm zon çapı ile *Saccharomyces kefyr* SKYP14B mayasında tespit edilmiştir. Süzme yoğurt örneklerinde en yüksek proteolitik aktiviteyi 2,85 mm zon çapı ile *S. kefyr* SSYS3'de tespit edilirken, en düşük sonucu 1,85 mm zon çapı ile *S. kefyr* SSYS1 mayasında tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Mayaların starter kültür aktiviteleri

İzolasyon kaynağı	Maya	Proteolitik Aktivite Zon Çapları (mm)	Lipolitik Aktivite Zon Çapları (mm)	Amilaz Enzim Aktivitesi Zon Çapları (mm)	β-Galaktosidaz Enzim Aktivitesi
Köy yoğurdu	*C. humicola* SKYP3	2,50±0,15	17,76±0,20	12,38±1,44	++
	C. humicola SKYP4	4,43±0,13*	9,46±0,08	15,09±2,10	++
	C. humicola SKYP5	2,83±0,78	13,74±0,81	12,69±5,81	++
	C. humicola SKYP7	3,68±0,38	13,52±1,57	14,22±0,85	++
	S. cerevisiae SKYP9	3,05±1,00	12,24±0,34	10,43±1,24	++
	S. kefyr SKYP10	3,43±0,38	9,91±0,26	14,87±0,91	+++
	S. kefyr SKYP11A	3,28±0,23	9,98±0,30	19,87±3,50*	+++
	S. kefyr SKYP12A	2,88±0,18	18,52±5,86*	14,07±0,22	+++
	S. kefyr SKYP14B	1,78±0,48	12,32±3,79	14,50±0,67	+++
Süzme yoğurt	*S. kefyr* SSYS1	1,85±0,25	10,86±2,97	9,55±0,27	+++
	S. cerevisiae SSYS2	2,13±0,03	12,85±0,39	10,56±1,26	++
	S. kefyr SSYS3	2,85±0,25	8,83±0,13	12,05±3,55	+++
	S. kefyr SSYS4	2,58±0,48	15,22±0,02	8,90±0,10	+++
	S. kefyr SSYS5	2,70±0,35	12,44±2,20	17,97±2,80	+++

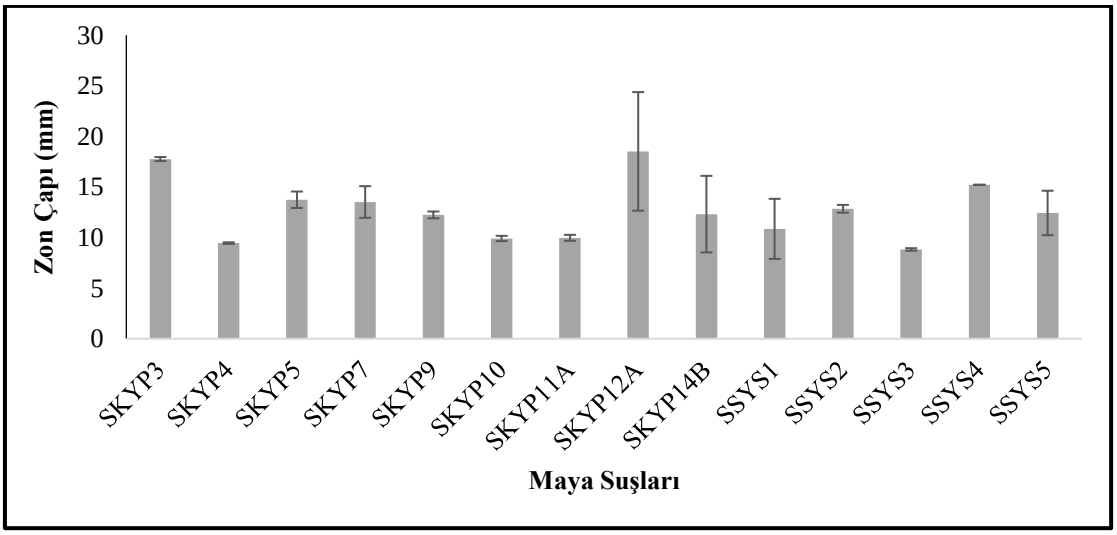
*: Yüksek aktivite



Şekil 4.1. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların proteolitik aktiviteleri

4.2. Lipolitik Aktivite

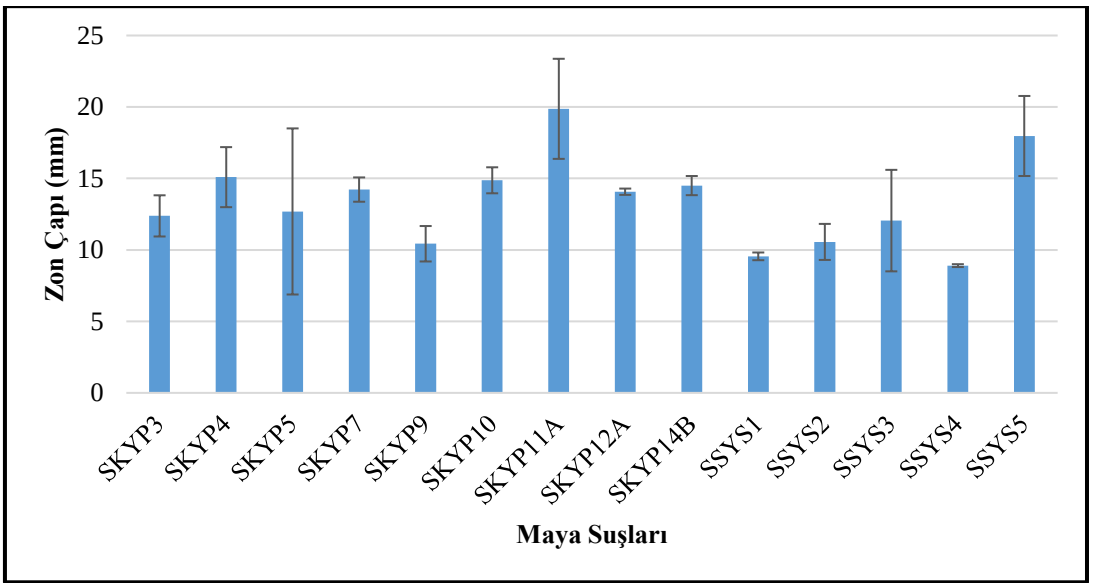
Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların lipolitik aktivite sonuçları Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. Köy yoğurdu örneklerinde en yüksek lipolitik aktiviteyi 18,52 mm zon çapı *S. kefyr* SKYP12A'da tespit edilirken, en düşük sonucu 9,46 mm zon çapı ile *C. humicola* SKYP4 mayasında tespit edilmiştir. Süzme yoğurt örneklerinde en yüksek lipolitik aktiviteyi 15,22 mm zon çapı ile *S. kefyr* SSYS4'de tespit edilirken, en düşük sonucu 8,83 mm zon çapı ile *S. kefyr* SSYS3 mayasında tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların lipolitik aktiviteleri

4.3. Amilaz Enzim Aktivitesi

Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların amilaz enzim aktivite sonuçları Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Köy yoğurdu örneklerinde en yüksek amilaz enzim aktivitesini 19,87 mm zon çapı ile *S. kefyr* SKYP11A mayasında tespit edilirken, en düşük sonucu 10,43 mm zon çapı ile *S. cerevisiae* SKYP9 mayasında tespit edilmiştir. Süzme yoğurt örneklerinde en yüksek amilaz enzim aktivitesini 17,97 mm zon çapı ile *S. kefyr* SSYS5mayasında tespit edilirken, en düşük sonucu 8,90 mm zon çapı ile *S. kefyr* SSYS4 mayasında tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. Köy ve süzme yoğurtlarından elde edilen mayaların amilaz enzim aktiviteleri

4.4. Üre Hidrolizi

Mayaların üreyi hidroliz edebilme yetenekleri deneyi Bölüm 3.8'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Mayaların hiçbirinin üreyi hidrolize edemediği tespit edilmiştir.

4.5. Beta-Galaktosidaz Enzim Aktivitesi

Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların beta-galaktosidaz enzim aktivite sonuçları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Köy yoğurdu örneklerinde *S. kefyr* SKYP10, *S. kefyr* SKYP11A, *S. kefyr* SKYP12A, *S. kefyr* SKYP14B yüksek (+++) β-galaktosidaz enzim aktivitesi gösterirken diğer suşlar orta düzeyde (++) β-galaktosidaz enzim aktivitesi göstermiştir. Süzme yoğurt örneklerinde *S. cerevisiae* SSYS2 orta düzey (++) β-

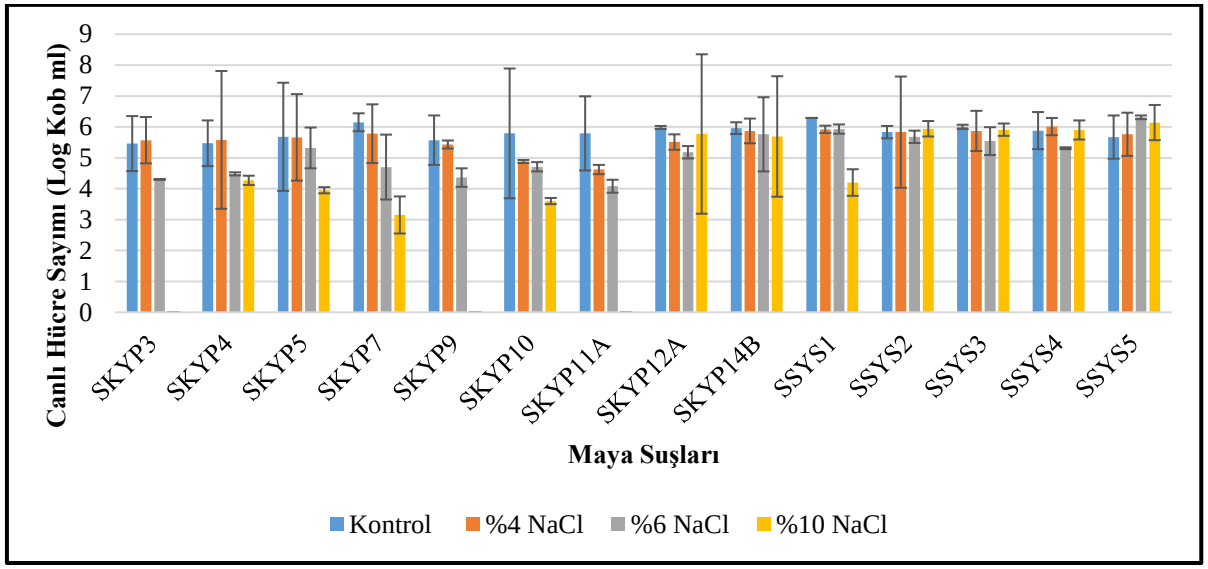
galaktosidaz enzim aktivitesi gösterirken diğer suşlar yüksek (+++) β-galaktosidaz enzim aktivitesi göstermiştir.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda 14 mayanın proteolitik ve lipolitik aktiviteleri arasında, proteolitik ve amilaz enzim aktiviteleri arasında ve lipolitik ve amilaz enzim aktiviteleri arasında korelasyon bulunmadığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda β-galaktozidaz enzim aktivitesi ile proteolitik, lipolitik ve amilaz enzim aktiviteleri arasında da korelasyon bulunamamıştır.

4.6. Tuz Toleransı

Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların farklı konsantrasyonlardaki NaCl'deki logaritma on tabanına göre canlı hücre sayıları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.4'de verilmiştir. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayalardan %4 NaCl (Merck) içeren YEPD sıvı besi yerinde en yüksek canlı hücre sayısı 6,01±0,28 log kob/mL ile *S. kefyr* SSYS4 maya suşunda, %6 NaCl içeren YEPD besi yerinde en yüksek canlı hücre sayısına 5,76±1,20 log kob/mL ile *S. kefyr* SKYP14B maya suşunda ve %10 NaCl içeren YEPD sıvı besi yerinde en yüksek canlı hücre sayısı *S. kefyr* SKYP12A maya suşunda 5,77±2,58 log kob/mL) tespit edilmiştir. Kontrol grupları NaCl içermeyen YEPD besi yerinde en yüksek koloni sayımı 6,29±0,00 log kob/mL ile *S. kefyr* SSYS1 maya suşunda tespit edilmiştir.

Suşların tuz konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak canlı hücre sayılarındaki azalma arasındaki korelasyon regresyon analizi ile belirlenmiş ve bu ilişkinin negatif yönde bir korelasyon olduğu (*S. kefyr* SSYS2 ve *S. kefyr* SSYS5 hariç) tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).



Şekil 4.4. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların tuz toleranslılıkları

4.7. Farklı Sıcaklık Derecelerinde Üreme

37ºC'de en yüksek canlı hücre sayımı *S. kefyr* SSYS5 (6,59±0,81 log kob/mL) suşunda tespit edilirken, en düşük canlı hücre sayımı *C. humicola* SKYP5 (5,50±1,35 log kob/mL) suşunda tespit edilmiştir. 30ºC'de en yüksek canlı hücre sayımı *S. kefyr* SSYS4 (6,96±0,50 log kob/mL) suşunda tespit edilirken en düşük canlı hücre sayımı *S. cerevisiae* SKYP9 (6,39±0,01 log kob/mL) suşunda tespit edilmiştir. Mayaların 30ºC'de canlı hücre sayımlarının daha fazla olduğu dolayısıyla daha iyi gelişim gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5). Suşların 37°C ve 30°C canlı hücre sayıları arasında doğrusal bir korelasyon olduğu görülmüş ve r=0,688 olduğundan bu ilişki orta düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

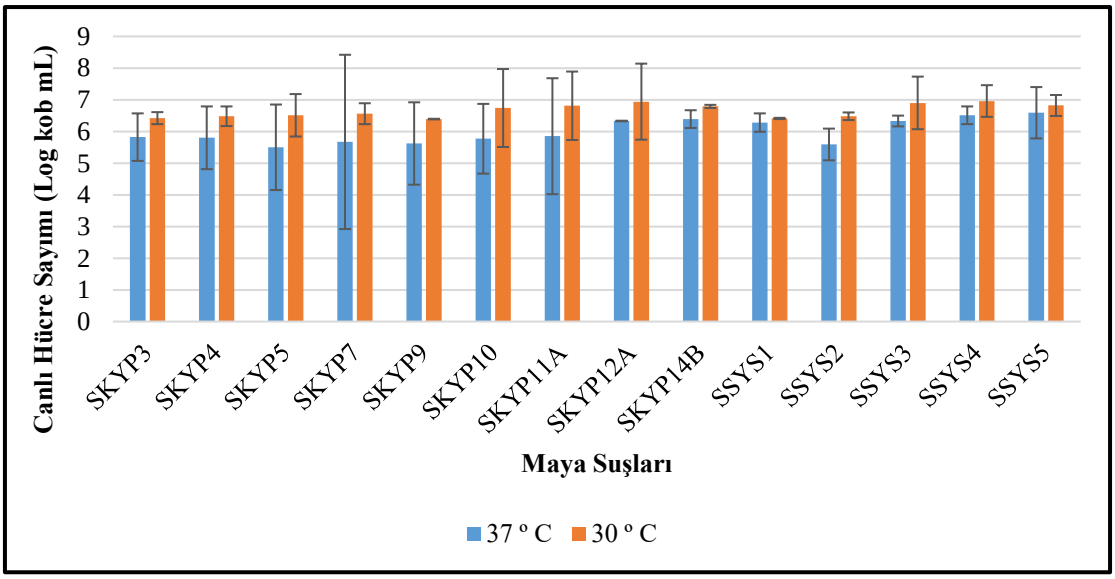
Çizelge 4.2. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların tuz toleranslılıkları (log kob/mL)

İzolasyon kaynağı	Maya Suşları	Kontrol (YEPD)	%4 NaCl	%6 NaCl	%10 NaCl	Multiple R değeri	Significant F
Köy yoğurdu	*C. humicola* SKYP3	5,46±0,89	5,57±0,75	4,30±0,00	-	-0,873	0,127
	C. humicola SKYP4	5,47±0,74	5,58±2,23	4,48±0,05	4,27±0,15	-0,847	0,153
	C. humicola SKYP5	5,68±1,75	5,66±1,40	5,32±0,66	3,95±0,10	-0,879	0,121
	C. humicola SKYP7	6,15±0,29	5,78±0,95	4,70±1,05	3,15±0,60	-0,957	0,043
	S. cerevisiae SKYP9	5,57±0,80	5,43±0,13	4,36±0,30	-	-0,885	0,115
	S. kefyr SKYP10	5,79±2,10	4,88±0,05	4,71±0,15	3,60±0,10	-0,991	0,009
	S. kefyr SKYP11A	5,79±1,20	4,62±0,15	4,08±0,21	-	-0,938	0,062
	S. kefyr SKYP12A	5,98±0,05	5,51±0,25	5,18±0,20	5,77±2,58	-0,320	0,680
	S. kefyr SKYP14B	5,96±0,19	5,87±0,40	5,76±1,20	5,69±1,95	-0,981	0,019
Süzme yoğurt	*S. kefyr* SSYS1	6,29±0,00	5,92±0,12	5,93±0,15	4,20±0,43	-0,890	0,110
	S. cerevisiae SSYS2	5,83±0,20	5,83±1,80	5,68±0,20	5,94±0,25	0,300*	0,700
	S. kefyr SSYS3	6,00±0,07	5,87±0,65	5,54±0,45	5,91±0,20	-0,285	0,715
	S. kefyr SSYS4	5,88±0,60	6,01±0,28	5,31±0,03	5,90±0,31	-0,152	0,848
	S. kefyr SSYS5	5,67±0,70	5,76±0,70	6,31±0,06	6,14±0,57	0,762*	0,238

-: Büyüme yok
*: Korelasyon yok

Çizelge 4.3. Köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların farklı sıcaklık derecelerinde üremeleri

İzolasyon kaynağı	Maya	Canlı Hücre Sayımı (log kob/mL)	
		Sıcaklık	
		37°C	30°C
Köy yoğurdu	*C. humicola* SKYP3	5,82±0,75	6,42±0,19
	C. humicola SKYP4	5,80±0,99	6,48±0,31
	C. humicola SKYP5	5,50±1,35	6,51±0,67
	C. humicola SKYP7	5,67±2,75	6,56±0,33
	S. cerevisiae SKYP9	5,62±1,30	6,39±0,01
	S. kefyr SKYP10	5,77±1,10	6,74±1,23
	S. kefyr SKYP11A	5,85±1,83	6,81±1,08
	S. kefyr SKYP12A	6,33±0,01	6,94±1,20
	S. kefyr SKYP14B	6,39±0,28	6,79±0,05
Süzme yoğurt	*S. kefyr* SSYS1	6,28±0,29	6,41±0,02
	S. cerevisiae SSYS2	5,59±0,50	6,48±0,12
	S. kefyr SSYS3	6,33±0,17	6,90±0,83
	S. kefyr SSYS4	6,51±0,28	6,96±0,50
	S. kefyr SSYS5	6,59±0,81	6,82±0,33



Şekil 4.5. Köy ve süzme yoğurtlardan elde edilen mayaların 30ºC ve 37ºC'de üremeleri

5. TARTIŞMA

Starter kültürler çeşitli süt ürünlerinin üretiminde lezzet, görünüm, yapı bakımından istenilen nitelikleri kazandırmak amacıyla süt ürünlerinin karışımına katılan seçilmiş mikroorganizma kültürleridir (Ardıç, Durmaz, 2006). Geleneksel üretimin aksine starter kültürde sadece belli bir ürünü üretebilmek için gerekli mikroorganizmalar izole edilmiş olarak yer alır. Bu şekilde fermente gıda ürününün en hızlı, pratik, yüksek verimli şekilde üretimi sağlanmaktadır. Endüstriyel olarak ilk starter kültür 1893'te Danimarka'da Chr Hansen tarafından üretilmiştir (URL1). Türkiye'de ise ilk starter kültür kullanımı 1970'lerde başlamıştır (Oğuz, Andiç, 2019). Ülkemizde büyük ölçekte starter kültür üretimi bulunmamakta ve bu ürünlerde dışarı bağımlılık söz konusudur (Yılmaz, 2022). Türk milletiyle özdeşmiş olan yoğurdun, maya olarak kullanılması gereken starter kültür, yıllar boyunca dış ülkelerden temin edilmiştir, fakat son on yıldır kendi starter kültürünü üreten ülkemizin endüstride yer alması için bu üretim gereklidir. Starter kültürlerin seçilip gerekli maddeye eklenmesi, hatalı fermantasyon riskini ve fermantasyon süresini azaltarak üretilen son ürünün kalitesini arttırmaktadır (Kavitake ve diğerleri, 2018). Starter kültürler, süt ve süt ürünlerindeki mikroorganizmaların çoğalmasıyla oluşan enzimatik reaksiyonlar sayesinde ürünlere özgün tat, aroma ve doku kazandırırken, aynı zamanda zararlı bakterileri inhibe ederek ürünün raf ömrünü uzatır (Borelli ve diğerleri, 2006; Andrade ve diğerleri, 2017; Lopandic ve diğerleri, 2006).

Mayalar, gıdalarda destekleyici kültür olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Ev yoğurtlarının önemli bir kısmı maya-laktik asit fermentasyonu sonucu oluşan pıhtılar olup, bunlarda çoğu zaman yoğurt bakterilerine bile rastlanmamaktadır (Koçak, 2018). Süt ve süt ürünleri maya türleri için doğal yaşam ortamı olmakla birlikte, süt ürünlerinin barındırdığı maya mikrobiatası, tat ve koku oluşumunda önemlidir (Günay, 2023). Süt endüstrisinde kefir, kımız alkollü süt içkileri ile bazı peynirlerin yapımında özel maya ve küflerden yararlanılırken bunların dışındaki süt ürünlerinde bu mikroorganizmaların bulunması istenmemektedir (Oğuz, Andiç, 2019). Mikrobiyatanın süt ürünlerine giriş şekli tam olarak bilinmemekte ve bunların üretim aşamalarında süte bulaşabileceğine, sütün pastörizasyonu sonrasında da belli seviyelerde canlılıklarını sürdürebileceklerine ve de pastörizasyon sonrası süte bulaşabileceklerine inanılmaktadır (Gürsoy ve Kınık, 2004). Bir yandan Amerika Birleşik Devletleri'nde Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen (GRAS) statüsünü ve Birleşik Krallık'ta Nitelikli Güvenlik Varsayımı (QPS) statüsünü kazanan, *K. marxianus*,

laktoz ve glikozu da fermente etme konusundaki yeteneği nedeniyle kefir gibi geleneksel süt fermente içeceklerinin üretiminde önemli bir fermantasyon başlatıcısı olarak kullanılmıştır (Fasoli, Barrio, Tofalo, Suzzi, Belloch, 2016).

Mayalar, gıda endüstrisinde dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır ve *Saccharomyces* ve *Kluyveromyces* en önemli cinsler olup, mayanın biyoaktif gıda takviyesi olarak kullanımı önem kazanmaktadır (Agarbati, Ciani, Canonico, Galli, Comitini, 2021). Yoğurda eklenen probiyotik bakterilerin, ortamın pH'ının düşük olmasından dolayı hayatta kalma durumu zayıftır. Mayalar, organik asitleri metabolize ederek ortam pH'ını düşürdüklerinden probiyotik organizmaların daha iyi hayatta kalmasını sağlamaktadır (Lourens-Hattingh Viljoen, 2002). Probiyotik maya olan *S. boulardii'*nin mayayı ticari biyo-yoğurda dahil ederek, biyo-yoğurt mikrobiotası ile büyümesinin, probiyotik organizmaların büyümesini uyardığı ve raf ömrü boyunca hayatta kalmalarını sağladığı öne sürülmektedir (Lourens-Hattingh Viljoen, 2001).

Meme ucu, sağım ekipmanı, çevre ve yem gibi birçok farklı kaynaktan mikroorganizma bulaşan çiğ süt, karmaşık bir mikrobiyal yapıya sahiptir (Quigley, 2013). Mayaların gıda endüstrisinde kullanılması için starter özelliklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu tez çalışmasında, köy ve süzme yoğurtlarında ikinci mikrobiota olduğu düşünülen mayaların yardımcı starter kültür olarak kullanılabilirliği araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla bu tez çalışmasında süzme ve köy yoğurtlarından izole edilen mayaların; proteolitik aktivite, lipolitik aktivite, amilaz enzim aktiviteleri, üreyi hidroliz edebilme yetenekleri, beta-galaktosidaz enzim aktiviteleri, tuz toleransı ve farklı sıcaklık derecelerinde üreme, gibi bazı starter aktivite özellikleri araştırılmıştır.

Proteoliz, vücut işlevleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olan ve insan sağlığını etkileyebilecek biyoaktif peptitlerin üretimine yol açar. LAB ve mayaların karışık kültürlerinin, fermente sütlerin ACEI (Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü) aktivitesi üzerinde büyük bir etkisi olduğu araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (Chaves-Lopez, Annalisa SerioAntonello Paparella, Maria MartuscelliAldo, CorsettiRosanna TofaloGiovanna Suzzi, 2014). Genel olarak yüksek süt pıhtılaşma aktivitesine sahip olan aspartik proteazların ağırlıklı olarak mantar suşlarından türetildiği bildirilmiştir (Budak, Wiebenga, Bron, Vries, 2016). Bazı mayaların sahip olduğu yüksek proteolitik ve lipolitik aktivitesi, esterler, aminoasit ve yağ asidi gibi aroma oluşumuna öncülük eden maddelerin

üretiminde büyük rol oynamaktadır. Ayrıca mayalar, diğer mikroorganizmalar için gerekli B vitaminleri; pantotenik asit, niasin, riboflavin ve biotin gibi bazı gelişme faktörlerini salgılayarak gelişimi desteklemektedir (Kesenkaş ve Akbulut, 2006).

Süt ürünlerinin lezzeti üzerinde doğrudan bir etkisi (Guerzoni ve diğerleri, 2001) olduğundan bu çalışmasında 14 maya suşunun proteolitik aktivitesi, agar stop yöntemi ile belirlenmiş ve yardımcı starter kültür olarak uygunlukları değerlendirilmiştir. Mayalar proteolitik aktivite bakımından incelendiğinde *C. humicola* SKYP4 (4,43 mm) en yüksek, *S. kefyr* SKYP14B (1,78 mm) ise en düşük proteolitik aktivite değeri sergilemiştir. Sonuçlarımız, proteolitik aktivitelerin izolata özgü olduğunu ve bu nedenle kullanılan suşa bağlı olduğunu göstermiştir. (Niamah, 2017), yoğurda başlatıcı olarak eklenen *S. boulardi*'nin, mayasız starter kültürlere kıyasla daha yüksek proteolitik aktiviteye sahip olduğunu rapor etmiştir. Yapılan bir başka çalışmada beyaz peynirden izole edilen 8 *Cryptococcus humicola* suşlarında proteolitik aktivite zon çaplarının 10,265-17,395 mm arasında değiştiği görülmüştür (Uzundağ ve diğerleri, 2020). Çevresel örneklerden elde edilen, 15°C'de 3 ve 12 gün boyunca inkübe edilen 18 maya izolatının skim milk katı besiyerindeki proteolitik aktivitesi değerlendirilmiştir. 18 izolattan yalnızca 4 izolatın (3. günde üç izolatın 2 mm, bir izolatın 4 mm zon çapına, 12. günde ise 7-11 mm arasında) zona sahip olduğu belirlenmiştir (Daskaya-Dikmen ve diğerleri, 2018). Keçi peyniri ve bofola mozzeralla peynirinden izole edilen 8 *Yarrowia lipolytica* maya suşlarının proteolitik aktiviteye gösterdikleri ve proteolitik aktivitenin yaygın olarak kullanılan bir olgunlaşma indeksi olduğu bildirilmiştir (Suzzi ve diğerleri, 2001). Beş maya türünden (*Y. lipolytica, Debaryomyces hansenii, Kluyveromyces lactis, Candida zeylenoides* ve *Geothricum candidum*) yalnızca *Y. lipolytica* türünün skim milk agar üzerinde orta düzeyde proteolitik aktivitelerinin olduğunu rapor etmişlerdir (Ozturkoglu-Budak ve diğerleri, 2016). Roostita ve Fleet peynirden izole ettikleri *Y. lipolytica* kültürlerinin kuvvetli proteolitik özelliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir (Roostita, Fleet, 1996). Chasseriaud ve diğerleri (2015), üzüm şırasının alkolik fermantasyonunu yapan şarap mayalarının (*Metschnikowia pulcherrima*), hücre dışı proteolitik aktivitesini yeni bir yöntem ile belirlemişler ve proteolitik aktivitenin suşa bağlı olduğunu ve gen dizisiyle ilişkili olmadığını göstermişlerdir. Peynir olgunlaşmasında mayaların proteolitik enzimlerinin önemli bir rolü olduğu bilindiğinden bu çalışmada incelenen ve yüksek proteolitik aktiviteye sahip *C. humicola* SKYP4 suşunun peynirde aroma ve tat oluşumuna

katkı sağlayabileceğini göstermektedir. Sonuçlar, *C. humicola* SKYP4 suşunun potansiyel bir peynir starter kültürü olabileceğini düşündürmüştür.

Maya suşlarının bir kısmının; lipolitik aktivite, çeşitli şekerlerin asimilasyonu ve fermantasyonu, yüksek tuz derişimlerinde gelişebilme, çeşitli organik asitlerin asimilasyonu, vb. önemli bazı teknolojik özellikler taşıdıkları belirlenmiş, destek starter olarak kullanılabilme potansiyelleri ortaya koyulmuştur (Yalçın, Şensen Ergül, Özbaş, 2011). Genellikle kontaminant olarak gelen mayalar, peynir yüzeyinde kolayca gelişir ve daha sonra peynir türüne ve özelliklerine bağlı olarak proteolitik ve lipolitik enzimleri ile olgunlaşma sürecine katkıda bulunur (Bintsis, 2021).

Mikrobiyal enzimlerin %5'ini oluşturan lipazlar; ilaç, gıda vb. endüstriyel uygulamalarda kullanılmaktadırlar (Kıymacı, Altanlar, Şimşek, 2022). Özellikle, peynir endüstrisinde, istenen lezzet ve aroma profiline sahip peynirler üretmek için lipolitik aktiviteye sahip maya türlerinin araştırılması gerekmektedir. Mayalardaki lipolitik aktivite, özellikle peynir gibi fermente süt ürünlerinin üretimi ve olgunlaşması sürecinde ve ürünün lezzeti açısından büyük önem taşımaktadır (Kesenkaş ve Akbulut, 2006). Peynir olgunlaşmasında lipolitik özelliğe sahip maya türlerinin bulunması, peynirin organoleptik özellikleri üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğundan bu çalışmada köy ve süzme yoğurtlarından izole edilen mayaların lipolitik aktiviteleri spot agar test yöntemi ile belirlenmiştir. 14 maya suşunun 18,52 mm (*S. kefyr* SKYP12A) ila 8,83 mm (*S. kefyr* SSYS3) arasında değişen değerlerde lipolitik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Uzundağ ve diğerleri (2020), 8 *C. humicola* maya suşları ile yapmış oldukları çalışmada suşların lipolitik aktivite zon çaplarının 9,12-12,44 mm arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada, *Y. lipolytica* kültürlerinin, yağları (lipitler) parçalayabilen lipolitik aktivite kapasitelerinin oldukça güçlü olduğu belirtilmiştir (Roostita ve Fleet, 1996). Suzzi ve arkadaşları peynir kaynaklı 8 *Y. lipolytica* maya suşlarının lipolitik aktiviteye sahip olduklarını ve *Y. lipolytica* suşlarının biyokimyasal faaliyetlerinin, aromatik bileşiklerin ve/veya bunların metil ketonlar, alkoller, laktonlar ve esterler gibi öncüllerinin üretimine bağlı olarak peynirlerin organoleptik özelliklerinde önemli roller oynayabileceği sonucuna varmışlardır (Suzzi ve diğerleri, 2001). Ozturkoglu-Budak ve diğerleri (2016) beş maya türünden (*Yarrowia lipolytica, Debaryomyces hansenii, Kluyveromyces lactis, Candida zeylenoides* ve *Geothricum candidum*) *G. candidum* hariç diğer 4 türün skim milk agar üzerinde lipolitik aktivite gösterdiğini ve *Y. lipolytica* türünün ise skim milk agardaki en büyük zona

sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Feta peynirinden izole edilen *S. cerevisiae* suşlarının, *D. hansenii* suşlarına göre daha yüksek lipolitik aktivitesine sahip olduğu ve bu sayede feta peynirdeki yağları daha hızlı ve daha fazla parçaladığı ve suşlardaki lipolitik aktivitenin, peynirin lezzet, aroma ve doku özelliklerinin gelişimi üzerinde olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Bintsis ve Robinson, 2004).

Maya türlerinde proteolitik ve lipolitik aktivite üzerine yapılan araştırmalar, çalışmamızla benzerlik göstermiştir. Çalışmamızda suşların bazılarının proteolitik ve lipolitik aktiviteleri düşük bulunmuştur. Suşların düşük aktivitelerinin nedeni, bu aktivitelerden sorumlu genlerin suşlar tarafından kaybedilmiş olması olabilir. Tez çalışmamızda kullanılan farklı maya türlerinin proteolitik ve lipolitik aktivitelerinin farklılık göstermesi fermente süt ürünlerinin kimyasal ve duyusal özelliklerinin oluşumunda önemli bir rol oynayabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Mikrobiyal α-amilaz, gıda, tekstil, deterjan, biyoyakıt ve kâğıt endüstrilerinde olduğu kadar tıp ve biyoremediasyon alanlarında da potansiyel uygulamalara sahip, çok yönlü bir enzimdir (Zhang, Han, Xiao, 2017). Bu enzimler nişasta ve ilgili polimerleri parçalayarak karakteristik ürünleri elde ederler (Saini, Saini, Dahiya, 2017). Nişastanın amilazlarla hidrolizi önemli biyolojik reaksiyonlardandır ve endüstriyel (tekstil, deterjan, kimya, gıda, ekmek, kâğıt, ilaç endüstrisi) açıdan da önemlidir (Hernández-Montañez ve diğerleri, 2012). Mayalar tarafından üretilen amilaz enzimi, nişastayı fermente edilebilir şekerlere dönüştürerek hem fermantasyon sürecini hızlandırır hem de hamura esneklik kazandırarak ekmek yapımında önemli bir rol oynar (Carrasco ve diğerleri, 2016).

Gıda ürünlerinde nişastayı parçalayan amilaz enzimine sahip mikroorganizmaların varlığının tespit edilmesi, gıda güvenliği ve kalitesi açısından büyük önem taşıdığından bu tez çalışmasında agar spot yöntemi ile 14 mayanın amilaz aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Mayaların amilaz enzim aktivitesi 19,87 mm (*S. kefyr* SKYP11A)-8,90 mm (*S. kefyr* SSYS4) arasında değiştiği tespit edilmiştir. α-amilaz aktivitesi, bakteri ve filamentli mantarlar arasında mayalara göre daha yaygındır. *Candida, Filobasidium, Lipomyces, Saccharomycopsis, Saccharomyces, Schwanniomyces* ve *Aureobasidium* dahil olmak üzere bazı maya cinslerinin amilaz ürettiği bildirilmiştir (Margarita Juarez-Montiel ve diğerleri, 2012; Chi ve diğerleri, 2003; Saha ve diğerleri, 1993). Su, çimen ve yaprak örneklerinden elde edilen 18 izolat, 3 ve 12 günlük inkübasyondan sonra plakalarda ekstraselüler amilaz

salgılama potansiyelleri, inkübasyon süresinin izolatların enzimatik aktivitesi üzerindeki etkisini belirlemek açısından taranmıştır. 18 izolattan sekizi 3. günün sonunda amilaz üretirken, 12. günde 6 izolat daha amilaz üretmiştir. Nişasta hidroliz bölgeleri, inkübasyon süresine bağlı olarak sırasıyla 1-8 ila 2-28 mm arasında değişmiştir (Daskaya-Dikmen, Karbancioglu-Guler, & Ozcelik, 2018). Beyaz peynirden izole edilen 8 farklı *Cryptococcus humicola* suşu üzerinde yapılan çalışmada, MBP1 (14,53 mm), MBP4 (13,49 mm), MBP3 (13,09 mm) ve MBP7 (12,78 mm) suşlarının diğer 4 suşa göre daha yüksek amilaz enzim aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (Uzundağ ve diğerleri, 2020). Amilaz aktivite analizleri için, bizim çalışmamızda olduğu gibi, toprak örneklerinden izole edilen 19 mayanın geliştirildiği plakaların 1 mL iyot çözeltisi ile doldurulduğu ve pozitif aktivitenin koloninin etrafında oluşan berrak zonun ölçülmesi ile değerlendirilen bir çalışmada, pH 6,2 ve 37°C'de *Dioszegia fristingensis*, *Mrakia blollopis*, *Holtermaniella watticus* ve *Tetracladium* suşlarında yüksek amilaz aktivitesi gözlemlenirken *Cryptococcus* sp. ve *C. gilvescens* suşlarında amilaz aktivitesi gözlenmemiştir (Carrasco ve diğerleri, 2016). Her enzimin salgılanması belirli bir cins veya türe özgü olmayıp, analiz edilen maya suşuna (Escribano ve diğerleri, 2017) bağlı olarak değişmektedir. Bizim çalışmamızda da diğer araştırmacıların çalışmalarına benzer şekilde suşlar arasında amilaz enzim aktivitesinde farklılıklar tespit edilmiştir.

Mayaların üre hidrolizini gerçekleştirme mekanizması, hücre içinde bulunan üreaz enzimi sayesinde gerçekleşmektedir. Üreaz enzimi, üre molekülünü amonyak (NH_3) ve karbondioksit (CO_2) moleküllerine parçalayan bir biyokatalizördür. Mayalar, üreyi hidrolize ederek amonyak ve karbondioksit elde ederler. Bu süreç, hem mayanın büyümesi ve hayatta kalması için hem de çevresel koşullara uyum sağlaması için önemli olabilir (Rutherford, 2014; Carlini, Rodrigo Ligabue-Braun, 2016). Ancak, çoğu durumda, özellikle ekmek yapımında kullanılan mayalar için, üre hidrolizi istenmeyen bir durumdur, çünkü amonyak oluşumu hamurun kalitesini olumsuz etkiler. Ürenin, üreazla amonyağa parçalanmasıyla oluşan amonyak birikimi nedeniyle sütte asitlik gelişimi yavaşlamaktadır (Spinnler ve Corrieu, 1989). Süt ve süt ürünlerinde üreaz aktivitesinin düşük olması, ürünün kalitesi, güvenliği ve raf ömrü açısından önemlidir. Bu nedenle, süt işleme süreçlerinde üreaz aktivitesinin kontrol altında tutulması ve mümkün olduğunca düşürülmesi hedeflenmektedir (Günay, 2023). Süt ve süt ürünlerinde özellikle peynir üretiminde kullanılan starter kültürlerin üreyi hidrolize etmesi ürünlerin aroma, tat, doku ve raf ömrü gibi özelliklerini olumsuz etkilediğinden istenmemektedir (Spinnler ve

Corrieu, 1989). Çalışmamıza benzer olarak, yapılan bir çalışmada yoğurttan izole edilen *Pichia fermentans* ve *S. cerevisiae*'nin tüm maya suşlarının da üreaz aktivitesi bulunmadığı bildirilmiştir (Günay, 2023). Ancak, 8 *C. humicola* suşları ile yapılan çalışmada suşlardan ikisinde üre hidrolizi görülmezken, 5 suşta zayıf üre hidrolizi ve sadece bir suşta güçlü üre hidrolizi görülmüştür (Uzundağ ve diğ., 2020). Bu tez çalışmasında test edilen suşların hiçbiri üreyi hidrolize etmemiştir. Bu durum, mayalarımızın, üre hidrolizini gerçekleştirecek düzeyde üreaz enzimi üretmedikleri şeklinde yorumlanmıştır. Mayalarımızın üreyi hidrolize etmemesi, onların metabolik ihtiyaçları ile ilişkili olabilir. Mayalarımızın üreyi hidrolize etmemeleri, ekmek yapımında kaliteli bir ürün elde etmek için avantajlı bir durum olabilir.

Beta galaktozidazlar, laktozun galaktoz ve glikoz monomerlerine hidrolizini katalize eden gıda endüstrisindeki çeşitli biyoteknolojik süreçler için önemli olan glikozit hidrolazlardır (Singh & Sambyal, 2022). Gıda endüstrisinde; sütün sindirilebilirliğini iyileştirmede, süt ürünlerinin lezzetini, çözünürlüğünü geliştirmede, dondurulmuş konsantre tatlılarda laktoz kristalizasyonunun önlenmesinde kullanılmaktadır (Xin ve diğerleri, 2019). Beta-galaktozidaz enzimi, gıda endüstrisinde ürünlerin kalitesini artırmak, tüketici memnuniyetini sağlamak ve yeni ürünler geliştirmek için de önemli bir araçtır (Alkaya, 2021). Beta-galaktozidaz enzimi, süt endüstrisinde ürünlerin lezzetini, kıvamını ve raf ömrünü iyileştirerek tüketici memnuniyetini artırmaktadır. Aynı zamanda laktoz intoleransı olan kişilerin de süt ürünlerinden faydalanabilmesini sağladığından süt ürünlerinin daha geniş bir kitleye ulaşmasını sağlamaktadır (Saqib, Attiya Akram, Sobia Ahsan Halim, Raazia Tassaduq, 2017).

Gıda üretimi, biyolojik araştırmalar ve çeşitli endüstriyel uygulamalarda geniş bir kullanım alanına sahip olan β-galaktosidaz enzimi, laktozun sindirimi, gıdalara tat ve aroma kazandırılması ve biyoteknolojik süreçler gibi birçok alanda önemli bir rol oynadığından bu tez çalışmasında 14 mayanın beta-galaktosidaz enzim aktiviteleri nitel olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, farklı maya türlerinin laktoz hidroliz kapasiteleri ve biyoteknolojik potansiyelleri hakkında değerli bilgiler sunmaktadır. Çalışmamızda, mayaların hepsi beta-galaktosidaz enzim aktivitesi gösterirken *S. kefyr* SKYP10, *S. kefyr* SKYP11A, *S. kefyr* SKYP12A, *S. kefyr* SKYP14B, *S. kefyr* SSYS1, *S. cerevisiae* SSYS2, *S. kefyr* SSYS3, *S. kefyr* SSYS4 ve *S. kefyr* SSYS5 suşları yüksek (+++) β-galaktosidaz enzim aktivitesi göstermiştir. Mayaların β-galaktosidaz aktiviteleri çeşitli iyonların

varlığından etkilenmektedir. *Kluyveromyces lactis* ve *K. fragilis* mayaları β-galaktosidaz üretebilmesi için manganez (Mn^{2+}), sodyum (Na^{+}) gibi iyonları gerekmektedir (Saqib ve diğerleri, 2017). *Kluyveromyces lactis* (Freitas, Hortêncio, Rocha, Gonçalves, 2020), *K. fragilis, K. marxianus* (Anisha, 2017), *C. kefyr, S. cerevisae* (Singh ve Sambyal, 2023), *Hansenula polymorpha, Pichia pastoris* (Rezaee, 2003), *Yarrowia lipolytica* (Swietalski, Hetzel, Seitl, Fischer, 2020), maya türlerine ait birçok suşun beta-galaktozidaz enzim aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir.

Mikroorganizmaların starter kültür olarak kullanılması için sıcaklık, tuz, asitlik ve dondurarak kurutma gibi stres koşullarını tolere edebilmesi gerekmektedir (Bremer, 2000). Fermente gıda işlemlerinde mayalar, gıda üretimi sürecinde tuz stersine maruz kalabilir (Helmy ve diğerleri, 2019). Mayaların zor koşullarda hayatta kalma olasılığını ortaya çıkartmak amacıyla bu tez çalışmasında mayaların farklı konsantrasyonlardaki tuz toleransı incelenmiştir. Mayaların %4 NaCl içeren YEPD sıvı besi yerinde canlı hücre sayıları 4,62±0,15 (*S. kefyr* SKYP11A) -6,01±0,28 log kob/mL (*S. kefyr* SSYS4), %6 NaCl içeren YEPD sıvı besi yerinde canlı hücre sayıları 4,08±0,21 (*S. kefyr* SKYP11A)- 5,76±1,20 log kob/mL (*S. kefyr* SKYP14B), %10 NaCl içeren YEPD besi yerinde canlı hücre sayıları ise 3,15±0,60 (*C. humicola* SKYP7)- 5,77±2,58 log kob/mL (*S. kefyr* SKYP12A) arasında değiştiği tespit edilmiştir. *C. humicola* SKYP3, *S. cerevisiae* SKYP9 ve *S. kefyr* SKYP11A suşlarının ise %10 NaCl konsantrasyonunda gelişme göstermediği belirlenmiştir. Tez çalışmamızdan elde edilen sonuçlar, farklı maya türlerinin ve hatta aynı türün farklı suşlarının tuza karşı farklı dayanıklılık gösterebildiğini ve bu durumun maya türlerinin farklı ortamlarda hayatta kalma yeteneklerini belirlediğini göstermektedir. Ayrıca, %10 NaCl'lü ortamda gelişme gösteren bu mayaların yüksek tuzlu ortamlarda yaşamaya daha iyi adapte olduğunu ve süt endüstrisi için potansiyel yardımcı starter kültür olarak kullanılabileceklerini göstermektedir. Bu mayaların, aynı zamanda süt ve süt ürünleri endüstrisinde ürünlerin kalitesini artırmak, aroma ve tat özelliklerini geliştirmek ve raf ömrünü uzatmak gibi birçok fayda da sağlayabilecektir.

Sekiz *Cryptococcus humicola* izolatının farklı tuz konsantrasyonlarındaki (0%, 4%, 6%, 10%) canlılıklarının incelendiği bir çalışmada, MBP7 izolatının %6'lık tuz konsantrasyonunda en yüksek canlılık gösterdiği, diğer izolatların ise farklı tuz konsantrasyonlarında değişen düzeylerde canlılık gösterdiği rapor edilmiştir (Uzundağ ve diğerleri, 2020). Roostita ve Fleet (1996) tarafından gerçekleştirilen araştırmada, piyasadan

temin edilen Camembert ve mavi küflü peynirlerden izole edilen 240 farklı maya türünün tuz toleransı belirlenmiştir. Çalışmada, özellikle *D. hansenii* türüne ait mayaların %6 tuz konsantrasyonunda bile büyüme yeteneklerini koruduğu ve bu özelliğin, diğer maya türlerine göre daha belirgin olduğu vurgulanmıştır. Praphailong ve Fleet (1997) tarafından gerçekleştirilen araştırmada, gıda ürünlerinden izole edilen *D. hansenii, Y. lipolytica* ve *K. marxianus* türlerine ait toplam 30 maya kültürünün tuz toleransı belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, *D. hansenii* türüne ait mayalar, %15'e varan tuz konsantrasyonlarında bile hayatta kalma yeteneği gösterirken, *K. marxianus* türüne ait mayalar ise %7,5 ve %10 tuz konsantrasyonlarında büyüme gösterememiştir. *D. hansenii* türünün tuza çok toleranslı olduğu ve bazı suşların %12 (Besançon ve diğerleri, 1992) ve %20 NaCl (Sorensen ve Jakopsen, 1997) varlığında büyüyebildiği bildirilmiştir. *Kluyceromyces blattae, K. thermotolerans* ve *Candida sphaerica* suşlarının farklı NaCl konsantrasyonlarında (%0-14) büyümelerinde NaCl konsantrasyonu arttığında büyüme oranının doğrusal olarak azaldığı görülmüştür. %14 NaCl'de, *K. blattae* ve *K. thermotolerans* büyümezken *C. sphaerica* biraz daha halotolerant bulunmuştur (Vivier, Rivemale, Reverbel, Ratomahenina, Galzy, 1994).

Mayada bulunan *hal*1 geninin aşırı ekspresyonu, tuz stresi sırasında yüksek bir iç K^+ konsantrasyonunu koruyarak, hücre içi Na^+'yı azaltarak tuz toleransı üzerinde olumlu bir etkiye sahip olmaktadır (Gisbert, ve diğerleri, 2000). Maya türleri, tuz iyonlarını hücre dışına pompalayarak, osmoprotektan (arabitol, mannitol, eritritol prolin, gliserol gibi) maddeler üreterek (uyumlu çözeltiler) ve protein yapılarını stabilize ederek yüksek tuz konsantrasyonlarında canlılıklarını devam ettirebilmektedirler. Ancak hücre duvarı ve hücre zarının değişen bileşimi ve tuz toleransı durumunda, düşük hücre içi sodyum iyonu konsantrasyonunu korumak için daha aktif bir Na^+/K^+ ATPaz sistemine gereksinim duymaktadırlar (Praphailong, Flee , 1997; Nishi ve Yagi, 1995).

Mayaların gelişimleri, birçok faktörden etkilenir, ancak bunların en önemlilerinden biri de sıcaklıktır. Farklı maya türleri, optimal büyüme için farklı sıcaklıklara ihtiyaç duyar. Sıcaklık, mayanın metabolik aktivitesini, büyüme hızını ve ürettiği bileşenleri doğrudan etkilemektedir (Molon ve diğerleri, 2016, Çiftçi ve Öncül, 2001). Sıcaklıktaki değişimler, fermantasyon gibi biyolojik süreçlerde oluşan ürünlerin miktarını ve kalitesini doğrudan etkilediğinden bu çalışmada, maya suşlarının canlı hücre sayılarını sıcaklığın nasıl etkilediği belirlenmiştir. Mayaların, 37ºC'de canlı hücre sayısı 6,59±0,81 (*S. kefyr*

SSYS5)- 5,50±1,35 (*C. humicola* SKYP5) log kob/mL arasında değişirken, 30ºC'de canlı hücre sayısı ise 6,96± 0,50 (*S. kefyr* SSYS4)- 6,39±0,01 (*S. cerevisiae* SKYP9) log kob/mL arasında değişmiştir.

Çalışmamızda kullanılan 14 maya suşunun hepsinin canlı hücre sayısının 30°C'de, optimum gelişme sıcaklığı olan 37°C'den daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar maksimum büyüme hızına neden olan sıcaklığı genellikle "optimum büyüme sıcaklığı" olarak adlandırılmaktadır. Ancak, ısının zararlı etkisi nedeniyle bu kritik bir sıcaklıktır (Feller ve Charles Gerday, 2003; Margesin, 2009; Xu, 2002). Ancak, bizim çalışmamızda olduğu gibi bu durum her zaman doğru sonuç verememektedir. Parente, Villani, Coppola, Coppola (1989), *K. marxianus* 25Y suşunun 22, 30 ve 37°C sıcaklıklardaki gelişimlerini inceledikleri çalışmalarında, suşun en iyi büyümeyi 37°C (4,98 log kob/mL) sıcaklıkta gösterdiğini belirlemişlerdir. Vivier, Rivemale, Yankı, Ratomahenina, Galzy (1994), Yunan peyniri Feta kaynaklı beş mayanın (El, L7 ve Lal: *Kluyceromyces blattae*, LS: *Candida sphaerica*, La3: *Kluyveromyces therrnotolerans*) farklı sıcaklıklarda (4-44°C) büyümelerini değerlendirilmişlerdir. *C. sphaerica* LS'nin 4-37°C'de, *K. blattae* El, L7 ve Lal izolatlarının 8-37°C ve *K. thermotolerans* La3 izolatının 4-41°C sıcaklık aralıklarında geliştiğini ancak beş suş için en uygun gelişim sıcaklığının 32°C olduğunu rapor etmişlerdir. Uzundağ ve diğerleri, (2020), beyaz peynirden izole ettikleri 8 *C. humicola* mayasının en iyi gelişme gösterdiği (MBP4, MBP7 ve MMP8 suşları hariç) sıcaklığın optimum sıcaklıkları olan 37ºC'de olduğunu rapor etmişlerdir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mayalar, gıda endüstrisinde özellikle de süt ve süt ürünlerinde starter ve/veya yardımcı starter kültür olarak tercih edilmektedirler. Fermantasyon süreçlerinde, gıdalara lezzet, aroma, doku ve besin değeri kazandırırken aynı zamanda ürünlerin raf ömrünü uzattıkları ve güvenli hale getirdikleri için biyoteknolojik uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadırlar. Farklı kaynaklarda izole edilen yeni maya suşlarının starter ve/veya yardımcı starter kültür olarak kullanılabilirliklerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle bu tez çalışması sonucunda, farklı türlere (*Cryptococcus humicola, Saccharomyces kefyr, Saccharomyces cerevisiae*) ait 14 suşun bazı starter aktivite özellikleri belirlenerek yeni bilgiler ortaya koyulmuş ve farklı türler ve suşlarda starter aktivite mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlanmıştır.

Çalışma kapsamında elde edilen bulguların daha iyi anlaşılması amacıyla, bu bulgular ve değerlendirme sonuçları ve öneriler aşağıda verilmiştir:

1. Çalışmada mayaların proteolitik ve lipolitik aktiviteleri nitel olarak belirlenmiş ve suşların hepsinde farklı oranlarda proteolitik ve lipolitik aktivite tespit edilmiştir. Fermente süt ürünlerinde kullanılacak mayaların teknolojik öneme sahip fenotipik özellikleri, proteolitik ve lipolitik aktiviteleri RAPD-PCR analizi gibi moleküler teknikler (Suzzi ve diğerleri., 2001) kullanılarak genetik farklılıkları belirlenmesi durumunda literatüre daha ayrıntılı bilgiler sunulmuş olacaktır. Aynı zamanda, yüksek proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip suşlarımızın süt endüstrisinde ileride iyi tanımlanmış uygulamalar için uygunluklarının test edilmesi gerekmektedir.
2. Bu tez çalışmasında incelenen yerli maya suşları, fermente süt ürünlerinin özellikle peynirlerin geleneksel karakterini korurken duyusal, dokusal, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerini geliştirmek için endüstriyel üretimlerde potansiyel başlangıç veya yardımcı kültürler olarak seçilebilir. Çalışmamızda, peynirin olgunlaşmasına katkıda bulunarak süt endüstrisinde de önemli olduğu gösterilen esteraz aktiviteleri (Kumar ve diğerleri, 2012) belirlenmemiştir. İleride yapılacak çalışmalarda suşların esteraz aktiviteleri belirlenebilir.
3. Bu tez çalışmasında *S. cerevisiae* SKYP9 ve *S. kefyr* SKYP11A suşları hariç diğer suşların yüksek tuzlu ortamlarda hayatta kalma ve çoğalma konusunda avantajlı olduğunu ve bu suşların süt endüstrisinde özellikle peynir üretimi gibi tuzlu ortamların

olduğu süreçlerde önemli rol oynayabileceklerini göstermiştir. Mayaların tuza karşı geliştirdiği tolerans mekanizmaları, bu mikroorganizmaların farklı çevresel koşullara uyum sağlayabilme yeteneklerinin bir göstergesidir. Bu mekanizmaların daha iyi anlaşılması, gıda endüstrisi, biyoteknoloji ve temel bilim alanlarında yeni uygulamaların geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

KAYNAKLAR

Aakef, J. N., & Yüksekdağ, Z. (2023). Maya kaynaklı sinbiyotik ve postbiyotik+prebiyotik uygulamalarının bazı biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 1(1), 12-25.

Abdel-Nasser, A. (2010). El-Moghaz Comparative study of salt tolerance in Saccharomyces cerevisiae and Pichia pastoris yeast strains. *Advanced Bioresource*, 1, 169-176.

Abdullah, M. M., Elbarbary, H. A., Mohamed, H. A. and Nassif, M. Z. (2024). Impact of Debaryomyces hansenii and Saccharomyces cerevisiae cell free extracts on yoghurt quality. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 14(3), 456-461.

Agarbati, A., Ciani, M., Canonico, L., Galli, E., & Comitini, F. (2021). Exploitation of yeasts with probiotic traits for kefir production: Effectiveness of the microbial consortium. *Fermentation*, *8*(1), 9.

Akan, E., Yerlikaya, O., Saygılı, D., & Kınık, Ö. (2021). Farklı starter kültür kullanımının yoğurtların tekstürel ve viskozite özelliklerine etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *58*(3), 377-383.

Akın, N. (2006). *Fermente süt ürünlerinin tanımı ve tarihçesi.* Konya: Damla Ofset Basımevi, 6-12.

Akpınar, O. (2008). *Süt ve süt ürünlerinden Yarrowia lipolytica izolasyonu, identifikasyonu ve ürettikleri alkalin proteaz ve ribonükleaz enzimlerinin aktivitelerinin araştırılması.* Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 12-19.

Aksoy, A. (2021). *Mikrobiyoloji*. Ankara: TUS Yayıncılık, 114-125.

Albayrak, N. and Yang, S. T. (2002). Immobilization of aspergillus oryzae β-galactosidase on tosylated cotton cloth. *Enzyme and Microbial Technology*, 31(4), 371-383.

Alkalbani, N. S., Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Olaimat, A. N., Liu, S. Q., Shah, N. P., and Ayyash, M. M. (2022). Assessment of yeasts as potential probiotics: A review of gastrointestinal tract conditions and investigation methods. *Journal of Fungi*, 8(4), 365.

Alkaya, Ö. (2021). *ß-galaktosidaz enziminin farklı bir yöntem ile saflaştırılması.* Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, 7-32.

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 Research International*, 91, 72-79.

Ardıç, M., & Durmaz, H. (2006). Peynirde starter kültür gelişimini etkileyen faktörler. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1(3), 69-73.

Aslani, R., Mazaheri, Y., Jafari, M., Sadighara, P., Molaee-Aghaee, E., Ozcakmak, S., & Reshadat, Z. (2024). Implementation of hazard analysis and critical control point (HACCP) in yogurt production. *Journal of Dairy Research*, 91(1), 125-135.

Atlıakın, N. (2012). A*ndroctonus crassicauda Venomunda bulunan peptidlerin proteolitik aktivitesinin araştırılması ve antivenomun antiproteolitik etkisinin belirlenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 12-32.

Ausubel, B., Kingston, M. and Seidman, S. (1994). *Struhl. current protocols in molecular biology, current protocols,* Brooklyn, NY: Springer, 112-136.

Ayivi, R. D. and Ibrahim, S. A. (2022). Lactic acid bacteria: an essential probiotic and starter culture for the production of yoghurt. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(11), 7008-7025.

Barnett, R.W. and Payne, D., Y. (2000). *Yeasts: Characteristics and ıdentification*. Cambridge: Cambridge University Press, 159-160

Baur, C., Krewinkel, M. and Kranz, B., L. (2015). Quantification of the proteolytic and lipolytic activity of microorganisms isolated from raw milk. *International Dairy Journal*, 49, 23-29.

Beheshtipour, H., Mortazavian, A. M., Haratian, P. and Darani, K. K. (2012). Effects of Chlorella vulgaris and Arthrospira platensis addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. *European Food Research and Technology*, 235, 719-728.

Beopoulos, A. and Nicaud, J. M. (2012). Yeast: A new oil producer? *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 19(1), 22-28.

Besancon, X., Smet, C., Chabalier, C., Rivemale, M., Reverbel, J. P., Ratomahenina, R. and Galzy, P. (1992). Study of surface yeast flora of Roquefort cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 17(1), 9-18.

Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665.

Bintsis, T., and Robinson, R. K. (2004). A study of the effects of adjunct cultures on the aroma compounds of Feta-type cheese. *Food Chemistry*, 88(3), 435-441.

Bockelmann, W., Heller, M. and Heller, K. J. (2008). Identification of yeasts of dairy origin by amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA). *International Dairy Journal*, 18(10-11), 1066-1071.

Borelli, B. M., Ferreira, E. G., Lacerda, I. C., Franco, G. R. and Rosa, C. A. (2006). Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22, 1115-1119.

Bremer, E. (2000). Bacterial stress . *Coping with osmotic challenges: osmoregulation through accumulation and release of compatible solutes in bacteria*, New York: Elsevier, *126*, 17.

Campbell, N., Reece, J. (2006). *Biology.* Ankara: Palme Yayıncılık, 121-125.

Capusoni, C., Arioli, S., Donzella, S., Guidi, B., Serra, I. and Compagno, C. (2019). Hyper-osmotic stress elicits membrane depolarization and decreased permeability in halotolerant marine *Debaryomyces hansenii* strains and in *Saccharomyces cerevisiae*. *Frontiers in Microbiology*, 10, 64.

Carlini, C. R. and Ligabue-Braun, R. (2016). Ureases as multifunctional toxic proteins: A review. *Toxicon*, 110, 90-109.

Carrasco, M., Villarreal, P., Barahona, S., Alcaíno, J., Cifuentes, V. and Baeza, M. (2016). Screening and characterization of amylase and cellulase activities in psychrotolerant yeasts. *BMC Microbiology*, 16(21), 1-9.

Carvalho, J. K., Panatta, A. A. S., Silveira, M. A. D., Tav, C., Johann, S., Rodrigues, M. L. F. and Martins, C. V. B. (2021). Yeasts isolated from a lotic continental environment in Brazil show potential to produce amylase, cellulase and protease. *Biotechnology Reports*, 30, e00630.

Ceyhan, N. ve Alıç, H. (2012). Bağırsak mikroflorası ve probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 1, 107-113.

Chasseriaud, L., Miot-Sertier, C., Coulon, J., Iturmendi, N., Moine, V., Albertin, W., and Bely, M. (2015). A new method for monitoring the extracellular proteolytic activity of wine yeasts during alcoholic fermentation of grape must. *Journal of Microbiological Methods*, 119, 176-179.

Chaves-López, C., Serio, A., Paparella, A., Martuscelli, M., Corsetti, A., Tofalo, R., and Suzzi, G. (2014). Impact of microbial cultures on proteolysis and release of bioactive peptides in fermented milk. *Food Microbiology*, 42, 117-121.

Chaves-López, C., Tofalo, R., Serio, A., Paparella, A., Sacchetti, G. and Suzzi, G. (2012). Yeasts from Colombian Kumis as source of peptides with Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 159(1), 39-46.

Chi, Z., Liu, J., Ji, J. and Meng, Z. (2003). Enhanced conversion of soluble starch to trehalose by a mutant of *Saccharomycopsis fibuligera* sdu. *Journal of Biotechnology*, 102(2), 135-141.

Çetin, Z. (2017). *Geleneksel yoğurtlarda mikrobiyel floranın belirlenmesi ve başlatıcı kültür kombinasyonlarının oluşturulması.* Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 112.

Çiftçi, M. and Öncül, N. (2021). Starter kültürler. *Journal of New Results in Engineering and Natural Sciences*, (14), 1-16.

Daskaya-Dikmen, C., Karbancioglu-Guler, F. and Ozcelik, B. (2018). Cold active pectinase, amylase and protease production by yeast isolates obtained from environmental samples. *Extremophiles*, 22, 599-606.

de Freitas, M. D. F. M., Hortêncio, L. C., de Albuquerque, T. L., Rocha, M. V. P. and Gonçalves, L. R. B. (2020). Simultaneous hydrolysis of cheese whey and lactulose production catalyzed by β-galactosidase from *Kluyveromyces lactis* NRRL Y1564. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 43, 711-722.

de Jesus Pereira, E., Panek, A. D. and Eleutherio, E. C. A. (2003). Protection against oxidation during dehydration of yeast. *Cell Stress & Chaperones*, 8(2), 120.

Demir, P., Öksüztepe, G., İncili, G., İlhak, O. (2015). Vakum Paketli Şavak Tulum Peynirlerinde Potasyum Sorbatın Kullanımı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(1), 23-45.

Demirci, A. and Ocak, E. (2020). Sağlıklı ve Kaliteli Yoğurt Nasıl Mayalanır? *Academic Platform Journal of Halal Lifestyle*, 2(1), 14-22.

Ertekin, Ö. ve Çon, A. H. (2014). Farklı gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin endüstriyel ve probiyotik özellikleri. *Akademik Gıda*, 12(4), 6-16.

Escribano, R., González-Arenzana, L., Garijo, P., Berlanas, C., López-Alfaro, I., López, R., and Santamaría, P. (2017). Screening of enzymatic activities within different enological non-*Saccharomyces* yeasts. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 1555-1564.

Etchepare, M. D. A., Barin, J. S., Cichoski, A. J., Jacob-Lopes, E., Wagner, R., Fries, L. L. M., and Menezes, C. R. D. (2015). Microencapsulation of probiotics using sodium alginate. *Ciência Rural*, 45, 1319-1326.

Farooq, M. A., Ali, S., Hassan, A., Tahir, H. M., Mumtaz, S. and Mumtaz, S. (2021). Biosynthesis and industrial applications of α-amylase: A review. *Archives of Microbiology*, 203, 1281-1292.

Fasoli, G., Barrio, E., Tofalo, R., Suzzi, G. and Belloch, C. (2016). Multilocus analysis reveals large genetic diversity in *Kluyveromyces marxianus* strains isolated from Parmigiano Reggiano and Pecorino di Farindola cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 233, 1-10.

Fazilah, N. F., Ariff, A. B., Khayat, M. E., Rios-Solis, L. and Halim, M. (2018). Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. *Journal of Functional Foods*, 48, 387-399.

Fernández-Pacheco, P., Ramos Monge, I. M., Poveda, J. M., Díaz-Maroto, M. C., and Arévalo-Villena, M. (2023). Use of probiotic yeasts with biocontrol activity for fermentation of ewe's milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(8), 4107-4118.

Galli, V., Venturi, M., Mari, E., Guerrini, S. and Granchi, L. (2022). *Selection of yeast and lactic acid bacteria strains, ısolated from spontaneous raw milk fermentation, for the production of a potential probiotic fermented milk*. Basel, Switzerland: Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 97-117.

Gbadamonsi, A. A., Ahmed, A. S., Seioudy, A., Taşkın, T., Engindeniz, S., Kandemir, Ç. and Koşum, N. (2020). Süt tüketiminde laktoz duyarlılığının (intolerans) analizi: İzmir ili Bornova ilçesi örneği. *Hayvansal Üretim*, 61(2), 127-134.

Gisbert, C., Rus, A. M., Bolarín, M. C., López-Coronado, J. M., Arrillaga, I., Montesinos, C. and Moreno, V. (2000). The yeast HAL1 gene improves salt tolerance of transgenic tomato. *Plant Physiology*, 123(1), 393-402.

Guerzoni, M. E., Lanciotti, R., Vannini, L., Galgano, F., Favati, F., Gardini, F. and Suzzi, G. (2001). Variability of the lipolytic activity in *Yarrowia lipolytica* and its dependence on environmental conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 69(1-2), 79-89.

Guerzoni, M.E., Gobbetti, M., Lanciotti, R. and Lopez, C. C. (1996). *Yarrowia lipolytica as potemtial ripening agent in milk products, yeast in the dairy ındustry: Positive and negative aspects.* Proceeding of International Dairy Federation Syposium, 23-33. Copenhagen.

Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Silva, R., Rocha, R. S., Graça, J. S., Esmerino, E. A. and Cruz, A. G. (2020). Impact of probiotics and prebiotics on food texture. *Current Opinion in Food Science*, 33, 38-44.

Gümüş, M. (2010). *Süt ve süt ürünlerinin değerlendirilmesi.* Ankara: Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, 27.

Günay, M. (2023). *Süt ürünlerinden izole edilen maya suşlarının moleküler identifikasyonu ve endüstriyel öneme sahip maya türlerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Çanakkale, 7-36.

Günyaktı, A. (2017). *Genetik olarak karakterize edilen insan kaynaklı lactobacıllus gasserı suşlarının probiyotik kültür olarak kullanım potansiyellerinin belirlenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray, 3-21.

Gürbüz, Z., Kotan, T. E., Gürmeriç, H. E. and Şengül, M. (2023). Piyasada satılan yoğurtların fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve ade-inhibitör aktivitelerinin belirlenmesi. *Gıda Teknoloji Dergisi*, 48(6), 1366-1378.

Gürsoy, O., & Kınık, Ö. (2006). Peynir Üretiminde Probiyotik Bakterilerin Kullanımı:Probiyotik Peynir. *Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 12(1), 105-116

Güven, R. G. (2011). Termofilik bakteriler ve biyoteknolojik açıdan önemli bazı enzimleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 9(1), 1-10.

Gyawali, R., Feng, X., Chen, Y. P., Lorenzo, J. M. and Ibrahim, S. A. (2022). A review of factors influencing the quality and sensory evaluation techniques applied to Greek yogurt. *Journal of Dairy Research*, 89(2), 213-219.

Halkman, A. K. ve Taşkın, Y. (2001). Süt ürünleri endüstrisinde starter kültür. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 10, 13-18.

Helmy, E. A., Soliman, S. A., Abdel-Ghany, T. M. and Ganash, M. (2019). Evaluation of potentially probiotic attributes of certain dairy yeast isolated from buffalo sweetened Karish cheese. *Heliyon*, 5(5), 21-36.

Hernández-Montañez, Z., Juárez-Montiel, M., Velázquez-Ávila, M., Cristiani-Urbina, E., Hernández-Rodríguez, C., Villa-Tanaca, L. and Chávez-Camarillo, G. (2012). Production and characterization of extracellular α-amylase produced by *Wickerhamia* sp. X-Fep. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167, 2117-2129.

Hosken, B. D. O., Melo Pereira, G. V., Lima, T. T. M., Ribeiro, J. B., Magalhães Júnior, W. C. P. D. and Martin, J. G. P. (2023). Underexplored potential of lactic acid bacteria associated with artisanal cheese making in Brazil: challenges and opportunities. *Fermentation*, 9(5), 409.

İnal, T., Ergün, Ö. (1990). *Süt ve süt ürünleri teknolojisi.* İstanbul: Panzehir Yayınları, 78-111.

İnternet: Avcı, H., Konuk, R., Ögel, Z. (2020). Sütdünyası. URL1: https://dergi.sutdunyasi.com/haberler/dosya/yogurtta-yerli-maya-donemi, Son Erişim Tarii: 21-04.2024.

İnternet: Çetiner, Ş. (2017). Fermente süt ürünleri. URL2: Fermente Süt Ürünleri Üretimi.pdf (meb.gov.tr), Son Erişim Tarihi: 23.06.2024.

İnternet: Yoğurt ve beslenme. URL3: http://www.biodesis.com/yogurtvebeslenme.html#:~:text=Yo%C4%9Furt%20k%C3%BClt%C3%BCr%C3%BCnde%20bulunan%20laktik%20asit,avantajlarla%20ortak%20ya%C5%9Famas%C4%B1%20olarak%20tan%C4%B1mlan%C4%B1r, Son Erişim Tarihi: 23.06.2024.

İzmen, E.R. (1935). *Silivri yoğurdunun yapılışı ve terkibi hakkında araştırmalar.* Şanlıurfa: Yüksek Ziraat Enstitüsü Yayınları, 47-58.

Jackson, R.S. (2000). Wine science. New York, USA: Academic Press, 214-225.

Jacques, K., Lyons, T., Kelsall, D. (2003). Understanding yeast fundamentals. *The Alcohol Textbook*, 4, 531-53

Jahns, T. (1995). Purification and properties of urease from *Sporobolomyces roseus*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 68, 209-214.

Juszczyk, P., Wojtatowicz, M., Żarowska, B., Chrzanowska, J., & Malicki, A. (2005). Diversity of physiological and biochemical properties within yeast species occurring in Rokpol cheese. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2(3), 21-66.

Kahve, H. İ. (2022). *Şalgam suyunda bulunan mayaların izolasyonu, moleküler tanısı ve starter kültür olarak kullanım olanaklarının araştırılması.* Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 14-29.

Kalathinathan, P., Sain, A., Pulicherla, K. and Kodiveri Muthukaliannan, G. (2023). A review on the various sources of β-galactosidase and its lactose hydrolysis property. *Current Microbiology*, 80(4), 122.

Kanak, E. K. and Yılmaz, S. Ö. (2019). Probiyotik Mayalar ve Probiyotik Gıdalarda Mayaların Rolü. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(9), 1268-1274.

Kang, H. Y., Ao, X. L., Tang, Q., Li, H., Fan, Y., Liu, A. P. and Li, J. L. (2024). Effects of yeast screened from traditional fermented milk on commercial fermented milk as adjunct flavor culture. *Food Bioscience*, 57, 103551.

Karasu, S., Durak, M. Z. ve Toker, Ö. S. (2015). Gıda Biyoteknolojisi ve Biyoproseslerinde Yeni Gelişmeler. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(5), 161-164.

Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P. B. and Shetty, P. H. (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods–A review. *Food Bioscience*, 21, 34-44.

Kesenkaş, H. ve Akbulut, N. (2006). Mayaların peynir üretiminde destek starter kültür olarak kullanımı. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 43(2), 165-174.

Khablenko, A., Danylenko, S., Yalovenko, O., Duhan, O. and Potemskaia, O. (2022). Potential of using *Saccharomyces boulardii* to produce fermented milk products. *Food Science & Technology*, 16(1), 274-279.

Kırdar, S. ve Gün, İ. (2007). Süzme yoğurt üretiminde elde edilen serumun bazı özellikleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(1), 26-28.

Kıymacı, M. E., Şimşek, D. and Altanlar, N. (2022). Molecular identification and lipolytic activity of *Yarrowia lipolytica* ısolated from yoghurt cream. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 46(2), 450-457.

Kim, S. Y., Kim, H. and Chae, H. J. (2004). Selection of probiotic yeasts from soil, characterization and application for feed additives. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 47(1), 20-26.

Kšonžeková, P., Bystrický, P., Vlčková, S., Pätoprstý, V., Pulzová, L., Mudroňová, D. and Tkáčiková, Ľ. (2016). Exopolysaccharides of *Lactobacillus reuteri*: Their influence on adherence of *E. coli* to epithelial cells and inflammatory response. *Carbohydrate Polymers*, 141, 10-19.

Kumar, D., Kumar, L., Nagar, S., Raina, C., Parshad, R. and Gupta, V. K. (2012). Screening, isolation and production of lipase/esterase producing *Bacillus* sp. strain DVL2 and its potential evaluation in esterification and resolution reactions. *Archives of Applied Science Research*, 4(4), 1763-1770.

Kurt, A. (1995). *Yoğurdun tarihçesi ve yeryüzüne yayılışı.* İstanbul: Yoğurt-III Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 23-25.

Küçükgöz, K. and Trząskowska, M. (2022). Nondairy probiotic products: Functional foods that require more attention. *Nutrients*, 14(4), 753.

Kycia, K., Chlebowska-Śmigiel, A., Szydłowska, A., Sokół, E., Ziarno, M., & Gniewosz, M. (2020). Pullulan as a potential enhancer of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* viability in synbiotic low fat yoghurt and its sensory quality. *LWT*, *128*, 109414.

Law, J. and Haandrikman, A. (1997). Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 7(1), 1-11.

Lee, B. H. and Simard, R. E. (1984). Evaluation of methods for detecting the production of H2S, volatile sulfides, and greening by lactobacilli. *Journal of Food Science*, 49(4), 981-983.

Li, Y. C., Du, W., Meng, F. B., Rao, J. W., Liu, D. Y. and Peng, L. X. (2021). Tartary buckwheat protein hydrolysates enhance the salt tolerance of the soy sauce fermentation yeast *Zygosaccharomyces rouxii*. *Food Chemistry*, *342*, 128382.

Liszkowska, W. and Berlowska, J. (2021). Yeast fermentation at low temperatures: Adaptation to changing environmental conditions and formation of volatile compounds. *Molecules*, *26*(4), 1035.

Lopandic, K., Zelger, S., Banszky, L. K., Eliskases-Lechner, F. and Prillinger, H. (2006). Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. *Food Microbiology*, 23(4), 341-350.

Louaileche, H. and Bracquart, P. (2001). Carbon dioxide production by morphological variants of *Streptococcus thermophilus* CNRZ 368. *Milchwissenschaft*, 4(3), 14-63.

Lourens-Hattingh, A. and Viljoen, B. C. (2002). Survival of dairy-associated yeasts in yoghurt and yoghurt-related products. *Food Microbiology*, 19(6), 597-604.

Ma, J., Sun, Y., Meng, D., Zhou, Z., Zhang, Y. and Yang, R. (2023). Yeast proteins: The novel and sustainable alternative protein in food applications. *Trends in Food Science & Technology*, 135, 190-201.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K., Buckley, D. and Stahl, D. (2021). *Brock Mikroorganizma Biyolojisi*, Ankara: Palme Yayınevi, 566.

Martins, M.F.C. (2018). *Diversidade de bactérias láticas e identificação molecular de Lactococcus isolados de ambientes lácteos e não lacteos.* Viçosa, Brasil: Universidade Federal de Viçosa, 117-125.

Martins, M. C. D. F. (2018). Diversidade de bactérias láticas e identificação molecular de *Lactococcus* isolados de ambientes lácteos e não lácteos.

Mckinley, M. C. (2005). The nutrition and health benefits of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 58(1), 1-12.

Meng, Z., Zhang, L., Xin, L., Lin, K., Yi, H. and Han, X. (2018). Technological characterization of *Lactobacillus* in semihard artisanal goat cheeses from different Mediterranean areas for potential use as nonstarter lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 2887-2896.

Mirzaei, M., Mirdamadi, S., Ehsani, M. R. and Aminlari, M. (2018). Production of antioxidant and ACE-inhibitory peptides from *Kluyveromyces marxianus* protein hydrolysates: Purification and molecular docking. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(2), 696-705.

Molon, M. and Zadrag-Tecza, R. (2016). Effect of temperature on replicative aging of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biogerontology*, 17, 347-357.

Monnet, C., Pernoud, S., Sepulchre, A., Fremaux, C. and Corrieu, G. (2004). Selection and properties of *Streptococcus thermophilus* mutants deficient in urease. *Journal of Dairy Science*, 87(6), 1634-1640.

Mora, D., Fortina, M. G., Parini, C., Ricci, G., Gatti, M., Giraffa, G. and Manachini, P. L. (2002). Genetic diversity and technological properties of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, 93(2), 278-287.

Mora, D., Maguin, E., Masiero, M., Parini, C., Ricci, G., Manachini, P. L. and Daffonchio, D. (2004). Characterization of urease genes cluster of *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Applied Microbiology*, 96(1), 209-219.

Mortazavian, A. M., Ghorbanipour, S., Mohammadifar, M. A. and Mohammadi, M. (2011). Biochemical properties and viable probiotic population of yogurt at different bacterial inoculation rates and incubation temperatures. *The Philippine Agricultural Scientist*, 94(2), 111-116.

Muotoe-Okafor, F. A., Gugnani, H. C. and Obidoa, O. O. (1996). Extracellular proteolytic enzyme activity of *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*. *Mycopathologia*, 133, 129-133.

Nayak, S. K. (2011). Biology of eukaryotic probiotics. In *Probiotics: Biology, genetics and health aspects* (pp. 29-55). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Nishi, T. and Yagi, T. (1995). Efflux of sodium ions by a Na+/H+-antiporter during salt stress in the salt-tolerant yeast *Zygosaccharomyces* rouxii. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 41(2), 87-97.

Niamah, A. K. (2017). Physicochemical and microbial characteristics of yogurt with added *Saccharomyces boulardii*. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 5(3), 300-307.

Oğuz, Ş. ve Andiç, S. (2019). Peynir üretiminde kullanılan starter kültürler. *Gıda*, 44(6), 1174-1196.

Olson, D. W. and Aryana, K. J. (2022). Probiotic incorporation into yogurt and various novel yogurt-based products. *Applied Sciences*, 12(24), 12607.

Ozturkoglu-Budak, S., Wiebenga, A., Bron, P. A. and de Vries, R. P. (2016). Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 17-27.

Özden, A. (2008). Diğer fermente süt ürünleri. *Güncel Gastroenteroloji*, *12*(3), 169-181.

Özen, M. (2011). *Probiyotikler:Anlatılmayan tarihçe. Sağlıklı kalmak için probiyotikler prebiyotikler anlatılmayan tarihçe*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 5.

Özer, B. (2006). *Yoğurt üretimi için starter kültür hazırlanması. Yoğurt bilimi ve teknolojisi.* Şanlıurfa: Harran Üniversitesi, 14-25.

Özkalp, B. (2006). *Doğal tip* Lactococcus lactis *suşlarının endüstriyel starter kültür potansiyellerinin belirlenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, 6-26.

Pailin, T., Kang, D. H., Schmidt, K. and Fung, D. Y. C. (2001). Detection of extracellular bound proteinase in EPS-producing lactic acid bacteria cultures on skim milk agar. *Letters in Applied Microbiology*, 33(1), 45-49.

Pederson, C. S. (1971). *Microbiology of Food Fermentations.* Michigan: Avi Publishing Company, 283.

Pessione, E. Cirrincione, S. (2016). Bioactive molecules released in food by lactic acid bacteria: Encrypted peptides and biogenic amines. *Frontiers in Microbiology*, 7, 876.

Praphailong, W. and Fleet, G. H. (1997). The effect of pH, sodium chloride, sucrose, sorbate and benzoate on the growth of food spoilage yeasts. *Food Microbiology*, 14(5), 459-468.

Rai, A. K., Pandey, A. and Sahoo, D. (2019). Biotechnological potential of yeasts in functional food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 129-137.

Rakowska, R., Sadowska, A., Dybkowska, E. and Swiderski, F. (2017). Spent yeast as natural source of functional food additives. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 68(2), 7-54.

Rezaee, A. (2003). A rapid and sensitive assay of ß-galactosidase in yeast cells. *Annals of Microbiology*, 53(3), 343-347.

Rodarte, M. P., Dias, D. R., Vilela, D. M. and Schwan, R. F. (2011). Proteolytic activities of bacteria, yeasts and filamentous fungi isolated from coffee fruit (Coffea arabica L.). *Acta Scientiarum. Agronomy*, 33, 457-464.

Roostita, R. and Fleet, G. H. (1996). The occurrence and growth of yeasts in Camembert and blue-veined cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 28(3), 393-404.

Rubio, F. T. V., Haminiuk, C. W. I., Dos Santos, M. M., Thomazini, M., Moraes, I. C. F., Martelli-Tosi, M. and Fávaro-Trindade, C. S. (2021). Development of natural pigments microencapsulated in waste yeast *Saccharomyces cerevisiae* using spray drying technology and their application in yogurt. *Food & Function*, 12(19), 8946-8959.

Rutherford, J. C. (2014). The emerging role of urease as a general microbial virulence factor. *PLoS Pathogens*, 10(5), e1004062.

Sağdıç, O., Küçüköner, E. and Özçelik, S. (2004). Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri. *Research in Agricultural Sciences, 35*(3-4).

Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S. and Donkor, O. N. (2014). Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yogurt. *Food Chemistry*, 156, 264-270.

Saha, B. C., Silman, R. W. and Bothast, R. J. (1993). Amylolytic enzymes produced by a color variant strain of *Aureobasidium pullulans*. *Current Microbiology*, 26, 267-273.

Saini, R., Saini, H. S. and Dahiya, A. (2017). Amylases: Characteristics and industrial applications. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 1865-1871.

Saqib, S., Akram, A., Halim, S. A. and Tassaduq, R. (2017). Sources of β-galactosidase and its applications in food industry. *3 Biotech*, 7, 1-7.

Selwal, K. K., Li, Y. F. and Yu, Z. (2017). Functional display of amylase on yeast surface from *Rhizopus oryzae* as a novel enzyme delivery method. *Food Biotechnology*, 31(4), 233-244.

Sheldrake, M. (2022). *Mantarları Anlayabilmek. Saklı Dünya*. İstanbul: Domingo Yayınevi, 121-145.

Sherman, F. (2002). Getting started with yeast. In *Methods in enzymology* (Vol. 350, pp. 3-41). New York: Academic Press.

Singh, R. V. and Sambyal, K. (2023). β-Galactosidase as an industrial enzyme: Production and potential. *Chemical Papers*, 77(1), 11-31.

Soccol, C. R., Vandenberghe, L. D. S., Spier, M. R., Medeiros, A. B. P., Yamaguishi, C. T., Lindner, J. D. D. and Thomaz-Soccol, V. (2010). The potential of probiotics: A review. *Food Technology and Biotechnology*, 4(1), 25-39.

Sourabh, A., Kanwar, S. S., & Sharma, O. P. (2011). Screening of indigenous yeast isolates obtained from traditional fermented foods of Western Himalayas for probiotic attributes. *Journal of Yeast Fungal Research*, *2*(8), 117-26.

Souza, P. M. D. (2010). Application of microbial α-amylase in industry-A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 850-861.

Spinnler, H. E. and Corrieu, G. (1989). Automatic method to quantify starter activity based on pH measurement. *Journal of Dairy Research*, 56(5), 755-764.

Suzzi, G., Lanorte, M. T., Galgano, F., Andrighetto, C., Lombardi, A., Lanciotti, R. and Guerzoni, M. E. (2001). Proteolytic, lipolytic and molecular characterisation of *Yarrowia lipolytica* isolated from cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 69(1-2), 69-77.

Swietalski, P., Hetzel, F., Seitl, I. And Fischer, L. (2020). Secretion of a low and high molecular weight β-glycosidase by *Yarrowia lipolytica*. *Microbial Cell Factories*, 19, 1-13.

Şimşek, B., Gün, İ. ve Çelebi, M. (2010). Isparta yöresinde üretilen süzme yoğurtların protein profilleri ve bunların kimyasal özelliklerle ilişkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarih Bilim Dergisi*, 20(3), 208-213.

Thieman, W. J. and Palladino, M. (2013). *Biyoteknolojiye Giriş*. Ankara: Palme Yayıncılık, 4-41.

Thierry, A., Collins, Y. F., Mukdsi, M. A., McSweeney, P. L., Wilkinson, M. G. and Spinnler, H. E. (2017). Lipolysis and metabolism of fatty acids in cheese. In *Cheese* (pp. 423-444). Washington, DC: Academic Press.

Tiwari, J., Babra, C., Tiwari, H., Williams, V., De Wet, S., Gibson, J. and Mukkur, T. (2013). Trends in therapeutic and prevention strategies for management of bovine mastitis: an overview. *Journal of Vaccines & Vaccination*, 4(1), 1-11.

Tiwari, S., Kavitake, D., Devi, P. B. and Shetty, P. H. (2021). Bacterial exopolysaccharides for improvement of technological, functional and rheological properties of yoghurt. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1585-1595.

Tolu, A. and Altun, İ. (2021). Comparison of homemade and commercial yoghurt in Van province, Turkey. *Food Science and Technology*, 42, e08321.

Tomé, D. (1998). Peptides fonctionnels. *Danone World Newsletter*, 17, 41.

Türker, M. (2014, April). Yeast biotechnology: Diversity and applications. In *Proceedings of 27th VH Yeast Conference* (pp. 1-26).

Uyanık, A. (2008). *Beta-galaktosidaz enziminin mikrobiyal hücrelerden izolasyonu ve karakterizasyonu.* Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4-25.

Uysal, S. (2016). *Yoğurtlardan izole edilen mayaların probiyotik özelliklerinin araştırılması.* Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 7-13.

Uzundağ, D., Arslan, S., Yüksekdağ, Z., Beyatlı, Y. and Sakallı, A. (2020). Investigation of starter activity of the yeast species *Cryptococcus humicola* isolated from white cheese. *Journal of Food*, 4, 14-36.

Ürkek, B., Şengül, M. ve Erkaya, T. (2014). *Saccharomyces boulardii*'nin fermente süt ürünlerinde kullanımı. *Akademik Gıda*, 12(2), 108-113.

Üstel, S. (2020). *Canlıların Dünyası. Süper biyoloji atlası.* Ankara: Palme Kitabevi, 7-25.

Viljoen, B.C. (2006). The Yeast Handbook. In *Yeasts in food and beverages* (83-110). Berlin, Springer Berlin Heidelberg.

Viljoen, B. C., Lourens-Hattingh, A., Ikalafeng, B. and Peter, G. (2003). Temperature abuse initiating yeast growth in yoghurt. *Food Research International*, 36(2), 193-197.

Vivier, D., Rivemale, M., Reverbel, J. P., Ratomahenina, R. and Galzy, P. (1994). Study of the growth of yeasts from feta cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 22(2-3), 207-215.

Weerathilake, W. A. D. V., Rasika, D. M. D., Ruwanmali, J. K. U. And Munasinghe, M. A. D. D. (2014). The evolution, processing, varieties and health benefits of yogurt. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(4), 1-10.

Welthagen, J. J. and Viljoen, B. C. (1996). *The presence of yeasts in different cheese types. Yeasts in the dairy industry: Positive and negative aspects.* Copenhagen, Denmark. International Dairy Federation, Brussels, Belgium, 78-87.

Welthagen, J. J. and Viljoen, B. C. (1998). Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. *International Journal of Food Microbiology*, 41(3), 185-194.

Xin, Y., Guo, T., Zhang, Y., Wu, J. and Kong, J. (2019). A new β-galactosidase extracted from the infant feces with high hydrolytic and transgalactosylation activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 8439-8448.

Yalçın, S. K., Ergül, S. S. ve Özbaş, Z. Y. (2011). Peynir mikroflorasındaki mayaların önemi. Gıda: *The Journal of Food*, 36(1), 71-77.

Yaralı, E. ve Çetiner, Ş. (2020). İnkübasyon çıkış asitliğinin geleneksel olarak üretilen süzme yoğurtların bazı kalite özellikleri üzerine etkisi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(3), 297-302.

Yavuz, A. (2019). *Anne sütünden izole edilen streptococcus thermophilus suşlarının bazı biyoteknolojik özelliklerinin araştırılması.* Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray, 4-15.

Yaygın, H. ve Kılıç, S. (1993). *Süt Endüstrisinde Saf Kültür*. İzmir: Altındağ Matbaası, 19-36.

Yerlikaya, O. (2019). Probiotic potential and biochemical and technological properties of Lactococcus lactis ssp. lactis strains isolated from raw milk and kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 102(1), 124-134.

Yöney, Z. (1979). *Yoğurdun Dünü ve Bugünü*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 8.

Zhang, Q., Han, Y. and Xiao, H. (2017). Microbial α-amylase: A biomolecular overview. *Process Biochemistry*, 53, 88-101.



Gazili olmak ayrıcalıktır