

T.C.  
**SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ÇEŞİTLİ GİDALARDAN İZOLE EDİLEN MAYALARIN  
KILLER ÖZELLİKLERİİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hüseyin ÖZTÜRK**

**Danışman  
Yrd. Doç. Dr. Arzu KART**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
ISPARTA - 2016**



© 2016 [Hüseyin ÖZTÜRK]

## TEZ ONAYI

Hüseyin ÖZTÜRK tarafından hazırlanan “Çeşitli Gıdalardan İzole Edilen Mayaların Killer Özelliklerinin Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki juri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Arzu KART  
Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Seyhan ULUSOY  
Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Melike Baran EKİNCİ  
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Yasin TUNCER

## **TAAHHÜTNAME**

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığı beyan ederim.

  
**Hüseyin ÖZTÜRK**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER .....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	5
2.1. Killer Mayaların Teknolojik Önemi.....	5
2.2. Killer Mayaların Mekanizması.....	21
2.3. Killer Aktiviteye Etki Eden Parametreler .....	31
2.3.1. Sıcaklık ve pH .....	31
2.3.2. Metal iyon etkisi.....	32
2.3.3. Tuz parametresi .....	33
2.3.4. Fermantasyon .....	34
2.4. Killer Aktivitenin Antimikrobiyal Etkisi .....	34
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	37
3.1. Materyaller .....	37
3.1.1. Killer özelliği araştırılacak mayalar .....	37
3.1.2. Fermente ürünler .....	38
3.1.3. Kültür besiyerleri .....	39
3.1.4. İzolasyon ve saflaştırmada kullanılan çözeltiler .....	39
3.1.5. Mayaların boyanmasında kullanılan kimyasallar.....	39
3.1.6. Araştırmada kullanılan araç ve gereçler.....	40
3.2. Yöntemler.....	42
3.2.1. Mayaların saflik kontrolü .....	42
3.2.2. Bozulmuş fermente ürünlerden izole edilen mayaların toplam hücre sayımı.....	42
3.2.3. Bozucu mayaların izolasyonu ve tanımlanması .....	42
3.2.4. Mayaların aktifleştirilmesi .....	43
3.2.5. Sitrat-fosfat tamponun pH ayarının yapılması .....	44
3.2.6. Bozucu mayaların optik yoğunluğunun ayarlanması .....	44
3.2.7. YEPD-MB besiyerinin hazırlanması.....	44
3.2.8. Killer özelliği araştırılan mayaların bozucu mayalar üzerine etkisi....	46
3.2.9. Killer özellik gösterdiği bilinen maya suşunun bozucu mayalar üzerine etkisi.....	46
4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....	47
4.1. Bozulmuş Fermente Ürünlerden Izole Edilen Mayaların Toplam Hücre Sayımı.....	47
4.2. Bozucu Mayaların Kodları ve Menşei .....	48
4.3. Killer Özelliği Araştırılan 26 Mayanın Bozucu Mayalara Karşı Killer Etkisi	50
4.3.1. Bozulmuş et ürünlerinden izole edilen bozucu maya sonuçları.....	51
4.3.2. Bozulmuş süt ürünlerinden izole edilen bozucu maya sonuçları .....	61
4.3.3. Diğer bozulmuş fermente ürünlerden izole edilen bozucu maya sonuçları.....	83
4.4. Killer Özellikli Ticari Şarap Maya Suşunun Bozucu Mayalara Etkisi .....	95

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	104
6. KAYNAKLAR.....	132
ÖZGEÇMİŞ .....	141



## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

### ÇEŞİTLİ GİDALARDAN İZOLE EDİLEN MAYALARIN KILLER ÖZELLİKLERİİNİN ARAŞTIRILMASI

Hüseyin ÖZTÜRK

Süleyman Demirel Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Arzu KART

Çeşitli maya türleri bulundukları çevrede kendi besi ortamı haricindeki mayalara karşı protein yapılı, hücre dışında salgılanan ve killer toksin olarak adlandırılan bir bileşik salgılamaktadırlar. Bu toksinler kendi türleri haricindeki mayalara, bakterilere ve küflere karşı öldürücü etkiye sahiptirler. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında, çeşitli bozulmuş fermenter ürünlerden izole edilen bozucu mayalara karşı yine farklı ürünlerden izole edilmiş Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden alınan 26 mayanın killer aktiviteleri değerlendirilmiştir. Katı besiyerinde agar difüzyon metoduyla kantitatif olarak yapılan denemeler sonucunda killer özelliği araştırılan 26 mayanın bozucu olan duyarlı maya izolatlarına etki ederek düşük, orta ve yüksek etki spektrum derecesine sahip olduğu belirlenmiştir. Analizler sonucu killer özelliği araştırılan maya izolatlarından en iyi killer aktivite gösteren maya suşlarının LM-4 (ağzı süti), LM-8 (yoğurt), LM-15 (tarhana) ve LM-24 (zeytin) olduğu rapor edilmiştir. Tez çalışmasında elde edilen veriler zon çapı üzerinden hesaplanmış ve değerlendirilmiştir. Çalışmada killer aktivite belirlenmesinde  $30^{\circ}\text{C}$  inkübasyon sıcaklığı ve pH 4 besi ortamı oluşturulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde killer aktivitenin mm cinsinden 0-16 mm, aU cinsinden 0-25.6 aU arasında değişen killer aktivite değerleri ile killer özellikli maya izolatları tespit edilmiştir. Katı besiyerinde yapılan kantitatif analizler sonucunda bozucu mayalara karşı 26 mayanın %50 oranında killer aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu maya izolatları etki spektrumu, etki düzeyi ve etki derecesine göre sınıflandırılmıştır. İn-vitro denemeler sonucunda Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 mayanın çeşitli bozulmuş fermenter ürünlerden izole edilen bozucu maya izolatlarına karşı killer aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Killer maya, öldürücü toksin, fermenter ürün, etki spektrumu

**2016, 141 sayfa**

## **ABSTRACT**

### **M.Sc. Thesis**

#### **INVESTIGATION OF KILLER FEATURES OF YEAST ISOLATED FROM DIFFERENT FOOD**

**Hüseyin ÖZTÜRK**

**Süleyman Demirel University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering**

**Supervisor: Assist. Prof. Dr. Arzu KART**

A variety of yeast species secrete a compound called yeast, which is protein secreted outside the cell, called the killer toxin. These toxins have a lethal effect against yeast, bacteria and the mould, except for their own species. In this thesis study, 26 yeast killer activities from Süleyman Demirel University Food Engineering Department isolated from different products against disturbing yeast isolated from various impaired fermented products were evaluated. It has been determined that the agar diffusion method in the solid medium has a low, medium and high spectrum of activity by acting on the susceptible yeast isolates of 26 yeasts which are investigated as a result of quantitative experiments. Analyses were reported to be LM-4 (colostrum), LM-8 (yoghurt), LM-15 (tarhana) and LM-24 (olive) yeast strains showing the best killer activity from yeast isolates investigated. The data obtained in the thesis study is calculated and evaluated over the zone radius. In the study, 30 oC incubation temperature and pH 4 media were established at the determination of the killer activity. When the results are analyzed, killer activity values ranging from 0-16 mm in mm and 0-25.6 aU in the aU range of killer activity and yeast isolates with killer characteristics were determined. As a result of quantitative analysis in solid medium, it was determined that 26 yeast showed 50% killer activity against disturbing yeast. These yeast isolates are classified according to their effect spectrum, effect level and degree of effect. As a result of in vitro experiments, it was determined that 26 yeasts obtained from Süleyman Demirel University Department of Food Engineering showed killer activity against disturbing yeast isolates isolated from various degraded fermented products.

**Keywords:** Killer yeast, killer toxin, fermented food, effect spectrum

**2016, 141 pages**

## **TEŞEKKÜR**

Başa bana bu konuda çalışma imkanı veren ve çalışmamın her aşamasında bilgi, yardım ve önerilerini esirgemeyen, bilimsel çalışma disiplinini öğrenmemde ve akademik gelişimimde emeği olan değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Arzu KART olmak üzere;

Çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Sami ÖZÇELİK'e;

Laboratuar günlerini birlikte geçirdiğim ve yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşım Burçın ÖZBENT, Fatma EROĞLU, Nagihan ÇILCAN'a;

Beni her konuda destekleyen sevgili aileme;

En içten teşekkürlerimi sunarım.



Hüseyin ÖZTÜRK  
ISPARTA, 2016

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. K1 killer toksininin olgun toksin yapısı.....	24
Şekil 2.2. K1 ve K28 killer toksinlerin reseptörlere tutunarak etki mekanizması .....	25
Şekil 2.3. Killer hücrenin duyarlı hücre üzerine enzimler yoluyla etki mekanizması .....	26
Şekil 2.4. Killer hücrenin duyarlı hücre duvarı üzerindeki reseptör bölgeye tutunması .....	27
Şekil 2.5. <i>S. cerevisiae</i> 'nin killer toksin üretim sistemi .....	29
Şekil 3.1. Sıvı besiyerinde aktif kültürler.....	44
Şekil 4.1. BM-1'e etki eden 24 numaralı mayanın inhibisyon zon çapı görüntüsü ...	51
Şekil 4.2. BM-8'e en etkili olan 4, 5, 7 ve 9 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	52
Şekil 4.3. BM-15'e etki eden 22, 23 ve 24 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	53
Şekil 4.4. Bozulmuş sucuktan izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları ..	55
Şekil 4.5. BM-31'e etki eden 13, 15, 16, 18, 19 ve 20 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	57
Şekil 4.6. BM-37'ye etki eden 3, 4, 6, 8 ve 10 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü.....	58
Şekil 4.7. Bozulmuş sosisten izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları .....	60
Şekil 4.8. BM-25'e etki eden 4, 6, 7, 8, 9 ve 10 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü.....	62
Şekil 4.9. BM-25'e etki eden 21, 22, 23, 24, 25 ve 26 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	63
Şekil 4.10. BM-38'e en iyi etki eden 4 ve 7 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	64
Şekil 4.11. BM-38'e en iyi etki eden 15 ve 16 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	64
Şekil 4.12. BM-38'e en iyi etki eden 21, 23, 24 ve 25 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü.....	65
Şekil 4.13. Bozulmuş peynirden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları .	67
Şekil 4.14. BM-39'a en iyi etki eden 1, 7, 8 ve 9 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	69
Şekil 4.15. BM-39'a en iyi etki eden 13, 14, 17 ve 19 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü.....	70
Şekil 4.16. Bozulmuş peynirden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları .	72
Şekil 4.17. BM-19'a en iyi etki eden 3, 4 ve 7 numaralı mayanın inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	74
Şekil 4.18. BM-19'a en iyi etki eden 23 ve 24 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	75
Şekil 4.19. BM-9'a en iyi etki eden 24 numaralı mayanın inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	75

Şekil 4.20. Bozulmuş yoğurt örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları .....	77
Şekil 4.21. BM-11'e en iyi etki eden 1, 3, 7 ve 9 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	79
Şekil 4.22. Bozulmuş tereyağı örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları .....	81
Şekil 4.23. BM-43'e en yüksek etkiyi gösteren 5,6 ve 8 numaralı mayanın inhibisyon zon çapı görüntüsü.....	83
Şekil 4.24. BM-47'ye karşı killer etki gösteren 4 ve 5 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü.....	84
Şekil 4.25. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları .....	86
Şekil 4.26. BM-49 bozucu mayasına karşı 1, 3, 5, 6, 8 ve 9 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü.....	88
Şekil 4.27. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları .....	90
Şekil 4.28. BM-57 bozucu mayasına karşı 4, 5, 6, 7 ve 10 numaralı mayanın inhibisyon zon çapı görüntüsü.....	92
Şekil 4.29. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilen en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları .....	94
Şekil 4.30. M1 bozucu mayasına karşı ticari killer referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	96
Şekil 4.31. M7 bozucu mayasına karşı ticari killer referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	97
Şekil 4.32. M8 bozucu mayasına karşı ticari killer referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	97
Şekil 4.33. M12 bozucu mayasına karşı ticari killer referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	98
Şekil 4.34. Ticari referans killer suşunun bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı inhibisyon zon çapı.....	99
Şekil 4.35. M10 bozucu mayasına karşı ticari killer referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	100
Şekil 4.36. Ticari referans killer suşunun bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı inhibisyon zon çapı.....	101
Şekil 4.37. Z2 bozucu mayasına karşı ticari referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü .....	102
Şekil 4.38. Ticari referans killer suşunun bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı inhibisyon zon çapı.....	103

## **ÇİZELGELER DİZİNİ**

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1. Killer mayaların kodlandıkları genetik bölgeler ve toksin genleri .....	22
Çizelge 2.2. Killer Mayalar ve Toksinleri.....	23
Çizelge 2.3. Killer toksinler ve duyarlı hücredeki reseptörleri .....	30
Çizelge 3.1. Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 maya ve gıda kaynağı.....	38
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan cihazların marka ve modelleri.....	41
Çizelge 4.1. İzolasyon sonrası sayım sonuçları .....	48
Çizelge 4.2. Bozucu mayaların kodları ve izole edildikleri ürünler .....	49
Çizelge 4.3. Bozulmuş sucuk örneğinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm) .....	54
Çizelge 4.4. Bozulmuş sucuk örneğinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU).....	56
Çizelge 4.5. Bozulmuş sosis örneğinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm) .....	59
Çizelge 4.6. Bozulmuş sosis örneğinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU).....	61
Çizelge 4.7. Bozulmuş peynir örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm) .....	66
Çizelge 4.8. Bozulmuş peynir örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU).....	68
Çizelge 4.9. Bozulmuş kaymak örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm). 71	71
Çizelge 4.10. Bozulmuş kaymak örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU) .....	73
Çizelge 4.11. Bozulmuş yoğurt örnekleriinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)	76
Çizelge 4.12. Bozulmuş yoğurt örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU) .....	78
Çizelge 4.13. Bozulmuş tereyağı örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)	80
Çizelge 4.14. Bozulmuş tereyağı örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU) .....	82
Çizelge 4.15. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)	85
Çizelge 4.16. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU) .....	87
Çizelge 4.17. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların inhibisyon zon çapları (mm) .....	89
Çizelge 4.18. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU).....	91
Çizelge 4.19. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm) .....	93
Çizelge 4.20. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU).....	95

Çizelge 4.21. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun inhibisyon zon çapları (mm).....	98
Çizelge 4.22. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun killer aktivite değerleri (aU) .....	99
Çizelge 4.23. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun inhibisyon zon çapları (mm).....	100
Çizelge 4.24. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun killer aktivite değerleri (aU) .....	101
Çizelge 4.25. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun inhibisyon zon çapları (mm).....	102
Çizelge 4.26. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun killer aktivite değerleri (aU) .....	103
Çizelge 5.1. Killer özelliği araştırılan mayaların bozucu mayalara (58 adet maya) karşı etki eden maya sayısı ve yüzdesel etki düzeyleri.....	105
Çizelge 5.2. Bozulmuş et örneklerinden izole edilen bozucu mayalara etkisi araştırılan killer özellikli mayaların killer etki sayısı ve yüzdesel değerleri .....	107
Çizelge 5.3. Bozulmuş süt örneklerinden izole edilen bozucu mayalara etkisi araştırılan killer özellikli mayaların killer etki sayısı ve yüzdesel değerleri .....	109
Çizelge 5.4. Bozulmuş turşu, sirke ve zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara etkisi araştırılan killer özellikli mayaların killer etki sayısı ve yüzdesel değerleri .....	111
Çizelge 5.5. Bozucu mayalara karşı zon aktivitesi gösteren killer mayaların belirli aralıklarda düşük, orta ve yüksek etki spektrumu değerleri .....	113

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

aU	Arbitrary Unit
BM	Bozucu Maya
C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	Sitrik Asit Monohidrat
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DRBC	Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol
dsDNA	Double strain DNA
dsRNA	Double strain RNA
EDTA	Etilen Di Amin Tetra Asetik Asit
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
g	Gram
HIV	Human Immunodeficiency Virus
K	Killer Maya İzolatı
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Di Potasyum Fosfat
KCl	Kalsiyum Klorür
kob	Koloni Oluşturma Birimi
LAB	Laktik Asit Bakterisi
LM	Killer Özelliği Araştırılan Maya
M	Molarite
MAE	Malt Ekstrakt Agar
mg	Miligram
MIC	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
mm	Milimetre
mm <sup>2</sup>	Milimetrekare
ml	Mililitre
NaCl	Sodyum Klorür
nm	Nanometre
PCR	Polimerase Chain Reaction
PDA	Potato Dekstroz Agar
PMSF	Fenil Metan Sülfonil Florür
pPac-1	Linear Plazmid
RAPD-PCR	Random Amplified Polymorphic DNA-Polimerase Chain Reaction
RNA	Ribo Nükleik Asit
rRNA	Ribozomal RNA
ScVs	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Virüs Kodu
ssRNA	Tek iplikçikli RNA
ssRNA	Tek iplikçikli RNA
TOK1	Potasium Geçiş Kanalı
YEPD-MB	Yeast Ekstrakt Peptone Dextrose-Methylen Blue
°C	Santigrad Derece
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
±	Standart Sapma

## **1. GİRİŞ**

Mayalar da bakteriler gibi tek hücreli canlılar olup, taksonomide küf veya küf mantarları adı verilen diğer canlılarla birlikte funguslar grubunu oluşturmaktadır. Mayalar yuvarlak (sferik), elips veya silindir şeklinde olmaktadır. Büyüklükleri cinslerine göre değişmekte birlikte 5-8  $\mu\text{m}$  çapındadır. Hücreler, özellikle üreme evresinde düz ve dallı zincirler yapmaktadır. Bazı koşullar altında üretilen hücrelerin filamentler oluşturdukları görülmüştür. Ancak bunları normal şekilleri dışında kabul etmek gerekmektedir. Mayalar genel olarak bakterilerden büyülüklük ve şekil açısından fark gösterdikleri gibi küflerden de miselyum oluşturma açısından ayrılmaktadır. Mayalar yüksek fungusların içinde küçük bir grup olmalarına rağmen mikrobiyolojik açıdan büyük önem taşırlar. *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Phycomycetes* ve *Deuteromycetes* gruplarının ortak özelliği olan miselleri oluşturmaktadır. Tipik bir maya hücresi tomurcuklanarak çoğalır. Tomurcuk ana hücrenin büyülüğüne gelinceye kadar büyümeye devam eder ve bu aşamada çekirdek bölünmesi başlar ve her iki hücre çapraz olarak birbirinden ayrılır. Bu şekilde bölünme gerçekleşmiş olur. Geniş pH, şeker ve alkol konsantrasyonu sınırları arasında gelişebilirler. pH 1.5 ve %18 gibi yüksek alkol bulunan ortamlarda ve %55-60 gibi yüksek şeker konsantrasyonlarında gelişebilirler. Krem renginden pembe kırmızıya kadar değişen renklerde pigmentler oluşturabilirler. Yapılan çalışmalarla birlikte mayaların cins ve türlerine sınıflandırılması gerçekleştirilmiş ve literatüre aktarılmıştır.

Mayalar, doğada yaygın olarak bulunan mikroorganizmalardır. Bu organizmalar tabiatta farklı ortamlarda gelişerek yaşamlarını sürdürmekte ve pek çok ortamda gelişebilmektedirler. İnsan vücudunda, çevrede, gıdada, göllerde, nehirlerde ve çoğu yerde mayalar bulunabilmektedir. Mayalar büyük bir çoğunluğu toprak kökenli değildir (Van Vuuren ve Jacobs, 1991).

Gıda endüstrisinde pek çok fermantasyonda mayalardan yararlanılarak çeşitli gıda üretimleri yapılmaktadır. Hamur, şarap, bira, kefir, kırmızı, peynir, sucuk, sosis ve daha birçok fermente gıdanın üretimi gibi gıdaların fermantasyonunda mayalardan yararlanılmaktadır. Gıda fermantasyonlarında olumlu etkilere sahip olabilmelerine rağmen mayalar, aynı zamanda gıdaların bozulmasında da etkili olabilmektedirler.

Süt ürünlerinde *Candida*, *Kluyveromyces* (Kaynar, 2011), *Yarrowia* (Liu ve Tsao, 2009), *Saccharomyces* (Penney vd., 2004), et ürünlerinde *Debaryomyces*, *Candida* ve *Rhodotorula* (Ojalvo vd., 2015), zeytin, turşu ve sirke gibi salamura ürünlerinde ise *Zygosaccharomyces*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Pichia* (Golomb vd., 2013) ve *Issatchenka* (Kara ve Özbaş, 2013) gibi maya cinsleri bozulmalara neden olmaktadır. Bu durum ekonomik açıdan önemli kayıplara neden olmakta ve gıda endüstrisindeki en büyük problemlerden biri haline gelmektedir. Gıda üretiminde diğer mikroorganizmalar tarafından istenilmeyen mikroorganizmaların inhibe edilmesi diğer mikroorganizmalar tarafından üretilen antimikrobiyal bileşikler tarafından gerçekleştirilmektedir. Mayalar tarafından üretilen proteinimsi yapıda bileşiklerin bu amaçla kullanılabileceği yapılan pek çok çalışma ile ortaya konulmuştur. Bu inhibe edici özelliğin maya izolatının salgıladığı toksinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Florentina ve Gageanu, 2011).

Genel olarak öldürücü toksin salgılayan mayalara killer mayalar denilmektedir (Bevan ve Makower, 1963). Toksin salgılayan mayalar ilk kez *Saccharomyces cerevisiae*'nın laboratuar denemelerindeki suşlarında görülmüştür. Üretilen toksinler düşük molekül ağırlıklı protein, glikoprotein ya da ekzopolisakkarit yapısında olan bileşiklerdir (Bevan ve Makover, 1963; Woods vd., 1968; Woods vd., 1974, Hatoum vd., 2012).

Toksinleri üreten aynı türe ait maya izolatları bu toksinlerden etkilenmezken toksinlere duyarlı farklı cins ve türe ait maya izolatlarının inhibe olduğu gözlemlenmiştir (Marquina vd., 2002).

Dolayısıyla bazı doğal maya izolatları ve laboratuar suşlarında bulunan genetik, biyokimyasal ve etki spektrumları gibi özelliklerin yanı sıra killer etkileri de mayaların önemli özellikleri arasında yer almaktadır (Bevan ve Makower, 1963; Woods vd., 1974; Marquina vd., 2002; Ingeniis vd., 2009).

Killer toksin üretimi maya türlerine hatta suşlarına göre değişebilmektedir. Mayalar toksin yeteneklerine göre 4 ayrı fenotip göstermektedirler. Toksin üretecek diğer hücreleri öldüren suşlar killer (K), toksinden etkilenecek ölen suşlar duyarlı (S), toksinden etkilenmeyen ve toksin üretmeyen suşlar nötral (N), toksin üretecek

öldüren ve diğer suşların toksininden etkilenen suşlara ise killer-duyarlı (K-S) denilmektedir (Bevan ve Makover, 1963; Woods vd., 1974; Vuuren ve Jacobs, 1992).

Killer maya toksinlerini ayırt etmek için halen uygulanmakta olan yöntem, ilk olarak 1963 yılında Bevan ve Makower tarafından tanımlanmıştır. Yapılan bu çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* türünün üretmiş olduğu toksinin insan ve probiyotik canlı hücresi üzerinde herhangi olumsuz bir etkisinin bulunmadığını, insan dışındaki ökaryotik yapıdaki canlı hücreleri üzerinde ise öldürücü bir etkiye sahip olduğunu keşfetmişlerdir (Bevan ve Makover, 1963; Woods vd., 1974). Bu toksinlerin sıcaklığa karşı toleranslarının düşük olduğu, vücut sıcaklığında dahi 3 boyutlu yapısının bozulduğu ve dolayısıyla inaktif hale geldiği yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (İzgü vd., 1996; Ramon-Portugal vd., 1998).

Killer aktivite çeşitli maya cins ve türlerinde keşfedilmiştir. İlk olarak Bevan ve Makower (1963)'in çalışmasında *Saccharomyces* cinsinde bulunan killer toksinlerini birçok maya izolatının de ürettiği bildirilmiştir (Hodgson vd., 1995).

*S. cerevisiae* türü dışında killer aktivite 90'dan fazla türde keşfedilmiştir (Buzzini vd., 2004). *Saccharomyces* cinsi dışında killer aktivite gösteren diğer maya cinsleri *Pichia*, *Candida*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Debaryomyces* (Çorbacı, 2008), *Cryptococcus*, *Ashida*, *Williopsis*, *Torulopsis*, *Hanseniaspora*, *Kloeckera*, *Rhodotorula*, *Schwanniomyces*, *Trichosporon* (Ingeniis vd., 2009), *Metschnikowia* (Oro vd., 2013), *Torulaspora* (Rosa-Magri vd., 2011), *Zygosaccahromyces* (Hodgson vd., 1998; Ramon-Portugal vd., 1998), *Ustilago* (Dabhole ve Joishy, 2005), *Meyerozyma* (Lima vd., 2013) *Yarrowia* ve *Pachysolen* (Wajcik ve Wiater, 2015) cinsi mayalardır.

Killer aktivite hassas maya suşlarına doğrudan etki etmektedir. Killer mayalar farklı maya hedef hücrelerine karşı öldürücü toksinlerini salgılayarak inhibe etmektedirler (Gulbiniene vd., 2004). Killer aktiviteye sahip maya izolatları toksin üretecek gıda fermantasyonlarında sorun oluşturan yabani mayalara karşı da aktivite gösterebilmektedirler. Ortamda starter suş olarak fermantasyonu yürüten hücrelerin kullandıkları besin elementlerini kendi bünyelerinde tüketerek doğru ürün

oluşumunu engellemektedirler. Killer toksin üretimi ile biyolojik olarak farklı maya izolatları ortamdan elimine edilerek fermantasyonun doğru bir şekilde ilerlemesi ve kaliteli ürün üretilmesi sağlanmaktadır (Altuntaş ve Özçelik, 2007; Hatoum vd., 2012).

Killer mayalardan gıda endüstrisinde genellikle bira, şarap ve ekmek fermantasyonlarında yararlanılmaktadır. Killer toksin üreten türler bira, şarap ve ekmek fermantasyonları dışında değişik gıda ve içki fermantasyonlarında da görülebilmektedir (Van Vuuren ve Jacobs, 1991; Garcia-Garibay vd., 2009).

## **2. LİTERATÜR ÖZETLERİ**

### **2.1. Killer Mayaların Teknolojik Önemi**

Bakteri, maya ve küfler arasındaki besin rekabeti gıda fermantasyonlarını karışık hale getirmektedir. Bu mikroorganizmalar tarafından üretilen organik asitler, hidrolitik enzimler ve aroma maddeleri güvenli bir gıda fermantasyonu ve beslenme açısından gereklidir.

Killer mayalar, meyve ve çürüyen sebzeler gibi ürünlerin doğal mikroflorasında yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca killer mayalar bulundukları ortamda kendi hücreleri dışındaki floranın kompozisyonunda ve gelişiminde önemli ölçüde etkili olmaktadır. Bu şekilde bira ve şarap üretimi gibi çeşitli gıdaların korunmasında, istenilmeyen mikroorganizmaların inhibe edilmesinde killer mayalardan yararlanılmaktadır. Killer mayaların kendi türleri haricinde diğer türlerin hassas suşlarına karşı öldürücü, durdurucu ve gelişimlerini yavaşlatıcı etkileri vardır (Lim ve Tay, 2011).

Son yıllarda killer mayaların endüstriyel kullanım olanakları üzerinde pek çok çalışma yapılmıştır. Killer mayalar gıda endüstrisinde genellikle fermantasyon uygulamalarında görülürken, tıbbi çalışmalarında ve farmasetik alanda da aktif olarak kullanılmaktadırlar. Bunun yanısıra özellikle çeşitli fermantasyon ürünlerinde istenmeyen mikroorganizmaları kontrol altına almak amacı ile de kullanımı uygun görülmektedir. Son zamanlarda biyomedikal alanda da killer mayaların kullanımına yönelik çalışmalar yer almaktadır (Chi vd., 2010).

Bira ve şarap gibi alkollü içeceklerin üretiminde starter mayaların dışında yabani mayalar ortamda gelişerek ürünlerde kontaminasyona sebep olmakta ve fermantasyon prosesini değiştirmektedir. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarla yabani suşların killer özellikli mayalar aracılığı ile ortamdan elimine edildikleri rapor edilmektedir.

Maule ve Thomas (1973) yaptıkları çalışmada bira mayaları üzerine inhibisyon sağlayan maya suşlarını araştırmışlardır. Öldürücü aktiviteye sahip olan killer maya

suşlarının fermantasyon koşullarında ve depolama sırasında pH'nın 3.8-4.2 olduğu aralıkta duyarlı bira mayaları üzerine oldukça etkili olduğunu gözlemlemiştir.

Bira fermantasyonu üzerinde yapılan bir başka çalışmada bira mayalarının killer aktiviteye karşı duyarlı oldukları ve %0.1 oranında killer maya kontaminasyonu olması halinde 24 saat içinde duyarlı bira mayalarının inaktif hale geldiğini belirlemiştir (Russel, 1986).

Garcia-Garibay vd. (2009)'nin çalışmasında şeker kamışı melasından killer suş izole edilmiştir. Bira, şarap, rom ve Meksikaya özgü pulque, cachaça gibi içeceklerin üretiminde denedikleri killer mayanın starter suş olarak kullanılabileceği, rom gibi yüksek alkollü içeceklerin üretiminde yabani maya suşlarına karşı öldürücü etkilerinden dolayı değerlendirilebileceğini rapor etmişlerdir.

Rosa-magri vd. (2011) tarafından gerçekleştirilmiş olan çalışmada şeker kamışı, mısır yaprağı ve sapından izole edilen mayaların sorghumda ve mısırda hastalık yapan *Colletotrichum sublineolum* ve *C. graminicola* gibi fitopatojenik küflere karşı *Torulaspora globosa* ve *Candida intermedia* mayalarının biyokontrol ajansı olup olmadığı araştırılmıştır. *T. globosa*'nın bu küflere karşı antifungal aktivite gösterdiği görülmüş fakat bu konuda daha önceden yapılmış çalışmalarda *T. globosa* mayasının küflere karşı antifungal aktivitesinin olmadığı rapor edilmiştir.

Platania vd. (2012)'nin gerçekleştirdikleri çalışmada killer özellik gösteren *Saccharomyces cerevisiae* ve *Wickerhamomyces. anomalus* maya suşları, kan portakalının (Torocco) çürümesine neden olan *P. digitatum*'a karşı biyokontrol ajansı olup olmadığını test etmişlerdir. *W. anomalus* asidik besiyerinde *P. digitatum*'a karşı mikosinojenik etki göstererek β-glukanaz aktivitesinden kaynaklanan hyphal ve hale inhibisyonu gerçekleştirmiştir. Torocco çürümesine neden olan *P. digitatum*'a karşı *W. anomalus* etkinliği gözlemlenmiş ve depolama süresini yaklaşık 10 güne kadar artttığı rapor edilmiştir.

Lima vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada Brezilyanın Ceara bölgesinden izole edilen 580 maya suşunun 29'unun killer fenotipe sahip olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada tropikal meyvelerden izole edilen *Colletetrichum gleosporioides*'e karşı

antagonistik özellik gösteren killer mayalar biyokontrol ajanı olarak kullanılmıştır. Tropikal meyvelerde *C. gleosporioides*'un hastalık oluşturduğu bilinmektedir. Çalışmada tespit edilen killer mayaların laboratuar koşullarında gerçekleştirilen analizlerde topikal meyvelerde hastalık yapan *C. gleosporioides*'e karşı killer aktivite gösterdiği ve biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceği gözlemlenmiştir.

Yine Lima vd. (2013)'nin gerçekleştirdikleri bir başka çalışmada papaya ve diğer tropikal meyvelerde hasat sonrası oluşan *Colletotrichum gleosporioides*'e karşı biyokontrol ajanı olarak *Meyerozyma guillermondii* ve *Wickerhamomyces anomalus* killer maya suşlarının etkinliği incelenmiştir. Bu suşlar daha önceden in-vitro denemelerde seçilirken günümüzde in-vivo çalışmalarında da değerlendirilmiştir. Çalışmada bu iki killer mayanın bir fitopatojen olan *C. gleosporioides*'e karşı etkinlikleri araştırılmış ve araştırma sonucunda papaya ve diğer tropikal meyvelerde hastalık yapan *C. gleosporioides*'in etkinliğinin azaldığı gözlemlenmiştir. *M. guillermondii* ve *W. anomalus* mayalarının meyvelerde sırasıyla %20.68 ve %24.62 oranında hastalığı azalttığı gözlemlenmiştir.

Rosa vd. (2010) tarafından yapılmış olan çalışmada sorghum bitkisinde hastalığa yol açan *Colletotrichum sublineolum*'a karşı *Torulaspora globosa* mayasının biyolojik kontrolü incelenmiştir. *C. sublineolum*'un bir kük sporu türü olduğu ve fitopatojenik özellik gösterdiği bildirilmiştir. In-vivo ve in-vitro denemelerde fungal büyümeyenin kayda değer bir şekilde gözlemlenmediği tespit edilmiştir. *T. globosa* mayasının iki duyarlı suşa karşı killer aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Sonrasında ise *T. globosa* mayası sorghum'da *C. sublineolum*'un oluşturduğu anthracnosa hastalığına karşı hem inoküle edilmeden önce hem de inoküle edildikten sonra killer toksin oluşturarak hastalığı elimine ettiği görülmüştür. *T. globosa*'nın bu hastalığa karşı biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Bazı mayalar patojenik bitki küklerine karşı biyokontrol ajanı olarak potansiyel göstermektedir. Santos vd. (2004)'nin çalışmasında *Pichia membranafaciens*'in üretmiş olduğu killer toksinin gri çürüklük etmenine yol açan *Botrytis cinerea* küküne karşı potansiyel kontrol ajanı olarak kullanımı görülmüştür. Ayrıca killer maya toksinleri bazı ağaç gövdesi çürüklüğüne neden olan bitki patojenlerine karşı da

denenmiş ve bu patojenleri ortamdan elimine ettiği rapor edilmiştir (Waema vd., 2009).

Portes vd. (2013)'nin gerçekleştirdikleri çalışmada *Penicillium expansum* ve *Aspergillus ochraceus*'a karşı dondurulmuş 11 farklı meyve pulpundan izole edilen killer maya suşlarının antagonistik etkisi değerlendirilmiştir. Toplamda 41 maya suşu bu iki kük sporuna karşı test edilmiştir. Test sonucunda *P. expansum*'a karşı killer aktivite zonunun 10-18 mm, *A. ochraceus*'a karşı killer aktivite zonunun 10-19 mm arası olduğu tespit edilmiştir. 41 maya suşu içerisinde *Kluyveromyces* sp. FP413 maya suşunun antifungal etkisinin *P. expansum*'a %93.33, *A. ochraceus*'a karşı ise %86.44 olduğu ve en yüksek antifungal etkiye sahip olan killer maya suşu olduğu rapor edilmiştir.

Günümüzde toksin salgılayan mayalardan şarap endüstrisinde yararlanılmaktadır. Bu mayalar diğer yabani ve starter mayalara karşı antagonistik etkileri sebebi ile yararlı etkilerde bulundukları yapılan çalışmalarla ortaya konulmuş ve killer mayalar, ilerleyen zamanlarda starter kültür olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bazı durumlarda da fermantasyonu durdurdukları gözlemlenmiş ve bu durumun toksin üretiminin bütün starter suşları inhibe ettiğlerinden dolayı gerçekleştiğini belirlemiştir (Schmitt ve Breining, 2002).

Benda (1985) yaptığı çalışmada şiradan izole edilen ve *Saccharomyces* cinsine ait olan killer toksin içeren maya suşu ile şarap fermantasyonu gerçekleştirmiştir ve diğer spontan flora ile devam eden fermantasyonla karşılaşmıştır. Sonuç olarak öldürücü karaktere sahip olan maya suşu ile yapılan şaraplarda fermantasyonun engellendiği gözlemlenmiştir. Bu özelliğin şarap mayasına aktarılması durumunda ve maya suşlarının saf kültür olarak elde edilmesi ile fermantasyonun kalitesinin artabilecegi vurgulanmıştır.

Ullivari vd. (2011) gerçekleştirdikleri çalışmada şarap yapımı için Arjantin'in Northwest bölgesinden toplanan üzümelerin yüzeyinden izole edilen 31 maya hücreinden 11 tanesinin *Saccharomyces cerevisiae* P351 duyarlı suşuna karşı killer aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Killer maya özelliği gösteren 5 mayanın PCR-RFCP analizleri ve fenotipik testleri yapılmıştır. Bu mayaların *S. cerevisiae* türüne ait suşlar

olduğu gözlemlenmiştir. *S. cerevisiae*'nın 2 killer suşu olan Cf5 ve Cf8 mayaları şarap fermantasyonu boyunca karışık starter kültür olarak kendi bünyelerinde var olan potansiyel özellikler ve kinetikler gözlemlenip şarap fermantasyonunda starter kültür olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir.

Lopez vd. (2011) gerçekleştirmiş oldukları çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* ve *S. kudriavzeii* mayalarının şarap model sisteminde karşılaştırılması yapılmıştır. Sıcaklık, uygun fermantasyon derecelerinde büyümeye, fermantasyonda etil alkolü kullanma, hibrit jenerasyonu ve killer faktör göz önünde bulundurulmuştur. Rekabetçi yaklaşımında bu iki mayanın sistemde etil alkol ve killer faktörlerde önemli bir etkisinin olmadığı, sıcaklığın ise önemli rol oynadığı rapor edilmiştir.

Palero vd. (2013) yaptıkları çalışmada Jerez de la Frontera bölgесine özgü şaraplardan birkaç *Saccharomyces* cinsi suşları spontan fermantasyonu tamamlamak ve starter kültür olarak kullanılmak üzere izole edilmiştir. İzole edilen suşlardan 5 tanesi seçilmiş, şarap yapım yeteneği ve fermentatif kinetiklerine göre ayrılmıştır. Bu mayalar bazı moleküller ve karyotip analizlere tabi tutulmuştur. RAPD-PCR, fermentatif güç, etanol üretimi, sensör kalitesi, killer fenotip, kurutma ve sülfürdioksit toleransı incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonrasında J4 olarak adlandırılan mayanın endüstriyel fermantasyon için en uygun maya olduğu gözlemlenmiştir. J4 mayasının J1, J2, J3, J5, C1 ve C2 mayaları arasında killer biyotip değerlendirmesinde de en yüksek killer aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Petering vd. (1991) üzüm suyundaki killer maya aktivitesini belirlemek için *Saccharomyces* şarap mayasını kullanmışlardır. Belirli üzüm bağlarından ve dünyanın çeşitli bölgelerinden elde ettikleri maya örneklerinde killer aktiviteye sahip maya suşlarının olup olmadığını belirlemiştirlerdir. İzole ettikleri suşlarda farklı pH ve sıcaklık değerlerinde ölçümler gerçekleştirilmiş ve killer aktiviteyi en iyi gösteren maya suşunun pH ve sıcaklığı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda killer maya toksinlerinin duyarlı maya suşlarını 2:1 oranında elimine ettiğini, pH 3.1'de ve 18 °C sıcaklıkta en yüksek killer aktivitenin görüldüğünü rapor etmişlerdir. Farklı killer maya suşlarının da bu sıcaklık ve pH değerine yakın değerde en yüksek killer aktiviteyi göstereceklerini öne sürmüştür.

Godina vd. (2001) yapmış oldukları çalışmada bira ve şarapta bozulmaya neden olan yabani maya suşlarını tespit etmişler ve fermantasyonun olumlu seyredebilmesi için yabani maya suşlarının inhibisyonunun gerekliliği vurgulamışlardır. Meksikaya özgü fermente alkollü içecekler olan aguamiel ve pulque örneklerinden 16 maya suşu izole edilmiştir. Bu 16 maya suşu üzerine yapılan çalışmada 3 maya suşunun killer aktivite gösterdiği görülmüştür. Killer maya suşlarının alkol fermantasyonunda yabani maya suşlarını toksin üreterek öldürdüğü tespit edilmiştir. Killer aktivite gösteren 1 tane mayanın da ortamdaki şekerli bileşikleri kullanarak etanol ürettiği gözlemlenmiştir. Etanolü üreten suşun bu şekilde hem toksin üreterek yabani mayaları öldürdüğü ve kontaminasyonu engellediği hem de starter suş olarak kullanıp alkol ürettiğini rapor etmişlerdir.

Oro vd. (2013) şarap mayalarının üzerinde *Metschnikowia pulcherima*'nın antimikrobiyal etkisini incelemiştir. Planlanan çalışmada *M. pulcherima*'nın toksininin antimikrobiyal aktivitesi, proteinli içerikten dolayı tespit edilememiştir. Fakat demir içerikli besiyeri kullanımı ile *M. pulcherima* mayasının antimikrobiyal etkisinin tespit edilebileceğini fakat bu durumun da diğer maya türleri için elverişli olmadığını gözlemlemişlerdir.

Dabhole ve Joishy (2005) yaptıkları çalışmada şarap fermantasyonunu artırmak amacı ile şarap mayası kullanmışlardır. Kullandıkları mayanın üretmiş olduğu killer toksin olan K2 toksini kontaminasyona sebep olan yabani suşlara etki etmemiştir. Fermantasyon boyunca yabani mayaların ürüne bulaştığı ve üründe kayıplar meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Buna benzer yapılan bir diğer çalışmada ise Gulbiniene vd. (2004). elma, kızılcık, dut ve Litvanya kırmızı üzüm şarabından maya izole etmişlerdir. İzole edilen maya suşları 7 gruba ayrılmış ve killer mayalar tespit edilmiştir. Killer mayalar tarafından üretilen toksinler saflaştırılmış ve saflaştırılan toksinlerin şarap fermantasyonundaki yabani mayalara etki ettiği vurgulanmıştır. Bu şekilde de killer maya toksinlerinin endüstride kalıcı bir iz bırakabileceği bildirilmiştir.

Bira ve şarapta starter kültür olarak seçilen killer maya inokülasyonu fermantasyonun ilk aşamasında kullanılmış, bu şekilde kontamine olan ve bozulmaya

neden olan diğer mayaların kontrol edilebileceği ileri sürülmüştür. Bu amaçla şarap sektöründe gerekli olan kalite kriterlerini sağlayabilecek doğal ya da genetiği modifiye edilmiş killer maya suşlarının starter kültür olarak kullanımına yönelik çalışmalar yapılmıştır (Maglianı vd., 2008).

Bir başka araştırmmanın sonucunda killer mayaların şarap fermantasyonunda istenmeyen *S. cerevisiae* türleri ve diğer yabani maya türlerinin gelişmesini önlemede, fermantasyonda istenmeyen bileşiklerin ve aroma oluşumunun etkin bir şekilde kontrolünde kullanılabileceği öne sürülmüştür (Jacobsen, 1985).

Antonini vd. (2005)'nin yapmış oldukları çalışmada alkollü içecek fermantasyonunda killer mayaların duyarlı olan mayalarla etkileşimi incelenmiştir. Brezilya'ya özgü fermenter alkollü içeceklerden izole edilen 342 maya suşunda yapılan araştırmada etanol üretiminin 30-38 °C arasında ve düşük pH'da 72 saat inkübasyon sonucu olduğu görülmüştür. 342 maya suşunun %72'sinin killer aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Çalışmada çarpıcı olan gelişme ise etanol üretiminin plazmid DNA'sında değil kromozomal DNA'dan kodlandığı belirlenmiştir.

Tredoux vd. (1986) yapmış oldukları çalışmada farklı bölgelerden toplanan üzümülerden izole edilen mayaların, toplam maya populasyonunun bazı bölgelerde %2'sini killer mayaların oluşturduğu, başka bir bölgede killer ya da duyarlı olsun mayaların fermantasyona bir etkisinin olmadığı, diğer bir bölgeden izole edilen maya suşunun da kontaminasyona sebep olan maya suşlarına karşı toksin salgılayarak inaktive ettiği ve biyokontrol ajansı olarak kimyasal madde kullanımının yerini alabilecek düzeyde olduğu bildirilmiştir. Üzüm çeşidinin ve üzüm çeşidine bağlı olarak maya cins ve populasyonunun farklı olduğu bu yüzden de her maya cins ya da türünün killer aktivite göstermeyeceği tespit edilmiştir. Bu durumda öldürücü toksin salgılayamayıp duyarlı ya da yabani suşlara etki edemeyeceği bildirilmiştir. Bu bulgulara ek olarak şarap üretimi haricinde kaliteli bira üretimi sırasında bağılıklığı kuvvetli olan kontaminasyon mayalarının da killer toksinler ile inaktive olabileceği bildirilmiştir. Bu gelişmenin alkol fermantasyonuna katkı sağlayacağı ve ürünün daha korunaklı hale geleceği öne sürülmüştür. Böylelikle bira ve şarap üretiminde

killer aktivite gösteren mayaların biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Benzer bir çalışmada Buzdar vd. (2011) Hindistan sakız ağacından izole edilen 300 maya suşundan 1 tanesinin killer özellik gösterdiğini keşfetmişlerdir. Killer özellik gösteren *Kluyveromyces siamensis* mayasının toksininin patojenik bir maya olan *Metschnikowia bicuspidata* WCY mayasını öldürdüğü gözlemlenmiştir. Üretilen killer toksinin biyokontrol ajanı olarak fermantasyon, farmösetik ve birçok endüstride kullanılabileceği bildirilmiştir. Araştırmada killer toksinin sadece *M. bicuspidata* WCY mayasını öldürdüğü tespit edilmiştir. Fakat *K. lactis*'in killer suşlarının heterotrimerk toksinler üretip inhibisyon oluşturduğu görülmüş, bu durumun da beklenmeyen bir gelişme olarak kaydedildiği gözlemlenmiştir. Toksinin *Candida*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Zygosaccharomyces* ve killer olmayan *K. lactis* suşlarını da inhibe ettiği gözlemlenmiştir.

Bu konuya paralel olarak gerçekleştirilmiş çalışmada *Kluyveromyces phaffii* tarafından üretilen killer toksinin şarap üretiminde sorun oluşturan *Hanseniaspora/Kloeckera* yabani mayalarını öldürdüğü gözlemlenmiş, bu yüzden de şarap üretiminin potansiyel uygulamalarında killer maya toksininin antimikrobiyal ajan olarak kullanımının mümkün olduğu vurgulanmıştır (Comitini vd., 2004).

Bayraktar (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmada Ukrayna'nın Nikolayev bölgesindeki Kablevo üzümelerinden yapılan şarapta çeşitli cins ve türde *Saccharomyces cerevisiae* mayasının türleri bulunmuştur. İzole edilen mayaların çoğunu killер fenotipe sahip olduğu ve şarap endüstrisindeki duyarlı maya türlerine karşı etkin olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada ayrıca *S. cerevisiae* mayası kuru ve sıvı maya kültür haline getirilmiştir. Geçmişten bu yana *S. cerevisiae*'nin kuru ve sıvı maya kültürne şarap endüstrisinde ihtiyaç duyulmuş ve bu yöntemle kültürler yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Böylelikle killer maya kültürleri de stoğa alınmış ve 1963'te yapılan ilk killer çalışma ile birlikte şarap endüstrisindeki değişim başlatılmıştır.

Lopes ve Sangorrin (2010)'in gerçekleştirmiş oldukları çalışmada üç türde ait 36 mayanın killer aktivitelerine bakılmış ve şarapta bozulmaya yol açan *Pichia*

*guillermondii* ve *P. membranafaciens* türlerine karşı biyokontrol ajansı olma durumları incelenmiştir. Çalışmada killer mayaların etkinliği, duyarlı hücrelere karşı yeni yarı nicel metod ile özel üretkenlik adı verilen yöntem kullanılmıştır. Analizler sonucunda *Metschnikowia pulcherima*, *Wickerhamomyces anomala* ve *Torulaspora delbrueckii* mayalarının *P. guillermondii* ve *P. membranafaciens* mayalarına karşı killer aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir.

Lopes vd. (2009) tarafından yapılmış olan çalışmada *Dekkera bruxellensis*'e ait maya suşlarının Patagonian'a özgü şaraplarda tat bozucu fenollerini üretecek şarabın kalitesini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Patagonian'a özgü şarapta starter kültür olarak kullanılan *Pichia guillermondii* mayasının *D. bruxellensis*'e karşı killer aktivitesine bakılmış ve *P. guillermondii* maya türünün *D. bruxellensis*'e karşı fizyolojik ve moleküler testler sonucunda killer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca *D. bruxellensis*'in ürettiği şarabın tadını bozan fenol bileşliğini yeteri kadar üretemediği gözlemlenmiştir. Yapılan moleküler ve fizyolojik testler sonucunda *P. guillermondii* izolatlarının tad seviyesini değiştiren 4-etil fenol, 4-vinil guaikol ve 4-etil guaikol'ü *D. bruxellensis*'ten daha düşük miktarda ürettiği gözlemlenmiştir.

Şarap fermantasyonunda killer mayaların bahsedilen olumlu özelliklerini sağlaması nedeniyle kullanılabileceği vurgulanmasına rağmen bu mayaların fermantasyonu yavaşlatması veya durdurması sonucu sek şaraplarda yüksek oranda şeker içeriğinin olduğu belirlenmiştir. Buna benzer istenilmeyen kalite özelliklerinin önlenmesi açısından olumsuz etkilere yol açmayacak killer mayaların tespit edilmesi ve geliştirilmesinin oldukça önemli olduğu vurgulanmıştır (Özçelik vd., 1996). Bu özellikteki killer mayaların fermantasyonda ön kültür olarak kullanımı sonucunda killer mayaların ortamda baskın hale gelmesi ve fermantasyonu tamamlamaları, dolayısıyla daha kaliteli bir şarap üretiminin sağlanması beklenmektedir (Gunge vd., 1981; Marquina vd., 2002; Altuntaş ve Özçelik, 2007).

Killer mayaların fermantasyonda kullanımı ile kalite parametrelerini olumsuz etkileyebilecek ve ürünün bozulmasına neden olabilecek istenilmeyen mayaların kontrolü sağlanırken aynı zamanda tam bir fermantasyonun sağlanması için gerekli olan mayaların da inhibisyonu söz konusudur. %1 gibi az bir konsantrasyonda olsa bile ortamda killer mayaların bulunması fermantasyonu

sağlayan starter suşun inhibe olmasına neden olabilmektedir (Boekhout ve Robert, 2003).

Şarap ve bira gibi alkol fermantasyonunun yanı sıra yapılan son çalışmalarla birlikte zeytin üretiminde de killer mayalardan yararlanılabileceği belirlenmiştir. Zeytinde bazı maya türlerinin sahip oldukları killer aktiviteden dolayı bu mayaların biyokontrol ajanı olarak kullanılması önerilmektedir. Dolayısıyla daha az koruyucu madde kullanılabileceği ve laktik asit bakterilerinin fermantasyonda gelişiminin destekleneceği ileri sürülmektedir (Kara ve Özbaş, 2013).

Hernandez vd. (2008)'nin Portekiz'de yeşil zeytinler üzerine yapmış oldukları çalışmada farklı bölgelerden getirilen zeytinlerden izole edilen maya suşlarında killer karakter incelenmiştir. Çalışmada değişik tuz konsantrasyonlarında ve farklı pH'larda killer aktiviteye bakılmış, yüksek pH (8.5) ve yüksek tuz konsantrasyonu (%10) olan ortamda killer suşların duyarlı mayaları inaktive ettiği gözlemlenmiştir. Yapılacak çalışmalarla birlikte yabani maya kontminantlarına karşı killer suşların biyokontrol ajanı olarak kullanılıp kimyasal koruyucu kullanımının azaltılabileceği vurgulanmıştır.

Zeytin dışında Malezya'da yapılan bir diğer çalışmada fermente gıda örnekleri olan tapai, fermenti meyve-sebzeler, tempeh, misove ve diğer fermenti fasulyeler, yoğurt, soya sosu, pirinç şarabı ve sirkeden izole edilen 252 maya suşundan 19 tanesinin killer aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmanın sonucunda killer mayaların Malezya'daki fermenti ürünlerde *Candida* cinsi mayaların neden olduğu *Candiasis* hastalığını oluşturan patojenik hastalığı engellediği bildirilmiştir. Bu şekilde biyolojik bir canlı kullanılarak engellenen rahatsızlığın ilaçların daha az kullanılmasını sağladığını da rapor edilmiştir (Lim ve Tay, 2011).

Alonso vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Zygosaccharomyces*'e ait 34 maya suşu tespit edilmiş ve yapılan testler sonucunda 18 suşun duyarlı olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ilk kez *Zygosaccharomyces*'in farklı suşlarına karşı PMKT kodlu killer toksinin etkinliği gözlemlenmiştir. Bu toksin tatlı şarap ve konsantre üzüm suyundan izole edilmiştir. PMKT toksininin aktivitesinin potasyum sorbat ve

*potasyum metabisülfit*'in varlığı ile *Zygosaccharomyces* türlerine ve *Saccahromyces cerevisiae* mayasına karşı etki ettiği gözlemlenmiştir.

Mushtaq vd. (2013) yapmış oldukları çalışmada süt örneklerinden önceden izole ettikleri 20 cinse ait 50 maya türünde killer-duyarlı modele (KSP) sahip mayaları araştırmışlardır. Çalışmada farklı maya suşlarına karşı toksinin etki derecelerinin yüzdeleri verilmiştir. Çalışma sonucunda killer aktivitesi en yüksek olan maya suşunun fermantasyonda spontan suş olarak kullanılabileceği, bozulmaya neden olan maya türlerine karşı da killer aktivite mekanizması ile antagonistik etki oluşturarak ortamdan elimine edebileceği belirtilmiştir.

İzgü vd. (2004) yaptıkları çalışmada Türk firincılık sektöründe starter kültür olarak PAK Gıda'nın ürettiği *Saccahromyces cerevisiae* BSP1 mayasının fermantasyonda kontaminasyona neden olan *Candida tropicalis* mayası ile olan etkileşimi araştırılmıştır. Yapılan denemelerde starter suşun kontaminasyona sebep olan mayayı inhibe edemediği görülmüştür. Kontaminasyona sebep olan maya türü starter suşun besinini tüketerek fermantasyonun seyrini etkilediği gözlemlenmiştir. Uluslararası maya kültür koleksiyonundan *S. cerevisiae* mayasının üretmiş olduğu ve *Candida* suşları üzerinde etkili olan K3 toksinini kodlayan gen temin edilmiştir. Bu toksini kodlayan gen protoplast füzyon tekniği ile *S. cerevisiae* BSP1 suşuna aktarılmış ve starter suşun killer toksin ürettiği gözlemlenmiş olup K3 toksininin kontaminasyon mayasını öldürdüğü rapor edilmiştir. Bu şekilde genetik çalışmalar ile birlikte toksin kodlayan genin aktarılması sonucu mayalara killer özelliğin kazandırılabilıldığı bildirilmiştir.

Parveen ve Begum J. (2010) tarafından yapılan çalışmada alkol ve fırın endüstrisinde bozulmaya neden olan fungal patojenlerin ve bazı yabani mayaların killer mayalar ile toksin oluşturularak inhibe edildiği bildirilmiştir. *Saccahromyces cerevisiae* fermantasyon mayasının killer toksin üreterek duyarlı maya izolatlarına, fungal patojenlere etki ettiği ve bu şekilde fermantasyonun ılımlı seyrettiği görülmüştür. Bu sayede *S. cerevisiae* killer mayasının fermantasyonda biyokontrol ajansı olarak kullanımının da mümkün olacağı bildirilmiştir.

Goretti vd. (2009)'nin gerçekleştirdikleri çalışmada 21 bozulmuş gıadan izole edilen 14 maya cinsine ait 310 suşa karşı *Williopsis saturnus* tarafından salgılanan KT4561 killer proteininin in-vitro koşullarda antimikotik aktivitesi incelenmiştir. Killer mayanın yanı sıra kimyasal antimikrobiyal ajanlar ile de kontrol sağlamışlardır. Sırasıyla etil-3 hidroksi benzoat (E214), potasyum sorbat (E202), ve potasyum metabisülfit (E224) eklenmiş ve gıdalarda bozulmaya neden olan mayaların olumsuz olarak etkilenip aktivitelerinin düştüğü gözlemlenmiştir.

Chi vd. (2010)'nin gerçekleştirdikleri çalışmada denizden izole edilen mayaların killer özellik gösterip göstermedikleri araştırılmıştır. Denizden izole edilen mayaların patojenik maya ve patojenik bakterilere karşı biyokontrol ajanı olarak kullanılıp kullanılamayacağı değerlendirilmiştir. Denizden izole edilen mayalar deniz hayvanları için zengin besin kaynaklarıdır. Bu mayalar özellikle esansiyel aminoasitler açısından zengindir. Ayrıca biyodizel yapımında da kullanılmaktadır. Çalışmada *Yarrowia lipolytica* üzerinde killer aktivite testleri gerçekleştirilmiş ve bu mayanın killer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *Y. lipolytica* mayasının bazı deniz maya ve bakterilerine karşı biyokontrol ajanı olarak kullanılabilme durumu araştırılmıştır. Çalışma sonucunda da *Y. lipolytica*'nın killer potansiyelinin antimikotik ve antibakteriyel özellikte olduğu bildirilmiştir.

Labbani vd. (2015) yaptıkları çalışmada Cezayir toprağından izole edilen *Pichia kluyveri* suşu tarafından salgılanan yeni bir killer protein olan Pkkp'nin yiyecek ve içeceklerde bozulmaya yol açan *Dekkera*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Torulaspora*, *Wickerhamomyces* ve *Zygosaccharomyces* cinslerine karşı killer aktivitesini denemişlerdir. Denemeler sonrasında Pkkp toksininin en yüksek killer aktivite gösterdiği mayanın *D. bruxellensis* (64.000-256.000 MIC) ve *S. cerevisiae* (32.000-64.000 MIC) olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonucunda ise yiyecek ve içeceklerde bozulmaya yol açan mayalar için killer maya içeriklerinin kullanılması olacağı rapor edilmiştir.

Wojcik ve Wiater (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ormandan, meyve ağaçlarının yapraklarından, çiçek kökleri, tahlillar ve donmuş meyveden izole edilen 50'den fazla cinse ait mayanın killer aktivitesini incelemiştir. *Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Pachysolen*, *Yarrowia* ve *Trichosporon* cinslerine ait killer

aktivite gösterebilecek suşlar duyarlı suş oldukları bilinen referans *Kluyveromyces lactis* Y-6682 ve *K. marxianus* Y-8281 üzerinde test edilmiştir. 50 cins içerisinde yer alan 102 türün içerisinde 24 suşun duyarlı suşlara karşı killer aktivite açısından pozitif etki gösterdiği gözlemlenmişken 10 suşun zayıf killer etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca en yüksek killer aktivitenin çiçeklerden ve ormandan alınan toprak örneğinden izole edilen mayalar tarafından gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Santo vd. (2012) gerçekleştirdikleri çalışmada Akdeniz'deki çilek ağaçlarında meydana gelen doğal fermantasyonlarda maya türlerini belirlemişler ve bu mayaların killer aktivite düzeylerini araştırmışlardır. Çalışmada rRNA analizleri yapılmış ve fermantasyondan sorumlu mayaların *Metschnikowia*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* ve *Saccharomyces* cinslerine ait oldukları belirlenmiştir. Proses, biyolojik olduğu için faklı cinsteki bakterilerin yüksek etanol konsantrasyonunda canlı kalamadıkları gözlemlenmiştir. *S. cerevisiae*'e ait 43 izolat tespit edilmiş ve *Zygosaccharomyces bailii* ve referas iki duyarlı suşa karşı killer aktivite tespit edilmiştir. Diğer mayaların oluşturdukları toksinler (K2, K5, K8, K9 ve K10) ayrıca analiz edilmiştir. Maya izolatları üzerine yapılan analiz sonucunda bu mayaların %95.3 duyarlı ve %4.7 killer toksinlere karşı toleranslı olduğu vurgulanmıştır. Sadece üç mayanın toksinlerinin *Z. bailii* mayasına karşı killer aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir.

Çorbacı vd. (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmada geleneksel ve moleküler biyolojik yöntemlerle kesin tanıları gerçekleştirilmiş olan ve killer toksin üretim potansiyelleri belirlenmiş askomisetik *Debaryomyces hansenii* suşlarının killer üretim kapasiteleri üzerine farklı koşulların etkisini araştırmışlardır. Çalışmada killer maya olan *D. hansenii* suşlarında toksin üretiminin hücre büyümeye koşulları ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Çalışmaya ek olarak killer toksinin oldukça geniş sıcaklık ve pH aralıklarında üretilmesi nedeniyle bu toksinlerin endüstriyel fermantasyonda biyokontrol ajanı olarak kullanılabilme portansiyeli olduğu gözlemlenmiştir.

Fermantasyonun sürekli veya kesikli olma durumuna göre de killer aktivite derecesinin değiştiğine dair araştırmalar bulunmaktadır. Ramon-Portugal vd. (1998)'nin çalışmasında *Saccharomyces cerevisiae*'nın karışık kültürlü popülatyonundan iki suş izole edilmiştir. Duyarlı (522D) ve killer (K1) maya suşu, belirlenen konsantrasyonlarda kesikli fermantasyonda killer toksinin duyarlı maya

izolatının toplam populasyonunun %5 ve %10'luk dilimini inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Farklı konsantrasyon etkileri ile killer mayanın inhibe ettiği duyarlı hücrenin toplam populasyonu değiştirdiği bildirilmiştir. Sürekli fermantasyonlarda toksinin duyarlı hücrenin tamamına etki ettiği de gözlemlenmiştir.

Killer mayalar tıp ve biyoteknoloji alanında kullanılabilen protein yapıdaki toksinleri de salgılamaktadır (Schmitt ve Breining., 2002). Endüstriyel ve klinik alanlarda kullanımları ilginç olan bu maya türleri kendi türleri içerisinde potansiyel oluşturmaktadır. Toksinler, fermantasyon ve tıbbi uygulamalarda kontamine grubunda yer alan mikroorganizmaların biyolojik olarak kontrol altına alınmaları amacıyla da kullanılmaktadır (Buzzini ve Martini, 2000). Killer maya toksinlerinin patojenik olan ve kontaminasyona sebep olan mayalara karşı antimikotik ajan olarak kullanımlarına birçok çalışmada yer verilmiş ve uygulamalarda görülmüştür (Hodgson vd., 1995; Walker vd., 1995).

İnsanlar ve hayvanlar doğumlardan itibaren mayalarla ilişki içindedirler. Çoğu maya türü memelilere karşı patojenik olmasa da yaklaşık 200 maya türü memeli canlılara karşı hastalık yapıcı özellikledir. Son yıllarda özellikle yoğun kemoterapi, bağılıklığı bastırıcı ilaçlar ve HIV sebebi ileimmün sistemi çökme durumuna gelmiş insanlarda fungal patojenler sebebi ile hastalıkların durumunun istenmeyen boyutlara ulaşlığı bildirilmektedir. Bu durumların engellenmesi için killer mayaların etkinliği artırılmaktadır. Yeni yapılan araştırmalarda killer mayalar yoluyla biyolojik mücadeleye gidilmiş ve başarılı sonuçlar alınmaya başlanmıştır (Yener, 2006).

Vadkertiova ve Slavikova (2007) tarafından gerçekleştirilen çalışmada insan orijinli 25 maya kültürü, 4 patojenik maya türü olan *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* mayalarına karşı ağaç yapraklarından, toprak ve sudan izole edilen 11 askomikot ve 10 basidiomikot maya türlerine karşı test edilmiştir. Bu mayaların bazılarının patojen mayalara karşı killer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. En iyi killer aktivitenin basidiomikot türleri arasında *Rhodotorula glutinis* ve *R. mucilaginosa*'nın gösterdiği görülmüştür. Basidiomikot türleri arasında ayrıca bazı türlerin karotenoid ürettiği ve bunların da *Cystofilobasidium capitatum*, *Sporobolomyces salmonicolor* ve *S. roseus* olduğu tespit edilmiştir. Bu mayaların test suşlarına karşı zayıf etki gösterdikleri rapor edilmiştir. Askomikot mayalar

arasında killer aktivite gösteren mayaların *Pichia anomala* ve *Metschnikowia pulcherrima* olduğu, bu maya türlerinin haricinde *Debaryomyces castellii*, *D. hansenii*, *Hanseniaspora guillermondii*, *P. membranafaciens* ve *Williopsis californica* mayalarının killer aktivite göstermediği tespit edilmiştir. En iyi killer aktivite gösteren mayaların yapraklı ürünlerden, en düşük killer aktivite gösteren mayaların ise topraktan izole edildiği gözlemlenmiştir.

Helguera vd. (2012) yaptıkları çalışmada farklı koşullar altında 64 *Candida glabrata* klinik maya izolatının killer aktivite varlığı araştırılmıştır. Araştırma sonucunda klinik *C. glabrata* mayalarının sadece %6.25'inin *Saccharomyces cerevisiae* W303 duyarlı suşuna karşı pozitif killer aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. 4'ten 7'ye değişen pH aralıklarında ve 37 °C'de optimal aktivite tespit edilmiştir. Ayrıca killer aktivitesi pozitif olan *C. glabrata* izolatlarında ekstrakromozomal genetik elementlere rastlanmadığı rapor edilmiştir.

Bajaj vd. (2013)'nin gerçekleştirmiş oldukları çalışmada *Pichia kudriavzevii* RY55 suşunun killer aktivite gösterdiğini ve bu özelliğin *P. kudriavzevii* mayasında ilk kez ortaya çıktığını rapor etmişlerdir. Çalışmada killer toksini sentezleyen mayanın, Fermentation Biotechnology Laboratory of School of Biotechnology Institute kültür koleksiyonundan alınan ve patojen olduğu bilinen *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *P. alcaligenes* bakterilerini inhibe ettiği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. İnsan sağlığı açısından zararları rapor edilmiş olan bu patojen mikroorganizmaların biyolojik yolla inhibisyonu sonucunda *P. kudriavzevii* RY55 mayasının fermantasyon endüstrisinde starter kültür olarak gıdaların korunmasında biyokontrol ajanı, tıbbi olarak antimikrobiyal ve kemoterapi ajanı olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir. Ayrıca ileride yapılacak çalışmalarla doğrudan killer toksini kodlayan genin aktarılması ile mayanın hem killer toksini üretip gıdaları koruması hem de kemoterapi ajanı olarak farklı endüstrilerde yararlanılabileceği bildirilmiştir.

Buna benzer yapılmış bir başka çalışmada Ochigava vd. (2011) insan sağlığı üzerine zararlı patojenik bakteri olan *Streptococcus pneumoniae*'nın *Williopsis saturnus* mayasının üretmiş olduğu K9 toksininden etkilenmediğini bildirmiştir. Farklı

besiyeri ortamlarında gerçekleştirilen analizlerde farklı killer toksin üreten *W. saturnus* maya suşlarının bu mikroorganizmaya etki etmediği görülmüştür.

Bu çalışma ile bağlantılı olan bir diğer çalışmada ise Conti vd. (2002) *Pichia anomala* ATCC 96603 suşu tarafından üretilen killer toksinin etki spektrumunun Gram (+) bakteri olan *Streptococcus pneumoniae* bakterisine etki ettiğini ancak sadece hücre duvarı yüzey polisakkarit yapısına zarar verdiği ve bakteriyi öldüremediğini rapor etmişlerdir. Hücre duvarı yüzey bileşenlerine zarar veren bu organizmanın hücreyi tamamen inhibe edemese de bakterinin zararlı etkisinin azaltıldığını ve bu nedenle de bu türlü bir etki derecesinden dolayı killer toksin üreten mayadan terapötik (tedavi edici) ajan olarak yararlanabileceği rapor edilmiştir.

Son yıllarda *Candida* enfeksiyonları özellikle bağılıklığı baskılanan ağır hastalar arasında arımıştır. Klinik örneklerde en sık karşılaşılan maya *Candida albicans*'tir ve *Candida* türlerinin en patojenik türüdür. Ancak enfeksiyonlardaki artışa bu türün dışında bazı türlerin de sebep olduğu görülmektedir. Enfeksiyona sebep olan diğer türler arasında *C. parasilosis*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Antibiyotik, antimikrobiyal etkili suşların *Candida* türlerinde ilaç direncinin ortaya çıktığını göstermiştir (Lim ve Tay, 2011). Bu toksinlerin enfeksiyonlarının tedavisinde yeni antimikrobiyal ajan olarak kullanım potansiyellerini ortaya çıkarmıştır. Yeni teknoloji sayesinde killer maya toksinlerinin enfeksiyonları önlediği bildirilmiştir (Marquina vd., 2002).

Banjara vd. (2016)'nin gerçekleştirdikleri çalışmada gut hastalığına neden olan patojenik *Candida* maya türlerine karşı gıda kaynaklı *Debaryomyces hansenii* suşlarının killer aktivitesi araştırılmıştır. 22 peynir örneğinden izole edilen 42 *D. hansenii* suşunun *C. albicans* ve *C. tropicalis*'e karşı killer etkisi incelenmiştir. *C. albicans* ve *C. tropicalis*'e karşı 23 suş, uygun pH ve sıcaklıkta killer aktivite gösterirken pH 6.5 ve 35 °C'nin üzeri sıcaklıkta herhangi bir killer aktivite gözlenmemiştir. Peynirden izole edilmiş killer özellik gösteren *D. hansenii*'den mikosin, saf bir şekilde izole edilmiş ve 35 °C'de hem *C. albicans* hem de *C. tropicalis*'e karşı killer aktivite göstermiştir. Bununla birlikte *D. hansenii*'deki

görülen bu pozitif durum gut hastalığı tedavisinde *Candida* populasyonunun azaltılması konusunda yol gösterici olacağı ve kullanılabileceğini göstermiştir.

*Wickerhamomyces anomalus* mayası geniş biyoteknolojik potansiyeli olan, temelde gıda endüstrisinde kullanılan bir maya türüdür. Son zamanlarda böceklerden ve farklı çevrelerden izole edilen bu maya türünün tıbbi çalışmalarda önemi çok büyütür. Martin vd. (2016) gerçekleştirdikleri çalışmada *Phlebotomus perniciosus* adlı böcekten 65 maya suyu izole etmişler ve duyarlı suşlara karşı killer aktivitelerini incelemiştir. Test edilen suşlardan bir tanesi killer fenotip gösterirken 4 duyarlı maya suşuna karşı inhibitör olarak aktivite göstermişlerdir. *P. perniciosus* ve *W. anomalus* arasındaki ilişki *Leismania* spp.'e karşı inhibitör/killer aktivite maya ilişkisinin olasılığını araştırmak için daha sonraki çalışmalarda araştırılacağını da çalışma ile görmek mümkün olmuştur.

## 2.2. Killer Mayaların Mekanizması

Killer mayaların salgıladıkları toksinlerin üzerinde yapılan araştırmalarda konakçı virus etkileşimleri ve duyarlı hücreler üzerinde öldürücü etkilerine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda killer özellik gösteren mayaların virus ile etkileşerek etki ettikleri bildirilmiştir (Schmitt ve Breining, 2006).

Araştırmalarda killer mayaların üretmiş oldukları toksinlerin makromoleküllere etki ettikleri tespit edilmiştir. Duyarlı hücrelerin logaritmik gelişme fazında killer toksinlere karşı zayıf aktivite gösterdikleri gözlemlenmiştir. İnhibisyonun hücrede %70-80 oranında seyrettiği ve duyarlı hücreyi öldürmek için yeterli olduğu belirlenmiştir. Bu durumda duyarlı hücredeki protein sentezinin durduğu, dolayısıyla da hücrenin öldüğü bildirilmiştir (Bussey, 1972).

*S.cerevisiae*'de K1, K2, K28 ve Klus suşları olarak nitelendirilen toksinler keşfedilmiştir. Bu toksinler genetik olarak orta büyüklükteki RNA (dsRNA/Çift iplikçikli DNA) virusleri üzerinde kodlanmışlardır (Schmitt ve Breining, 2006; Kast vd., 2014). Killer maya toksinleri genel olarak dsRNA (*S. cerevisiae*, M1), lineer plazmidler (*P. acaciae*, pPac1-1) ve kromozom (*W. mrakii*, HMK) aracılığı ile

kodlanmaktadır (Çizelge 2.1) (Manfred ve Breinig, 2002; Ciani ve Maccarelli, 2004; Altuntaş ve Özçelik 2007; El-Banna A.A vd., 2011).

Çizelge 2.1. Killer mayaların kodlandıkları genetik bölgeler ve toksin genleri (Ciani ve Maccarelli, 2004; Altuntaş ve Özçelik, 2007)

Mikroorganizmalar	Genetik bölge	Killer Toksin Geni
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Linear dsDNA plazmidi	pGK11
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	dsRNA virüsü	M1-, M2-, M28
<i>Hansenula uvarum</i>	dsRNA virüsü	M-dsRNA
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	Kromozomal	Tanımsız
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	dsRNA virüsü	M-dsRNA
<i>Candida glabrata</i>	Kromozomal	Tanımsız
<i>Pichia anomala</i>	Kromozomal	Tanımsız
<i>Pichia kluyveri</i>	Kromozomal	Tanımsız
<i>Pichia acaice</i>	Linear dsDNA plazmidi	pPac1
<i>Pichia inositovora</i>	Linear dsDNA plazmidi	pPin1
<i>Pichia farinosa</i>	Kromozomal	SMK 1
<i>Williopsis mrakii</i>	Kromozomal	HMK
<i>Williopsis saturnus</i>	Kromozomal	Tanımsız
<i>Schwanniomyces occidentalis</i>	Kromozomal	Tanımsız
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Kromozomal	Tanımsız
<i>Candida glabrata</i>	Kromozomal	Tanımsız

Killer karakter oluşumunda iki farklı dsRNA (çift iplikçikli RNA) virüsünün varlığı gerekmektedir. Bunların birincisi LA helper virüsü, ikincisi ise toksinlerin kodlandığı M killer virüsüdür. Her iki dsRNA genomu virüs benzeri partiküller içerisinde ayrı ayrı kapsid ile çevrilidirler. *S. cerevisiae*'nin ürettiği toksinlerin etkileşim gösterdikleri virüslerin M1, M2, M28 ve Mlus suşları olarak ifade edildiği bildirilmiştir. Bu dsRNA virüslerinin molekül ağırlıklarının ise sırasıyla 1.8 kb, 1.7 kb ve 2.1-2.3 kb düzeyinde olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Çizelge 2.2) (Goto vd., 1990; Kepekci 2006; Schmitt ve Breining, 2006; Yener, 2006; El-Banna A.A., 2011; Maqueda vd., 2011).

Çizelge 2.2. Killer Mayalar ve Toksinleri (Goto vd., 1991; Kepekçi, 2006; Yener, 2006)

Killer toksin üreten maya suşları	Sınıflandırma
<i>Saccharomyces cerevisiae*</i>	K1
<i>Saccharomyces cerevisiae*</i>	K2
<i>Saccharomyces capensis</i>	K3
<i>Candida glabrata</i>	K4
<i>Pichia anomala</i>	K5
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	K6
<i>Candida valida</i>	K7
<i>Hansenula anomala</i>	K8
<i>Hansenula mrakii</i>	K9
<i>Kluyveromyces drosophilicarum</i>	K10
<i>Torulopsis glabrata</i>	K11
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	K28
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Mlus

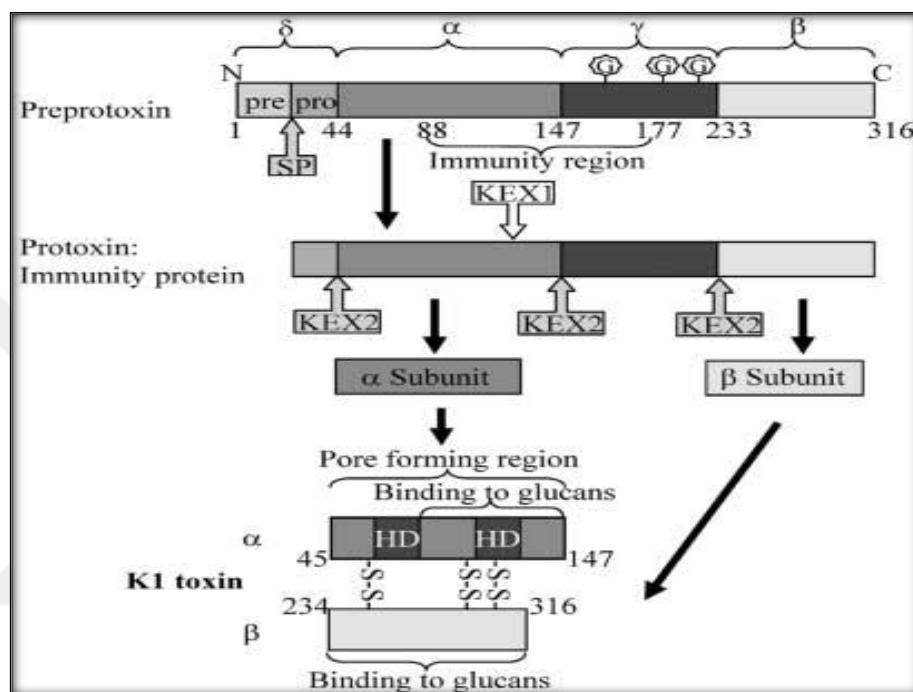
\*K1 fenotipi *S. cerevisiae*'nin laboratuar suşlarına ve K1'i öldürme yeteneği olan fermantasyon kontaminantlarına ait yabani suşlardır.

*S. cerevisiae*'da keşfedilen virüsler (ScVs) *Totiviridae* familyasına aittir (Wickner., 1991). *S. cerevisiae*'nın virüs kodlu şekli ScV-M1, ScV-M2 ve ScV-M28 olarak kodlanmaktadır. Bu üç virüs şeklinin de killer karakter gösterebilmesi için iki farklı dsRNA virüsünün varlığı gerekmektedir (Schmitt ve Breining, 2006).

M virüsleri olgun killer toksin üretiminde gerekli olan preprotoksin üretiminden sorumludur. Yani killer toksini M virüsleri kodlamaktadır. *S. cerevisiae*'nın üretmiş olduğu 4 toksinin de kodlandığı M kodu dsRNA virüslerinde gen dizilimleri açısından bir benzerlik göstermemektedir (Schmitt ve Breining, 2006; Maqueda vd., 2011; Kast vd., 2014).

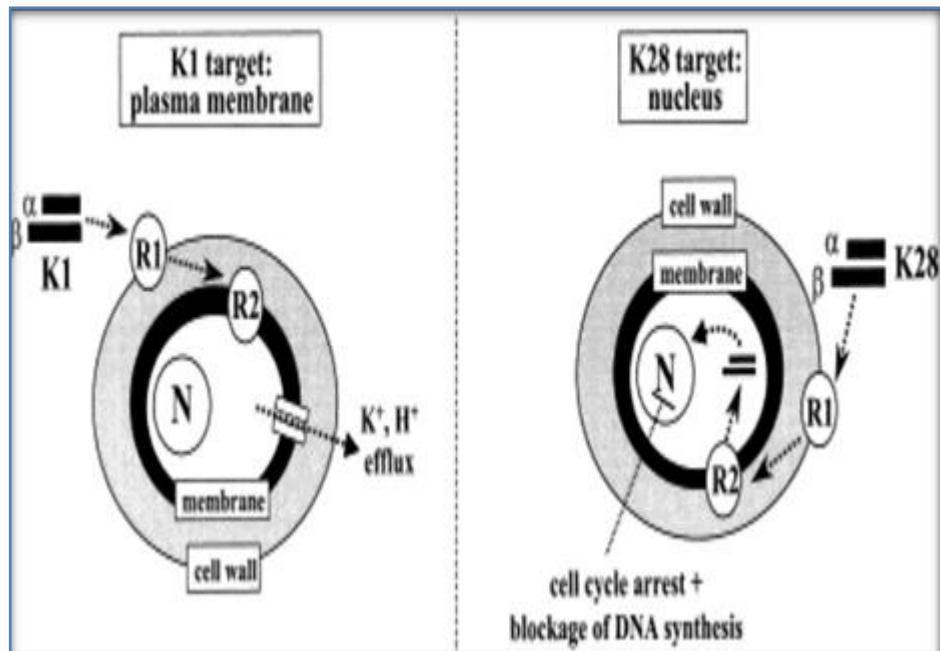
M virüsleri hepler (yardımcı) virüslerine bağlıdır. M virüsleri daha büyük molekül ağırlıklı (4.6 kb) olan bir dsRNA helper virüsüne ihtiyaç duymaktadır ve helper virüsü LA virüsü şeklinde tanımlanmaktadır (Schmitt ve Breining, 2006).

LA helper virüsü K1, K2, K28 ve Klus mayalarında her zaman bulunmaktadır. LA helper virüsü maya hücresında replikasyonun, transkripsiyonun ve enkapsülasyonun gerçekleşmesi için gerekli iken, M virüsleri olgun toksin üretiminde gerekli olan  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  gibi preprotoksinde sorumludur (Şekil 2.1-Şekil 2.2). Aynı zamanda M virüsleri fonksiyonel bağışıklığı da sağlamaktadır (Marquina vd., 2002; Schmitt ve Breining, 2006; El-Banna A.A vd., 2011).



\*SP: sinal peptidaz  
KEX: toksin üretimindeki proteaz içeren killer tanım  
G: glikozile asparajin kalıntısı içeren lokasyon  
HD: hidrofobik domain

Şekil 2.1. K1 killer toksininin olgun toksin yapısı (Türkay, 2012)

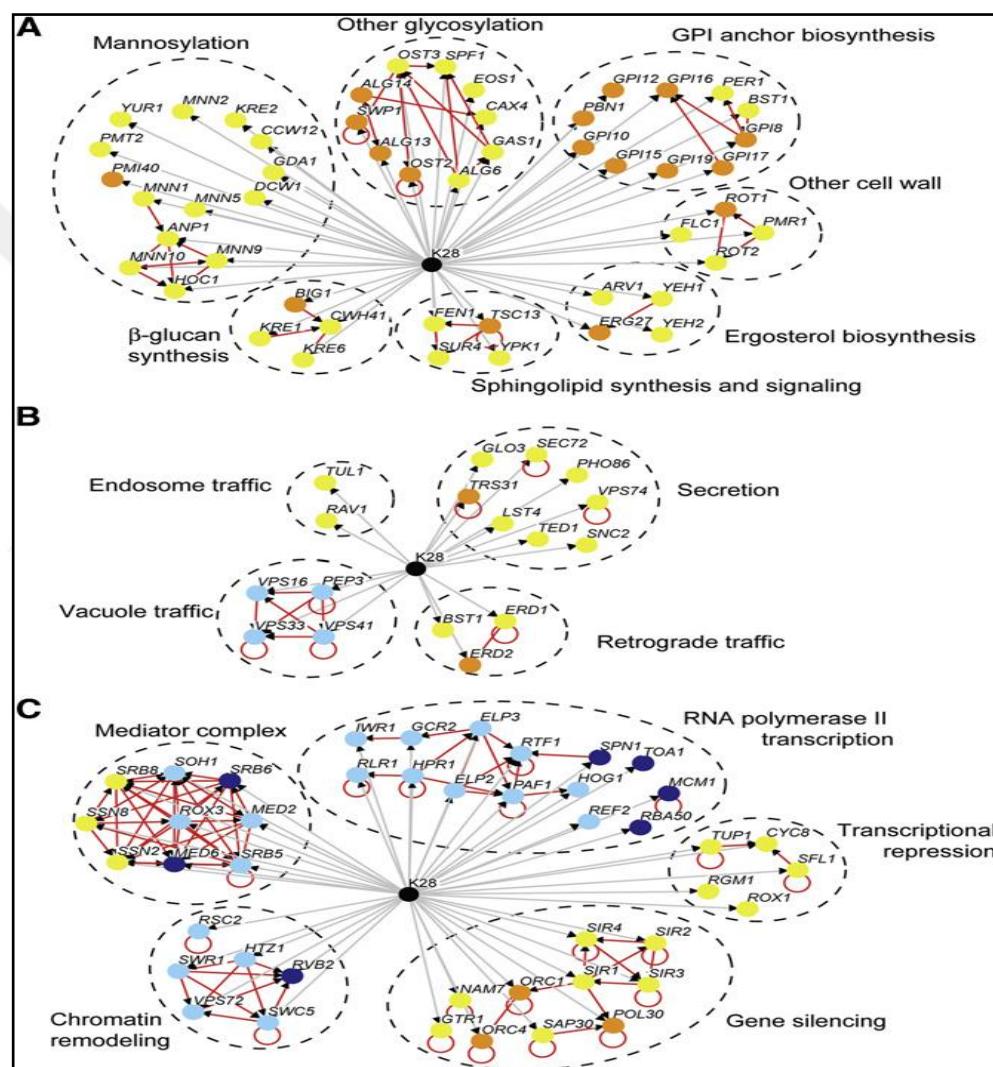


Şekil 2.2. K1 ve K28 killer toksinlerin reseptörlerle tutunarak etki mekanizması  
(Türkay, 2012)

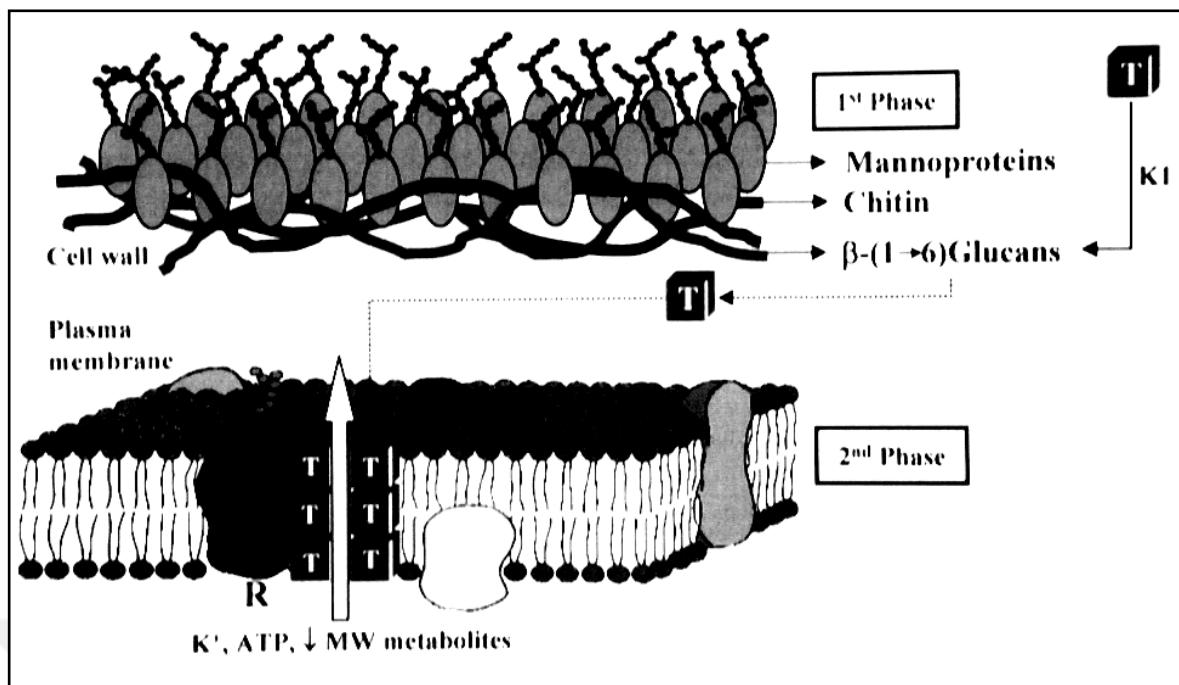
Killer virus barındıran maya için ssRNA (tek iplikçikli RNA) kodlu toksin transkripti sitoplazmada translasyon edilerek preprotoksin üretilmektedir. Ökaryotik hücrelerde toksin salgılama işlemi sentezlenen protein için gereklidir ve bu işlem hücreler arası boşluklarda, plazma membranlarında veya hücre dışı, endozom, vakuoller ve lizozom gibi hücre içi bölümlerde gerçekleşmektedir. Salgılanan proteinler endoplazmik retikulum içeresine alınmakta ve burada proteinin katlanması ve olgunlaşması için optimize edildikten sonra preprotoksin protoksin'e dönüştürülerek golgi bölmeye gönderilmektedir. Golgide işlenen protoksin salgı keseciğine alınarak burada olgun toksin olarak ortaya çıkmaktadır (Schmitt ve Breining, 2006; Magliani vd., 2008; Polonelli vd., 2011).

Killer maya toksinleri hassas maya izolatları üzerinde reseptörler aracılığı ile inhibisyon etkisi oluşturmaktadır. Bu işlem hassas mayaların hücre duvarında ve sitoplazmik membranlarında bulunan reseptörlerle killer toksinlerin etkileşimleri sonucu gerçekleşmektedir. Bilinen bütün killer mayalar protein ya da glikoprotein yapısında toksin üretecek hassas suşları iki aşamalı olarak öldürmektedir (Schmitt ve Breining, 2006).

İlk aşamada hücre duvarının mannoprotein ya da  $\beta$ -1,6-Glukan yapısında reseptöre (R1) primer toksin tarafından bağlanması ile inhibisyon meydana gelmektedir (Şekil 2.3-Şekil 2.4). Bu aşama hızlı ve enerjiden bağımsız olarak gerçekleşirken mekanizma sadece hücre duvarına bağlanan reseptörde gerçekleşmektedir. Plazma membranı ya da hücre membranına bağlanmayan R1, farklı maddelerden oluşmakta ve killer toksin sentezleyen mayalarda bu durum farklı komponentlerden meydana gelmektedir (El-Banna A.A vd., 2011).



Şekil 2.3. Killer hücrenin duyarlı hücre üzerine enzimler yoluyla etki mekanizması (Marquina, 2002)



Şekil 2.4. Killer hücrenin duyarlı hücre duvarı üzerindeki reseptör bölgeye tutunması (Marquina, 2002; Türkay, 2012)

İkinci aşamada ise öldürücü toksinlerin bağılandığı R2 reseptörü enerjiye bağlı olarak etkileşime girmektedir ve toksin hücreyi inhibe etmektedir (Schmitt ve Breining, 2006). Enerjiye gereksinim duyulan bu aşamada toksinler reseptör bağlanma bölgesinden sitoplazma membranına bağlanmaktadır. Bağlanan toksinler ya iyon geçiş kanallarına etki ederek potasyum geçişini engellemektedir ya da direk nükleusa giderek DNA'ya etki edip hücreyi öldürmektedir (Santos vd., 2004; El-Banna A.A vd., 2011).

Membrana bağlanan toksinler membran geçiş kanallarını oluşturarak sitoplazmanın iyon dengesini bozmaktadırlar. Hücrede potasyum dengesi de bu durumda istenmeyen bir şekilde artmaktadır. Böylelikle dengesiz iyon geçişinden dolayı hürenin yapısı bozulmakta ve sonunda hücre, iyon geçiş dengesizliğinden dolayı ölmektedir (Schmitt ve Breining, 2006; Maqueda vd., 2011).

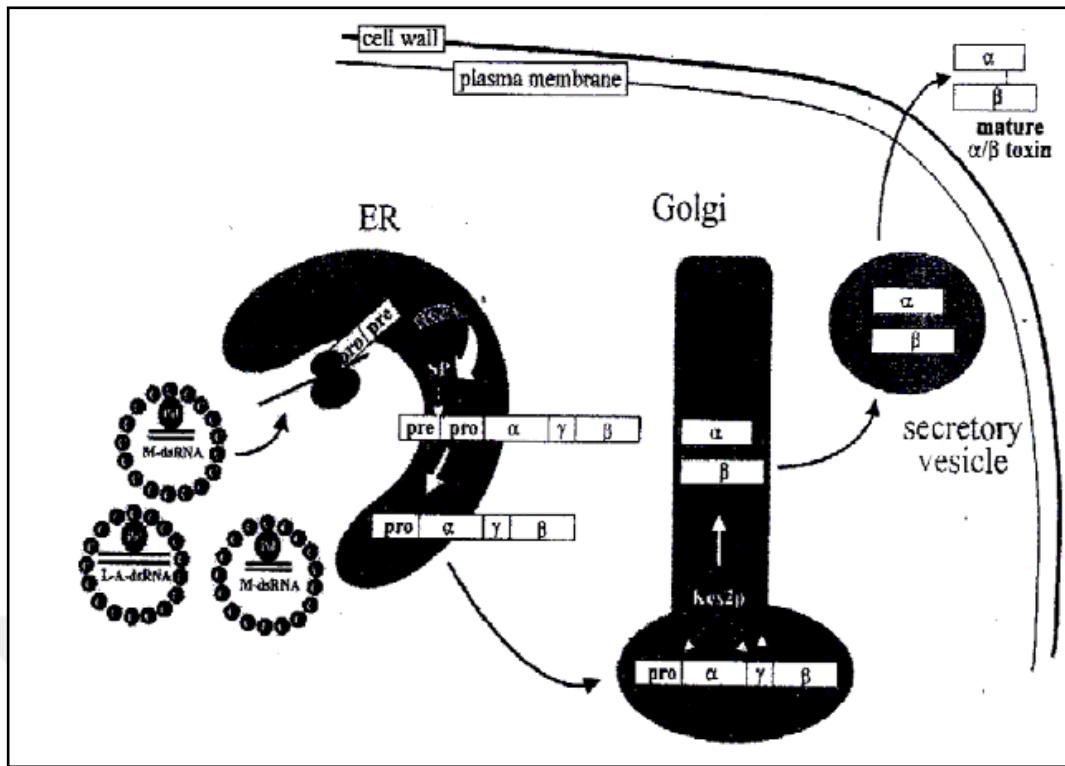
Bu konuda yapılan bir çalışmada iyon geçişini sağlayan TOK1 potasyum kanalını K1 killer toksini için hedef olarak göstermişlerdir. Üretilen killer toksin başka bir hücre ya da protein yapısındaki komponente ihtiyaç duymadan TOK1 kanalını

aktifleştirmiştir. Duyarlı hücrenin gösterdiği direnç, TOK1'i sentezleyen genin duyarlığını artırdığını bildirmiştirlerdir (Sesti F vd., 2001; Altuntaş ve Özçelik, 2007).

Killer mayaların ürettiği toksin sitoplazmada preprotoksine çevrildikten sonra protoksin olarak protoksin döngüsüne katılmaktadır. Protoksin olgunlaşmış bir salgıdır. Protoksin oluştuktan sonra hücreye etki edeceği asıl formlara dönüşümü gerçekleşmektedir. İşlenen protoksin hücrenin farklı bölgelerine dağılacak olan  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  alt birim toksinlerine dönüşmektedir. Bu dönüşüm mekanizması killer aktivite gösteren maya hücresinde gerçekleşmektedir. Bir veya daha fazla disülfit bağlarıyla bağlı  $\alpha$  ve  $\beta$  alt ünitelerinden oluşan heterodimer yapıdaki bu biyolojik aktif protein, kültür ortamına salgılanmaktadır. Salgılanan  $\beta$ -alt birimi duyarlı hücrenin duvarındaki reseptör yoluyla hücre duvarına bağlanırken  $\alpha$ -alt birimi çekirdeğin içerisine girerek DNA sentezini durdurmaktadır ve geri dönüşümsüz olarak hücrenin ölümünü gerçekleştirmektedir (Schmitt ve Breining, 2006; Palauszynski vd., 2007; Magliani vd., 2008; Maqueda vd., 2011).

Killer mayaların üretmiş oldukları toksinler duyarlı hücrelerde bulunan reseptörler aracılığıyla yapıya tutunarak hücreyi öldürmektedir. Duyarlı maya, hücre duvarlarında farklı killer maya izolatlarına ait farklı reseptörler bulundurmaktadır. Çeşitli çalışmalarında killer toksinlerin hedefi olan duyarlı hücrelerdeki reseptörler bildirilmiştir.  $\beta$ -1,3-D-Glukan,  $\beta$ -1,6-D-Glukan,  $\beta$ -1,3-galaktomannan, kitin, mannoproteinler gibi bileşenlerin toksinlere özgü reseptör olarak görev yaptıkları bilinmektedir (Maqueda vd., 2011).

Sertkaya (2005)'nın yapmış olduğu araştırmada *S.cerevisiae* mayasının sentezlediği K1 ve K2 killer toksinin etki ettiği duyarlı hücre duvarındaki  $\beta$ -1,6-D-Glukan reseptörü aracılığıyla hücre duvarına bağlandığı Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5. *S. cerevisiae*'nin killer toksin üretim sistemi (Herring ve Bevan, 1974)

Düger bir çalışmada *K. lactis* ve *P. membranafaciens* mayalarının kitini reseptör olarak kullandıkları rapor edilmiştir. Farklı bir araştırmada HM-1 *W. mrakii* killer mayasının duyarlı hücre duvarı yapısındaki  $\beta$ -1,6-D-Glukan, *Debaryomyces hansenii* ve *H. uvarum* killer mayalarının reseptör olarak  $\beta$ -1,6-D-Glukan'ı kullanarak hücreye bağlandıkları gözlemlenmiştir. Yapılan başka bir çarpıcı araştırmada *S. cerevisiae*'nın üretmiş olduğu KT28 toksininin ve *Z. bailii*'nın üretmiş oldukları killer toksinin, duyarlı hücre duvarındaki mannoproteinin reseptör olarak görev yaptığı bildirilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise *P. anamola* mayasının üretmiş olduğu K5 killer toksininin de duyarlı maya izolatlarındaki  $\beta$ -1,3-D-Glukan reseptörünü kullanarak hücre duvarına bağlanıp killer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 2.3) (Manfred ve Breinig, 2002; Altuntaş ve Özçelik, 2007; Maqueda vd., 2011).

Buzdar vd. (2011) *Pichia* ve *Williopsis* cinsi mayaların üretmiş oldukları killer toksinlerin duyarlı maya izolatlarının yapısında bulunan  $\beta$ -1,3-D-Glukan yapısına bağlanıp duyarlı hücreye etki ettiği belirtilmiştir.

Çizelge 2.3. Killer toksinler ve duyarlı hücredeki reseptörleri (Bussey, 1972; Doğer, 2004; Altıntaş ve Özçelik 2007)

Killer Toksin	Reseptör
<i>Pichia anomala</i> K5	$\beta$ -1,3-D-Glukan
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KT28	Hücre duvarı mannoproteini
<i>Pichia membrannifaciens</i>	$\beta$ -1,6-D-Glukan
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Hücre duvarı mannoproteini
<i>Debaryomyces hansenii</i>	$\beta$ -1,6-D-Glukan
<i>Kluyveromyces phaffii</i>	$\beta$ -1,6-D-Glukan - $\beta$ -1,3-D-Glukan
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Kitin
<i>Pichia acaciae</i>	Kitin
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> K1	$\beta$ -1,6-D-Glukan
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> K2	$\beta$ -1,6-D-Glukan
<i>Williopsis mrakii</i> HM-1	Hücre duvarı $\beta$ -1,6-D-Glukan
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	$\beta$ -1,6-D-Glukan

Genel olarak killer aktivite mekanizması şu şekilde ilerlemektedir: Hücre duvarında killer toksini sentezleyen güçlü bir  $\beta$ -1,3-glukanaz aktivitesi (Magliani vd., 2008; Polonelli vd., 2011), hücre duvarında glukan sentezi ile etkileşim (Paluszynki vd., 2007; Buzdar vd., 2011), membran geçiş kanallarının oluşumu (Schmitt vd., 2006), iyon değişimi (Altuntaş ve Özçelik, 2007), DNA hasarının induksiyonu ve apoptozu (kademeli hücre ölümü) (Magliani vd., 2008), hücre bölünmesinin durması ve hücre ölümü şeklinde gerçekleşmektedir (Baeza vd., 2008; Buzdar vd., 2011).

Bu konuda yapılan bir çalışmada Buzdar vd. (2011) killer maya toksinlerinin patojenik maya izolatlarına karşı aktivite gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Ancak bazı patojenik mayaların hücre duvarının olmadığı, protoplast şeklinde olan yapıya killer toksinin etki edemediğini bildirmiştirlerdir. Araştırmada killer toksin üreten maya olan *Kluyveromyces siamensis* HN12-1'in hücre duvarı olmayan protoplast şeklindeki duyarlı hücreye reseptör bulunmadığından dolayı etki edemediğini rapor etmişlerdir. Başka bir patojenik maya ile yapılan denemede ise patojenik mayanın hücre duvarı yapısında bulunan kitin maddesini *K. siamensis* HN12-1 mayasının ürettiği killer toksinin reseptörü olarak kullandığını tespit etmişlerdir. *K. siamensis* HN12-1 killer mayasının toksinin hidrofobik  $\beta$ -alt biriminin duyarlı patojenik

mayanın hücre duvarına kitin reseptörü aracılığıyla bağlandığını,  $\gamma$ -alt biriminin ise hücre içeresine girerek sitoplazma membranına etki edip hücrenin inhibe olduğunu rapor etmişlerdir.

Killer mayaların bu mekanizma ile duyarlı maya izolatlarına etki ettiği ve ürettiği toksinlerle birlikte öldürücü özellikte olduğu görülmüştür. Killer mayaların, kendi toksinlerine karşı bağışıklık gösterdiğine dair araştırmalar da literatürde bulunmaktadır. Ancak kendi ürettikleri toksinlerden hangi mekanizma ile nasıl etkilenmediklerine dair net bir bilgi bilinmemektedir. Bu konuda kesin bir bilgi olmamasına rağmen çalışmalar ve tartışmalar halen devam etmektedir (Schmitt ve Breining, 2006; Parveen ve Begum J, 2010).

### **2.3. Killer Aktiviteye Etki Eden Parametreler**

Yapılan çalışmalarda mayaların toksin üretme yeteneklerinin suşun türüne, genetik yapısına, fermantasyon süresinde oluşan kültürel ve çevresel koşullara, sıcaklık, pH, metal iyonları ve tuza bağlı olduğu gözlemlenmiştir. Killer aktivitedeki azalmaya inkübasyonun uzaması, hücre parçalanması nedeniyle ortam içinde belirli proteazların aktivasyonu veya kontamine olan maya izolatları tarafından salgılanan bileşenler ile killer toksinlerin etkileşiminin neden olabileceği belirlenmiştir (Bajaj vd., 2013).

#### **2.3.1. Sıcaklık ve pH**

Killer toksinlerin aktiviteleri için optimum pH ve optimum sıcaklık maya türleri arasında değişkenlik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda farklı sıcaklık ve pH derecelerinde mayaların killer aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

Bajaj vd. (2013) bu konuda gerçekleştirdikleri çalışmada farklı killer özellikli maya izolatlarının aktif oldukları sıcaklık derecelerini belirlemiştir. *Pichia anamola* ve *P. membranafaciens* CYC 1086 killer toksinlerinin 20 °C ve 15 °C'de optimum killer aktivite gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Yine *P. anamola* ve *Saccharomyces cerevisiae* mayalarının killer toksinlerinin 22 °C ve 30 °C'de killer aktivite gösterdiklerini ancak 37 °C'de gelişim gösteremediklerini bildirmiştir. Ayrıca *S.*

*cerevisiae* HAU-1 killer toksininin 20-35 °C'de maksimum killer aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde *S. cerevisiae* killer toksinlerinin de genel anlamda 25 °C'de maksimum aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

pH ile ilgili yapılan çalışmalarla ise çarpıcı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Ramon-Portugal vd. (1998)'nin gerçekleştirdikleri çalışmada K2 killer toksininin pH'nın 2.8-4.8 olduğu aralıklarda maksimum killer aktivite gösterdiğini gözlemlemiştir. Yine başka bir çalışmada şarap endüstrisinde K1 killer toksininin yerine K2 killer toksininin daha elverişli olacağı tartışılmıştır. Araştırmada *S. cerevisiae* mayasının üretmiş olduğu K1 killer toksininin pH'sının 4.6-4.8 aralığında olduğu yine *S. cerevisiae*'nın üretmiş olduğu K2 killer toksininin ise pH'nın 2.9-4.9 arasında aktivite gösterdiği görülmüştür. Bu aralığın şarap endüstrisi için K2 killer toksininin daha tehlikeli olduğunu ve fermantasyonu durdurucu olarak rol oynadığını bildirmiştir (Marquina vd., 2002). Son yıllarda yapılan çalışmalarla killer maya toksinlerinin optimum pH'sının 4.5, optimum sıcaklığının ise 20-35 °C arasında olduğu rapor edilmiştir (Wang vd., 2007 a-b).

### **2.3.2. Metal iyon etkisi**

Killer maya toksinleri için bazı metal iyonlarının aktivitatör, bazı metal iyonlarının ise inhibitör etki gösterdikleri bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarla killer maya toksinlerini  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ , ve  $\text{Co}^{+2}$  metallerinin aktive ettiği bildirilmiştir. Bunun aksine  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ ,  $\text{Co}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$  ve  $\text{Ag}^+$  metal iyonlarının ise killer mayaların toksinlerinin çalışmasını yavaşlatan maddeler oldukları görülmüştür. Bu metallerin yanı sıra fenil metan sülfonil florür (PMSF), iodoasetik asit, etilediamin tetra asetik asit (EDTA) ve 1,10-fenantronin gibi kimyasalların da killer aktiviteyi olumsuz yönde etkiledikleri rapor edilmiştir (Wang vd., 2007 a-b).

Bu konu ile alakalı yapılan başka bir çalışmada *P. anamola* NCYC 434 killer maya toksininin  $\text{Hg}^{+2}$  bulunan ortamda killer aktivitesinin azaldığı bir süre sonra mayanın da inhibe olduğu ancak  $\text{Pb}^{+2}$  bulunan ortamda toksinin etkisinin arttığı bildirilmiştir. Yine yapılan başka bir çalışmada *W. saturnus*'un üretmiş olduğu killer toksine  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Ni}^+$  ve  $\text{Ba}^{+2}$  metallerinin hem inhibitör hem de aktivatör olarak etki ettiği bildirilmiştir (Bajaj vd., 2012).

### **2.3.3. Tuz parametresi**

Aguigar ve Lucas (2008)'ın yapmış oldukları çalışmada özellikle tuz konsantrasyonu yüksek olan ortamlarda killer aktivitenin arttığını gözlemlemiştir. Çalışmada halotoleransı yüksek killer mayalar ve düşük olan duyarlı suşlar ayrılmış ve bu türler arasındaki etkileşim değerlendirilmiştir. Çalışmada 58 farklı maya suşu üzerinde tuz stresine karşı dayanıklı türler 1 M, 2 M, 3 M ve 4 M NaCl ortamında bekletilmiştir. Buradaki amacın suşların tuz stresine karşı gösterdikleri tepkiyi belirlemek olduğu belirtilmiştir. Çalışmada tuz stresine karşı en toleranslı olan ve killer aktivite gösteren mayanın *Candida nodaensis* olduğu gözlemlenmiştir.

Llorente vd. (1997) ve Suzuki (1999) yapmış oldukları çalışmada yüksek halotoleransa sahip maya suşlarında tuz-gıda izolatlarının killer aktiviteyi artırdığı ve bu nedenle yüksek tuz konsantrasyonlu ortamlarda killer aktivitenin daha yüksek olduğunu gözlemlemiştir. Tuz bulunan ortamlarda killer maya aktivitesinin arttığı vurgulanmıştır. Özellikle yüksek tuzun plazma membranlarındaki iyon geçiş kanallarına etki ettiği ve killer maya toksininin hücreyi daha rahat inhibe ettiği görülmüştür. *Pichia farinosa* mayasının üretmiş olduğu killer toksinin tuz aracılığı ile duyarlı hücredeki translatasyon mekanizmasını da bozduğu rapor edilmiştir.

Plazma membranlarına tuzun etkisi ile ilgili Aguigar ve Lucas (2008) hücre içerisindeki 2 M ve daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında iyon geçiş kanallarındaki K<sup>+</sup> iyonunun azalacağını bu nedenle de killer aktivitenin plazma membranlarını daha kolay inhibe edebileceğini bildirilmiştir.

Bu konuda yapılan başka bir çalışmada ise *Zygosaccharomyces bailii*, *Z. rouxii* ve *P. membranafaciens* mayaları gıdalarda bozulmaya neden olan mayalardır. Bu organizmalar üzerinde yüksek tuz konsantrasyonu bulunan ortamda duyarlı hücrelere karşı killer aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Halotoleransı yüksek olan bu organizmaların ozmotolerans derecelerinin ise her zaman yüksek olmayacağı bildirilmiştir. Çalışmada *S. cerevisiae*, *P. etchellsii*, *D. hansenii*, *P. anamola* ve *P. farinosa* mayalarının killer aktivite göstermelerinin yanısıra yüksek halotolerans ve ozmotoleransa sahip oldukları gözlemlenmiştir (Silva vd., 2003).

#### **2.3.4. Fermantasyon**

Mayalar fermantasyon endüstrisinde yüzyıllardır kullanılmaktadır. Ekmek, şarap, bira, çeşitli fermenten süt ürünlerinde mayalardan starter suş olarak yararlanılmaktadır. Mayaların toksin üretme yetenekleri fermantasyonu yavaşlatan, durdurucu, starter suşları öldüren proses olarak fermantasyonda sorun oluşturmaya başlamıştır. Yapılan araştırmalardan sonra killer mayaların kontaminasyona neden olan yabani maya izolatlarına karşı fermantasyonu devam ettiren organizmalar olabileceği bildirilmiştir. Özellikle şarap fermantasyonunda ilk başlarda sorun oluşturan killer mayaların günümüzde starter suş olarak kullanılabileceğine yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Maqueda vd., 2011).

Bu konuda Dabhole ve Joishy (2005) tarafından yapılan çalışmada, toksin üreten *Saccharomyces cerevisiae* gibi killer suşların, fermantasyonu başlatmak ve şarap kalitesini artırmak için kullanıldığını öngörmüşlerdir. Ancak *S. cerevisiae*'nın öldürücü toksinlerinin yüksek toksisitesine duyarlı olan *Saccharomyces* suşlarının da sınırlı olduğunu, bu mayanın farklı cins ve türdeki mayalara etki edeceğini ve fermantasyonda starter suş olarak kullanılabilceğini gözlemlemiştir. Ayrıca da *Hanseniaspora*, *Kloeckera*, *Pichia* ve *Saccharomycodes* mayalarına ait yabani mayalara karşı killer aktivite göstermediği çalışmada rapor edilmiştir.

#### **2.4. Killer Aktivitenin Antimikrobiyal Etkisi**

Killer toksinler dışında antimikrobiyal etki gösteren antibiyotiklerin, bakteriyofajların ve bakteriyosinlerin antimikrobiyal etkilerinin uzun zamandır bilinmesine rağmen elde edilen metabolitlerin antimikrobiyal etkileri yeni yeni araştırılmaya başlanmış ve sonuçlar aktarılmaya çalışılmıştır. Farklı organizmaların üretmiş oldukları antimikrobiyal maddelerin yanısıra maya izolatlarının üretmiş oldukları killer toksinlerin de antimikrobiyal etki gösterdikleri yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Hatoum vd., 2012).

Killer mayaların üretmiş oldukları toksinler bakteri, maya ve mantarlara karşı geniş çaplı etki spektrumları nedeniyle antimikrobiyal ajan olarak etki gösterdikleri belirlenmiştir. Killer toksinlerin antimikrobiyal ajan olarak kullanımının yeni olması

nedeniyle bu konudaki çalışmalar da artmaya başlamıştır. Literatürde killer mayaların birçok alanda antibakteriyel, antifungal ve antimikotik aktivite gösterdiğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Bajaj vd. (2012)'nin çalışmasında *Pichia* cinsi mayanın birkaç türünün farklı maya ve mantar türlerine karşı antifungal ve antimikotik ajan olarak kullanıldığı görülmüştür. Çalışmada *P. kudriavzevii* RY55 öldürücü maya toksininin insanda patojenik etki gösteren *Escherichia coli*, *E. faecalis*, *S. aureus* gibi patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal ajan olarak etki etiği rapor edilmiştir.

Meneghin vd. (2010) killer maya aktivitesi gösteren *C. glabrata*, *P. anamola* ve *Candida* sp. organizmalarının içki fermantasyonunda yabani olarak kontamine olan *Bacillus subtilis* ve *Lactobacillus plantarum*'a karşı antibakteriyel ajan olarak etki etiklerini bildirmiştir.

Waema vd., (2009) ferment sebzelerden izole ettikleri *C. krusei* killer mayasının patojen olarak nitelendirilen *E. coli*, *Salmonella typhimurium* ve *Staphylococcus*'un birkaç türüne karşı öldürücü aktivitelerinin olduğu gözlemlemişlerdir.

Bu konuda yapılan bir başka çalışmada *Hansenula anomala*, *H. mrakii*, *Kluyveromyces drosophilarum*, *K. lactis* ve *C. tropicalis* mayalarının üretmiş oldukları antimikrobiyal peptid bileşiklerinin Gram (+) ve patojen olmayan bakterilere karşı öldürücü etki gösterdikleri rapor edilmiştir. Bu mikroorganizmalar üzerinde yapılan paralel çalışmalarda üretilen toksinler *H. mrakii* mayasının üretmiş olduğu K9 toksini ile karşılaşılmış ve büyümeye inhibitörü olarak endüstride kullanılabileceği bildirilmiştir (Polonelli ve Morace, 1987; Izgu ve Altınbay., 1996; Guyard vd., 2002).

Golubev (2015) tarafından yapılan çalışmada *Wickerhamomyces silvicola* VKM Y-178 suşunun salgıladığı mikosinin fungisidal etki gösterdiği rapor edilmiştir. Ozmotik basınçta ve pH 4.5'da en yüksek killer aktivite gösterdiği, 45 cinse ait 140'ın üzerinde askomikotik maya türlerinde duyarlı olduğu ve basidiomikotik türlerinin toksine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Taksonomik olarak homojenik türlerin genel olarak mikosine tepki verdiği gözlemlenmiştir.

Farklı endüstrilerde antimikrobiyal ajan olarak yararlanılan killer mayalardan klinik alanda da yararlanılmaktadır. Killer toksinlerin özellikle klinik açıdan patojenite gösteren *C. albicans*'a karşı antimikotik aktivite gösterdiği görülmüştür. Killer mayaların ürettiği toksinler gıda antimikrobiyalleri olarak sınıflandırılsa da klinik çalışmalarda ve eczacılık uygulamalarında yaygın bir biçimde antimikrobiyal ajan olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bu biyolojik mücadelenin ilerleyen aşamalarda yapılacak çalışmalarla istenilen seviyeye geleceği düşünülmektedir (Brussow ve Desiere, 2001; Henriques-Normark, 2007; Ingeniis vd., 2009).



### **3. MATERİYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyaller**

##### **3.1.1. Killer özelliği araştırılacak mayalar**

Killer maya özelliği araştırılmak üzere 26 maya suşu Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilmiştir. 26 mayanın saflik kontrolleri yapıldıktan sonra bozucu mayalar üzerinde killer aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Çeşitli gıda örneklerinden izole edilen 26 maya suşunun killer aktivite özelliği kantitatif analizler sonucunda belirlenmiştir. Bu mayaların izole edildikleri ürün grupları Çizelge 3.1'de ifade edilmiştir.

Çizelge 3.1. Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 maya ve gıda kaynağı

Sıra	Menşei
LM-1	Ekmek
LM-2	Kefir
LM-3	Ağız sütü
LM-4	Ağız sütü
LM-5	Ağız sütü
LM-6	Ağız sütü
LM-7	Yoğurt
LM-8	Yoğurt
LM-9	Peynir
LM-10	Peynir
LM-11	Sırke anası
LM-12	Turşu
LM-13	Kefir
LM-14	Kefir
LM-15	Tarhana
LM-16	Tarhana
LM-17	Turşu
LM-18	Şalgam
LM-19	Goruk ekşisi
LM-20	Goruk ekşisi
LM-21	Goruk ekşisi
LM-22	Kefir
LM-23	Zeytin
LM-24	Zeytin
LM-25	Boza
LM-26	Boza

LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları

### 3.1.2. Fermente ürünler

Çalışma kapsamında fermente ürünlerden yoğurt, peynir, kaymak, tereyağı, sosis sucuk, zeytin, sirke ve turşu örnekleri Isparta pazarından tesadüfi olarak temin

edilerek +4 °C'de saklanmış ve ürünler bozulmaya başladığında bozucu nitelikteki mayalar izole edilmiştir.

### **3.1.3. Kültür besiyerleri**

Potato Dekstroz Agar (PDA), Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC), Yeast Pepton Dekstroz Agar (YEPD) ve Malt Ekstrakt Agar (MEA, %3 Malt ekstrakt, %0.3 pepton, %1.5 agar-agar) fermenterden bozulmaya yol açan mayaların izolasyonu için kullanılmıştır. 26 mayanın bozucu mayalar üzerine öldürücü aktivitesini incelemek için besiyeri bileşeni Ullivari vd (2014)'nin çalışmasına göre yapılmıştır. Çalışmada 0.1 M sitrat-fosfat tampon (%2.1014 sitrik asit monohidrat, %1.7418 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) içerisinde YEPD-MB-Agar (agar %2, pepton %2, yeast ekstrakt %1, dekstroz %2, metilen mavisi %0.003)'lı besiyeri pH 4'te hazırlanarak killer özelliği araştırılan mayaların bozucu mayalar üzerinde killer aktivitesi araştırılmıştır. Belirlenen besiyeri bileşimleri ile killer aktiviteler tespit edilmiş ve tez çalışmasında killer aktivitenin belirlenmesi amacıyla uygun besi ortamı olduğu düşünülerek kullanılmıştır.

### **3.1.4. İzolasyon ve saflaşturmada kullanılan çözeltiler**

Fermente ürünlerden izole edilen mayaların izolasyonunda dilüsyon için FTS (Fizyolojik tuzlu su-Sodyum klorid), dilüsyon sonucunda mikroorganizmaların tespiti için ise PDA ve DRBC besiyerleri kullanılmıştır. Bozucu mayaların izolasyonundan sonra saflaştırma aşaması gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada mikroorganizmaların saflik kontrolleri yine PDA ve DRBC ile yapılmıştır. Saflaştırma aşaması sonrasında izolatların zenginleştirme işlemi %1'lik YEPD-Broth ve Malt Ekstrakt Broth besi ortamında gerçekleştirilmiştir. 30 °C'de 24-48 saat inkübasyon sonucunda sıvı besiyerinde gelişen mikroorganizmaların ilerleyen aşamalarda ve çalışmalarda değerlendirilebilmesi amacıyla gliserol içeren tüplere stoğa alınmış ve -18 °C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

### **3.1.5. Mayaların boyanmasında kullanılan kimyasallar**

Fermente ürünlerden izole edilen bozucu mayalar ve Gıda Mühendisliği Bölümünden alınan mayaların saflik kontrolleri sırasında mikroskop kullanılmıştır. Mikroskop

altında inceleme yapılırken mayaları daha net ayırmak amacıyla boyalarak %3'lük metilen mavisi kullanılmıştır. Görüntülerde mikroorganizmaların boyayı kendi bünyesine alarak büyülüklük, şekil ve boyutlarına göre sınıflandırılması işlemi gerçekleştirilmiştir.

### **3.1.6. Araştırmada kullanılan araç ve gereçler**

Gerçekleştirilen tez çalışmasında Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği laboratuvarı kullanılmıştır. Çalışma sırasında kullanılan cihazlar Çizelge 3.2'de verilmiştir.



Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan cihazların marka ve modelleri

Cihaz Adı	Marka	Kullanım Amacı
Otoklav	ALP	Sterilizasyon
İnkübator (30 °C)	TETRA	Mikroorganizmaların büyümeleri ve killer testi
İşik Mikroskopu	Axiostar	Hücreleri tanımlama ve görüntüleme
Vortex V-1 Plus	Biosan	Homojenizasyon
Mc-Farland Dansidometre	Biosan	Mikroorganizmaların yoğunluğunun ölçümü
Hassas terazi	METTLER TOLEDO AB204 Sartorius	Tartım
pHmetre	Inolab	pH ayarlanması
Fotoğraf makinesi	CANON IXUS 105	Resim çekme
Kuru hava sterilizatörü	WiseWen	Cam malzemelerinin steril hale getirilmesi
Su banyosu	WiseBath	Sabit sıcaklık
Mikropipet	BRAND-Medispec plus-ISOLAB	Mikroorganizmaların aşılanması
Distile su cihazı	GFL	Su temini
Metalik karıştırıcı	RCT basic IKA LABORTECHNIK	Hazırlanan besiyerinin homojen olarak dağılmasının sağlanması
İnkübörlü orbital çalkalayıcı	SI-300R/Lab Companion	Homojenizasyon
Spektrofotometre	BOECO Germany	Yoğunluk tayini

### **3.2. Yöntemler**

#### **3.2.1. Mayaların saflik kontrolü**

Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 adet maya ile bozulmuş bazı fermente ürünlerden izole edilen bozucu mayaların saflik kontrolleri PDA'da tek koloni düşürme tekniği ile hem morfolojik hem de mikroskopik çalışma sonucunda belirlenmiştir.

#### **3.2.2. Bozulmuş fermente ürünlerden izole edilen mayaların toplam hücre sayımı**

Tez çalışmasında bozulmuş fermente gıdalardan yoğurt, kaymak, peynir, tereyağı, sucuk, sosis, zeytin, turşu ve sirke örneklerinden bozucu mayalar izole edilmiştir. Örneklerden steril olarak 10 gram tartılmış ve daha önceden steril edilen 90 ml'lik FTS içerisinde aktarılarak etkin bir karıştırma ile mikroorganizmaların çözelti içerisinde homojen olarak geçmesi sağlanmıştır. Erlen içersinde bulunan çözeltiden  $10^4$  basamağına kadar dilüsyon gerçekleştirılmıştır. Bu tüplerden 100  $\mu\text{l}$  alınıp PDA içeren petrilere aktarılmış ve drigalski spatülü ile yayma kültürel ekim yapılmıştır. Petriler 30 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında bozulmuş ürünlerden izole edilen bozucu mayaların sayımı yapılmış ve sonuçlar rapor edilmiştir.

#### **3.2.3. Bozucu mayaların izolasyonu ve tanımlanması**

Isparta pazarından tesadüfi olarak temin edilen fermente yoğurt, kaymak, tereyağı, peynir, sosis, sucuk, zeytin, sirke ve turşu örnekleri çalışma kapsamında alınmıştır. Bu ürünler bozulduktan sonra bozucu mayaların izolasyonu için 1:10 oranında steril bir şekilde hassas terazide örnek tartılıp steril FTS içerisinde aktarılmış ve bozucu mayaların homojen bir şekilde sıvı içerisinde geçmesi sağlanmıştır. Etkin karışım sağlandıktan sonra PDA ve DRBC besiyerlerine FTS içerisindeki örnekler, tüplerdeki 4.5 ml'lik steril FTS çözeltisine 500  $\mu\text{l}$  inoküle edilerek vortex ile karıştırılmış ve  $10^4$ 'e kadar dilüsyon gerçekleştirılmıştır. Buradan 100  $\mu\text{l}$  alınarak petri içeresine inoküle edilmiştir. Inoküle edilen sıvı kültür yayma kültürel ekim yöntemi ile ekilmiştir. Petriler 30 °C'de 2-3 gün süreli inkübasyona bırakılmıştır.

Süre sonunda gelişme gösteren mikroorganizmaların morfolojik ve mikrobiyolojik özelliklerine göre ayırt etme işlemi gerçekleştirilmiştir.

Rengine, şekline, boyutuna, koloni tipine ve mikroskop görüntülerine bağlı kalınarak mikroorganizmaların saflik kontrolleri yapılmıştır. Seçilen koloniler saflaştırma amacıyla PDA'ya 4'lü sürme yöntemi ile sürülmüştür. Tek düşen koloniler yine rengine, şekline, boyutuna, koloni tipine ve mikroskop görüntülerine göre değerlendirilmiştir. Farklı olduğu düşünülen koloniler tekrar 4'lü sürme yöntemi kullanılarak saf koloni elde edilene kadar devam edilmiştir. Saf olduğuna karar verilen koloniler tüplere hazırlanıp steril edilmiş 3 ml'lik YEPD-Broth besiyeri içerisine %1 oranında zenginleştirme yapılarak 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda steril bir şekilde içerisinde 0.5 ml gliserol bulunan stok tüplerine aktarılıp gerekiğinde kullanılmak üzere derin dondurucuda stoğa alınmıştır.

### **3.2.4. Mayaların aktifleştirilmesi**

Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 adet mayanın saflik kontrolleri gerçekleştirilmiştir. Rengine, boyutuna, şekline ve mikroskopik görüntülerine göre incelendikten sonra killer özelliği araştırılan mayalar YEPD-Broth'a %1 oranında inoküle edilmiştir. Bu işlemin ardından tüpler 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda tüplerde bulunan maya kültürleri killer aktivite analizi için hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Sıvı besiyerinde aktif kültürler

### **3.2.5. Sitrat-fosfat tamponun pH ayarının yapılması**

Besiyeri içerisinde mikroorganizmaların farklı bileşenler üretmesini engellemek amacıyla pH 4'te tampon hazırlanmıştır. Bunun için sitrik asit monohidrat ( $C_6H_8O_7$ ) ve di potasyum fosfat ( $K_2HPO_4$ ) çözeltileri 0.1 M hazırlanarak pH 4'e ayarlanmıştır. Hazırlanan sitrik asit monohidrat sulu çözeltisinin üzerine pH 4'e gelinceye kadar  $K_2HPO_4$  eklenmiş ve bu şekilde pH 4'te stabil hale getirilmiştir.

### **3.2.6. Bozucu mayaların optik yoğunluğunun ayarlanması**

Bozulmuş fermenter ürünlerden izole edilen bozucu mayaların yoğunluğu steril ortamda Mc-Farland dansidometresi ile 0.4 ( $\sim 10^5\text{-}10^6$  kob/ml) değerine ayarlanmıştır. Ayrıca spektrofotometrede bazı bozucu mayaların ve killer özelliği araştırılan mayaların Mc-farland eşdeğer bulanıklık değerlerinin yorumlanması açısından 578 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür.

### **3.2.7. YEPD-MB besiyerinin hazırlanması**

YEPD-MB besiyeri, içerisinde metilen mavisi olan bir besiyeridir. YEPD besiyerinin içerisinde metilen mavisi eklenmesinin sebebi katı besiyerinde zon oluşumunu rahat bir şekilde tespit etmek amacıyladır. Gerçekleştirilen tez çalışmasında pH değişimini sabit tutmak dolayısıyla da mayaların farklı metabolitler üretebileceği düşünülerek

besiyeri pH'sı 4'e ayarlanmış ve 0.1 M sitrat tampon içerisinde çözündürülmüştür. 0.1 M hazırlanan sitrat-fosfat tampon içerisinde ön denemelerde %0.03 oranında metilen mavisi eklenmiş, hazırlanan besiyerinin hem renk yoğunluğunun fazla olması hem de besiyerinin katılaşmamasına neden olduğu düşünülerek boyalar oranı %0.003'e düşürülmüştür. Hazırlanan sitrat-fosfat tampon içerisinde öncelikle metilen mavisi çözündürülmüş, sonrasında diğer besiyeri bileşenleri eklenmiştir. Ön denemelerde yayma kültürel ekim yöntemi ile bozucu mayalar petrilere aktarılıp besiyeri üzerine öze yardımıyla killer özellikleri araştırılan mayaların inokülasyonu gerçekleştirilmiştir. Fakat yayma kültürel ekim yönteminde bozucu mayaların petriye homojen yayılmadığı ve sonuçların istenilen düzeyde olmamasından dolayı yöntem değişikliği yapılmıştır. Bozucu mayaların petrilere yayma kültürel ekim yöntemi ile geliştirme yerine katı besiyerinde agar difuzyon yöntemi kullanılarak çalışma sürdürülmüştür. Bu yöntemle yine pH 4'e ayarlanmış sitrat-fosfat tampon içerisinde %0.003 oranında metilen mavisi çözüldürüp diğer besiyeri bileşenleri eklendikten sonra tüplere 10'ar ml eklenderek 121 °C'de 15 dk sterilizasyona bırakılmıştır. Sterilizasyon sonunda tüpler soğutulup içerisinde önceden YEPD-Broth'ta zenginleştirilmiş, yoğunluğu FTS'de 0.4 Mc-Farland eşdeğer bulanıklığı ayarlanan 1 ml bozucu maya kültürü inoküle edilip cam petrilere aktarılmıştır. Cam petri kullanılması alan genişliği sağlamak ve zon oluşumlarını rahat görme amacını taşımaktadır. Petrilere aktarılan bozucu maya içeren besiyeri +4 °C'de 1 saat donmaya bırakılmıştır. Süre sonunda petriler, daha önceden PDA'da katı halde geliştirilmiş killer özelliği araştırılacak olan 26 adet maya ile öze yardımıyla içerisinde bozucu maya bulunan YEPD-MB besiyeri üzerine belirlenen noktalara aktarılmıştır. İşlem sonrasında bozucu maya üzerine aktarılan killer özelliği araştırılan mayaları içeren petriler 30 °C'de 2-5 gün arası inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda petrilerde oluşan zonların çapı ölçümlü gerçekleştirilmiştir.

Çalışma kapsamında kullanılan et, süt ve diğer fermenter ürünlerin temini Isparta ilinden starter kültür kullanılmayan yerlerden tesadüfi olarak alınmıştır. Örneklerden mikroorganizma izolasyonları yapılmış ve elde edilen maya izolatları saflaştırılmıştır. Örneklerin saflık kontrollerinin ardından Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden alınan 26 adet maya izolatı ile birlikte killer aktivite kontrolleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan YEPD-MB agar literatürde birçok çalışmanın besiyeri kombinasyonu içerisinde yer almıştır.

### **3.2.8. Killer özelliği araştırılan mayaların bozucu mayalar üzerine etkisi**

pH 4'te sitrat-fosfat tampon içerisinde çözündürülmüş YEPD-MB besiyeri bileşenleri tüplere 10 ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Tüplerdeki YEPD-MB besiyeri sterilizasyon işlemine bırakıldıktan sonra bozucu maya kültürleri 0.4 McFarland'a FTS solüsyonu içerisinde hazırlanmıştır. Sterilizasyon işlemi sonunda tüplerdeki besiyeri soğutulduktan sonra 0.4 McFarland bulanıklığa eşdeğer bulanıklığa ayarlanmış bozucu mayalar 1 ml inoküle edilmiş ve petrilere steril bir şekilde dökülmüştür. Petri içerisindeki besiyeri +4 °C'de 1 saat bekletilmiştir. Süre sonunda bozucu mayaların bulunduğu petrilerin üzerine daha önceden PDA'da geliştirilmiş killer özelliği araştırılacak olan 26 maya, öze yardımıyla alınarak petrilerin bölünmüş kısımlarına aktarılmıştır. Bu işlem sonrasında petriler 30 °C'de 2-5 gün arası inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda zon oluşumu gözlenen mayaların zon çapı ölçülmüş ve kaydedilmiştir.

### **3.2.9. Killer özellik gösterdiği bilinen maya suşunun bozucu mayalar üzerine etkisi**

Killer özellikli ticari bir şarap mayası olan *S. cerevisiae* maya kültürünün çeşitli bozulmuş fermenter gıdalardan izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktivitesi araştırılmıştır. Analiz sonucunda killer özelliği bilinen mayanın bozucu mayalara karşı killer aktivitesi sonucu zon çapları kaydedilmiştir.

## **4. ARAŞTIRMA BULGULARI**

Tez çalışmasında gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde edilen bulgular değerlendirilmiş ve literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Tesadüfi olarak alınan fermente gıda ürünleri bozulmaya bırakılmış ve bozulmuş örneklerden bozucu mayalar izole edilip saflaştırılmıştır. Aynı zamanda Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 maya suşunun da saflikleri kontrol edilmiş ve 58 adet bozucu mayaya karşı killer aktivite denemesi gerçekleştirilmiştir. Fermente gıdalardan izole edilen maya suşları arasında özellikle süt ürünlerinden izole edilen mayaların etki spektrumları ve zon aralıklarının literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca killer özellikli ticari bir şarap mayası olan *S. cerevisiae* killer mayasının, turşu, sirke ve zeytinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktivite denemesi gerçekleştirilmiştir.

### **4.1. Bozulmuş Fermente Ürünlerden Izole Edilen Mayaların Toplam Hücre Sayımı**

Isparta pazarından tesadüfi olarak temin edilen fermente ürünlerin uygun koşullar altında bozulmaları gerçekleşikten sonra belli dilüsyon basamaklarında ekimler gerçekleştirilmiştir. Ekim sonrası besiyeri üzerinde oluşan maya izolatlarının sayımı gerçekleştirilmiştir. Sayım sonucu ml düzeyinde yapılmış ve bozucu mayaların sayım sonuçları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. İzolasyon sonrası sayım sonuçları

Numune	Sayı (kob/ml*)
Sucuk	$1 \times 10^4$
Sosis	$2.1 \times 10^6$
Peynir (5)	$2 \times 10^4$
Peynir (9)	$1 \times 10^4$
Peynir (10)	$4.3 \times 10^6$
Peynir (12)	$5 \times 10^5$
Tereyağı-1	$7 \times 10^7$
Tereyağı-2	$1 \times 10^6$
Tereyağı-3	$2 \times 10^6$
Kaymak	$6 \times 10^6$
Yoğurt	$1.4 \times 10^5$
Sirke	$1 \times 10^4$
Turşu	$1 \times 10^5$
Zeytin	$4.3 \times 10^3$

\*kob/ml: 1 ml'ye düşen koloni sayısı

#### 4.2. Bozucu Mayaların Kodları ve Menşeiİ

Tez çalışmasında sucuk, sosis, peynir, kaymak, yoğurt, tereyağı, zeytin, turşu ve sirkede bozulmaya neden olan bozucu mayaların izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca gıda örnekleri belirlenirken salçada bozulmaya neden olan mayaların izolasyonu da hedeflenmiş ve ev tipi salça örneği oda sıcaklığında bozulması için beklemeye bırakılmıştır. Uzun süre beklemesine rağmen gözle görülür bir bozulma meydana gelmemiştir. Bu durumun ev tipi salçaların içeriğindeki tuz miktarının yüksek olmasından kaynaklanabileceğî şeklinde yorumlanmıştır. Böylelikle salça örneğinden bozucu maya izolasyonu gerçekleştirilmemiş ve salça örneği çalışmadan çıkarılmıştır. Bu mayalara karşı Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 maya izolatının killer özelliği araştırılmıştır. Tez çalışmasında bozucu mayaların kodları ve hangi ürünlerden izole edildikleri Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Bozucu mayaların kodları ve izole edildikleri ürünler

Kod	Menşeii
BM-1	Sucuk
BM-2	Tereyağı
BM-3	Tereyağı
BM-4	Kaymak
BM-5	Sosis
BM-6	Tereyağı
BM-7	Peynir
BM-8	Sucuk
BM-9	Yoğurt
BM-10	Peynir
BM-11	Tereyağı
BM-12	Yoğurt
BM-13	Yoğurt
BM-14	Peynir
BM-15	Sucuk
BM-16	Peynir
BM-17	Tereyağı
BM-18	Yoğurt
BM-19	Yoğurt
BM-20	Peynir
BM-21	Sucuk
BM-22	Peynir
BM-23	Peynir
BM-24	Peynir
BM-25	Peynir
BM-26	Tereyağı
BM-27	Peynir
BM-28	Peynir
BM-29	Kaymak
BM-30	Sosis
BM-31	Sosis
BM-32	Sosis
BM-33	Sosis
BM-34	Tereyağı
BM-35	Tereyağı
BM-36	Kaymak

BM: Bozucu maya kodları

Çizelge 4.2. Bozucu mayaların kodları ve izole edildikleri ürünler (devam)

Kod	Menşeii
BM-37	Sosis
BM-38	Peynir
BM-39	Kaymak
BM-40	Sucuk
BM-41	Zeytin
BM-42	Zeytin
BM-43	Zeytin
BM-44	Zeytin
BM-45	Zeytin
BM-46	Zeytin
BM-47	Zeytin
BM-48	Turşu
BM-49	Turşu
BM-50	Turşu
BM-51	Turşu
BM-52	Turşu
BM-53	Turşu
BM-54	Turşu
BM-55	Turşu
BM-56	Turşu
BM-57	Sirke
BM-58	Sirke

BM: Bozucu maya kodları

#### 4.3. Killer Özelliği Araştırılan 26 Mayanın Bozucu Mayalara Karşı Killer Etkisi

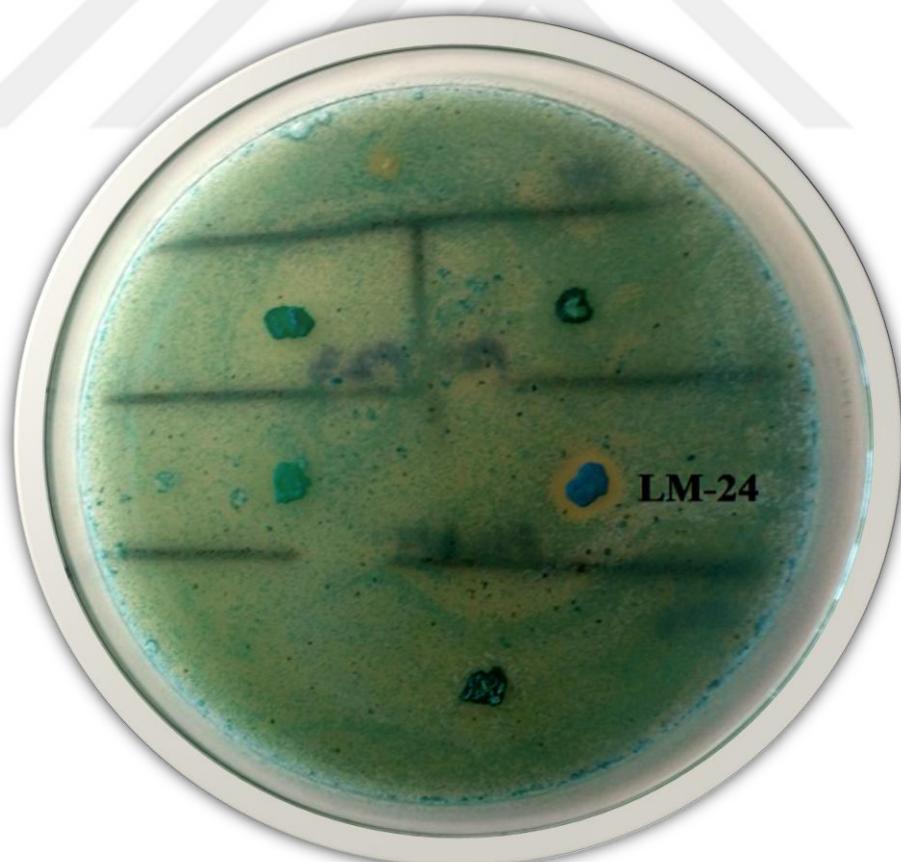
Çeşitli bozulmuş fermente gıdalardan izole edilen 58 adet maya suşuna karşı 26 mayanın killer aktivite denemesi katı besiyerinde agar difüzyon metodu ile belirlenmiştir. 30 °C sıcaklıkta ve pH 4'te oluşan killer aktivite sonucunda farklı büyülüklerde zon çapları tablo halinde verilmiştir. Killer özelliği araştırılan 26 adet maya suşunun bozucu mayalara karşı killer aktiviteleri ürün gruplarına göre rapor edilmiştir.

#### **4.3.1. Bozulmuş et ürünlerinden izole edilen bozucu maya sonuçları**

##### **4.3.1.1. Bozulmuş sucuk örneginden izole edilen bozucu maya sonuçları**

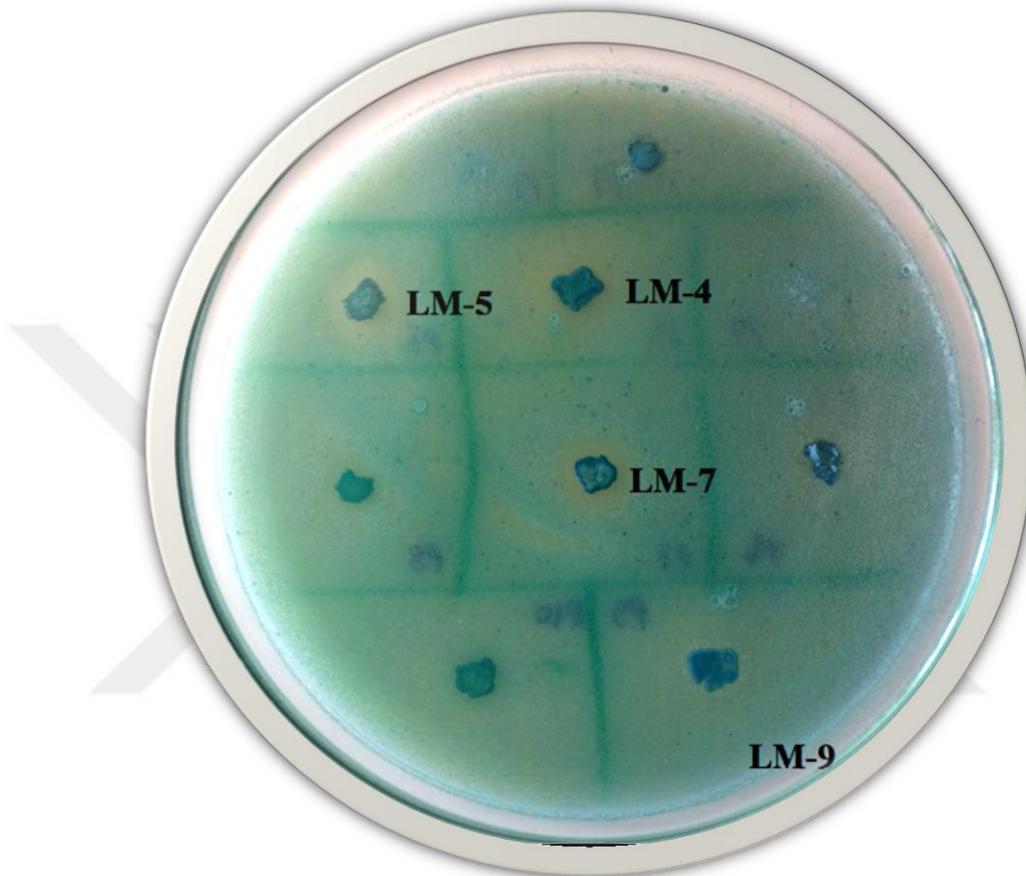
Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 maya suşunun Isparta pazarından alınan sucüğün bozulması sonucu izole edilen bozucu maya suşları üzerine killer aktivitesi incelenmiştir. Yapılan analiz sonucunda 26 mayanın etki ettiği bozucu mayalar Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Killer aktivite sonucu oluşan zon çapları Çizelge 4.3'te ifade edilmiştir.

Sucuktan izole edilen BM-1 bozucu mayası üzerine etki eden zeytinden izole edilen LM-24 mayasının zon yapısı Şekil 4.1'de gösterilmiştir. BM-1 kodlu bozucu maya izolatı dökme mayası olarak kullanıldığında pH 4 ve 30 °C inkübasyon sonucunda en yüksek aktiviteyi 24 numaralı maya üzerinde gösterdiği belirlenmiştir.



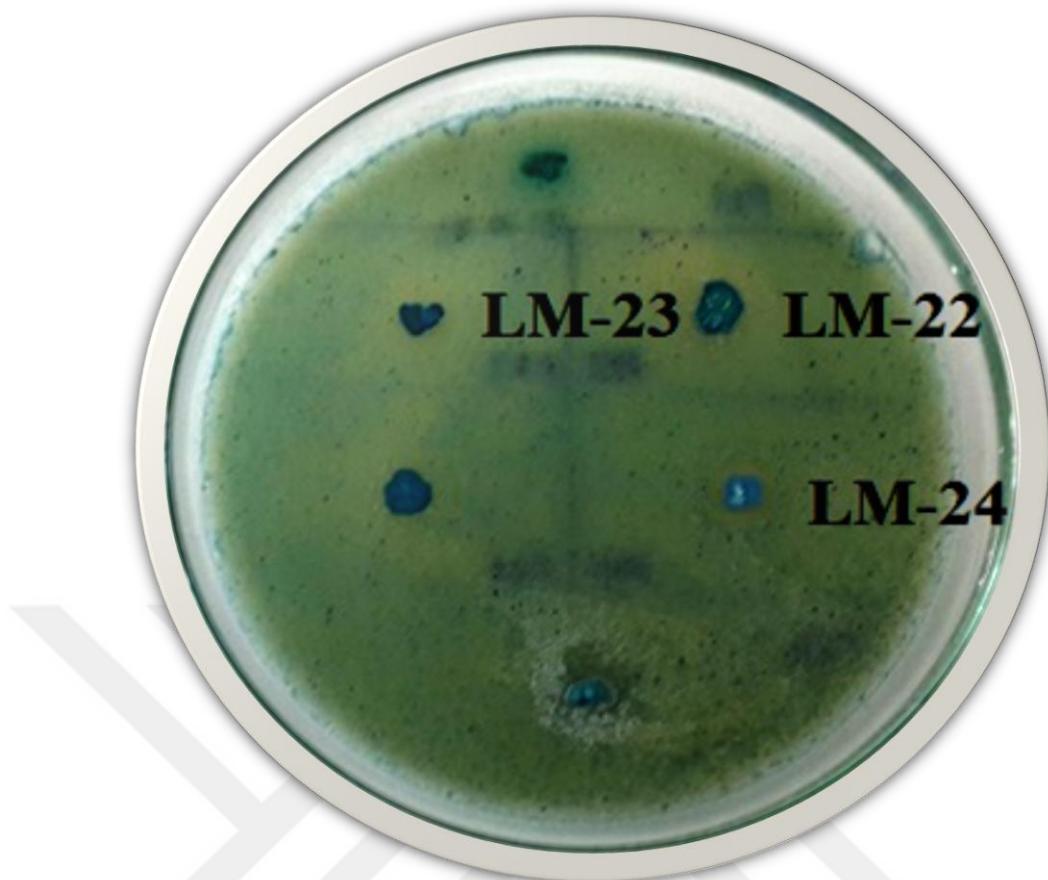
**Şekil 4.1. BM-1'e etki eden 24 numaralı mayanın inhibisyon zon çapı görüntüsü**

Sucuk örneğinden izole edilen BM-8 bozucu mayasına karşı LM-4, LM-5, LM-7 ve LM-9 mayalarının killer aktivite gösterdiği Şekil 4.2'de görülmektedir. Killer özelliği araştırılan 26 mayanın sucukta bozulmaya neden olan bozucu mayalar üzerinde yüksek zon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. BM-8'e en etkili olan 4, 5, 7 ve 9 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

Yine sucuktan izole edilmiş BM-15 kodlu bozucu maya izolatına karşı LM-22, LM-23 ve LM-24 mayalarının killer zon oluşturduğu görülmüştür. pH 4 ve 30 °C inkübasyon sonrasında en yüksek killer aktiviteyi gösteren mayaların LM-23 ve LM-24 mayaları olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. BM-15'e etki eden 22, 23 ve 24 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

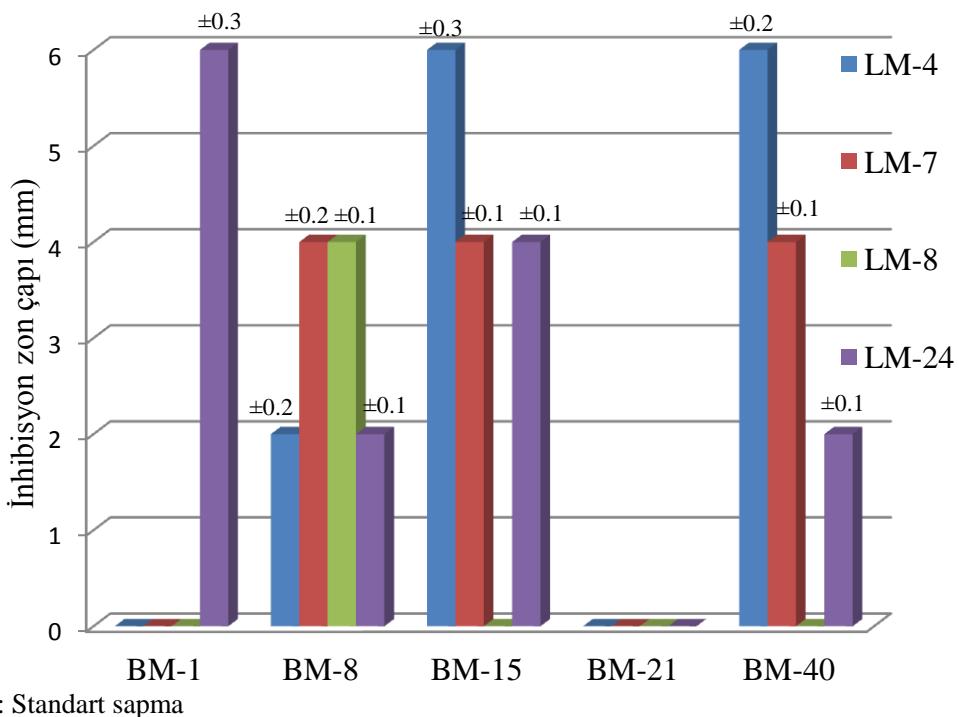
Bozulmuş sucuk örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı pH 4'e ayarlanan tampon ve 30 °C'de 72 saatlik inkübasyon sonucunda killer özelliği araştırılan 26 maya izolatından en yüksek killer aktiviteyi BM-40 bozucu maya üzerinde gösterdiği tespit edilmiştir.

Sucuktan izole edilmiş bozucu mayalara karşı 26 mayanın killer etkisinin sayısal olarak ifade edilişi mm olarak standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.3'de ve Şekil 4.4'te ifade edilmiştir.

Çizelge 4.3. Bozulmuş sucuk örneğinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)

LM	BM-1	BM-8	BM-15	BM-21	BM-40
LM-1	-	-	-	-	-
LM-2	-	-	-	-	-
LM-3	-	-	-	-	-
LM-4	-	2±0.2	6±0.3	-	6±0.2
LM-5	6±0.5	2±0.4	4±0.2	-	4±0.3
LM-6	-	2±0.1	-	-	2±0.1
LM-7	-	4±0.2	4±0.3	-	4±0.4
LM-8	-	4±0.5	-	-	-
LM-9	-	4±0.2	-	-	4±0.6
LM-10	-	-	-	-	4±0.2
LM-11	-	-	-	-	-
LM-12	4±0.3	-	-	-	-
LM-13	2±0.2	-	2±0.2	-	2±0.1
LM-14	-	-	4±0.3	-	4±0.1
LM-15	2±0.1	-	-	-	4±0.2
LM-16	4±0.2	-	2±0.5	-	4±0.1
LM-17	2±0.3	-	-	-	-
LM-18	2±0.1	-	-	-	-
LM-19	4±0.2	-	-	-	2±0.1
LM-20	2±0.2	-	-	-	2±0.3
LM-21	4±0.1	-	-	-	2±0.1
LM-22	4±0.3	2±0.2	2±0.3	-	4±0.1
LM-23	4±0.3	2±0.2	4±0.2	-	4±0.1
LM-24	6±1.1	2±0.1	4±0.1	-	2±0.3
LM-25	2±0.2	3±0.2	2±0.2	-	2±0.1
LM-26	2±0.3	-	-	-	2±0.1

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (mm); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma



Şekil 4.4. Bozulmuş sucuktan izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları

Ayrıca mm dışında killer zon çapları aU (Arbitrary Unit) cinsinden verilmiş ve değerlendirilmiştir (Çizelge 4.4). aU birimi  $\text{mm}^2$  cinsinden ifade edilmiştir. 1 aU, killer maya izolatının yaklaşık  $10 \text{ mm}^2$  alanda oluşturduğu toksin konsantrasyonunun duyarlı maya izolatı üzerine inhibisyon zon çapı etkisi olarak tanımlanmaktadır.

$$1\text{aU} = \sim 10 \text{ mm}^2$$

Bozulmuş sucuk örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı 26 mayanın killer aktivitesi aU cinsinden standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Bozulmuş sucuk örneğinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU)

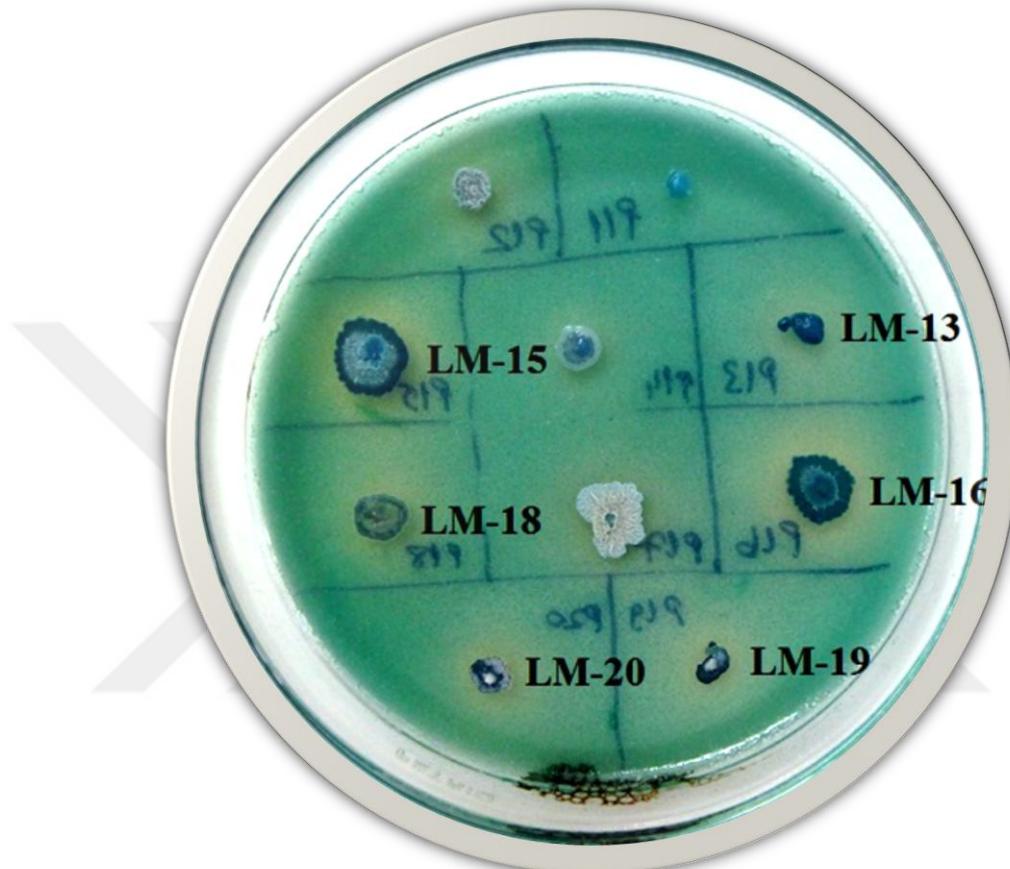
LM	BM-1	BM-8	BM-15	BM-21	BM-40
LM-1	-	-	-	-	-
LM-2	-	-	-	-	-
LM-3	-	-	-	-	-
LM-4	-	0.4±0.2	3.6±0.3	-	3.6±0.2
LM-5	3.6±0.5	0.4±0.4	1.6±0.2	-	1.6±0.3
LM-6	-	0.4±0.1	-	-	0.4±0.1
LM-7	-	1.6±0.2	1.6±0.3	-	1.6±0.4
LM-8	-	1.6±0.5	-	-	-
LM-9	-	1.6±0.2	-	-	1.6±0.6
LM-10	-	-	-	-	1.6±0.2
LM-11	-	-	-	-	-
LM-12	1.6±0.3	-	-	-	-
LM-13	0.4±0.2	-	0.4±0.2	-	0.4±0.1
LM-14	-	-	1.6±0.3	-	1.6±0.1
LM-15	0.4±0.1	-	-	-	1.6±0.2
LM-16	1.6±0.2	-	0.4±0.5	-	1.6±0.1
LM-17	0.4±0.3	-	-	-	-
LM-18	0.4±0.1	-	-	-	-
LM-19	1.6±0.2	-	-	-	0.4±0.1
LM-20	0.4±0.2	-	-	-	0.4±0.3
LM-21	1.6±0.1	-	-	-	0.4±0.1
LM-22	1.6±0.3	0.4±0.2	0.4±0.3	-	1.6±0.1
LM-23	1.6±0.3	0.4±0.2	1.6±0.2	-	1.6±0.1
LM-24	3.6±1.1	0.4±0.1	1.6±0.1	-	0.4±0.3
LM-25	0.4±0.2	0.9±0.2	0.4±0.2	-	0.4±0.1
LM-26	0.4±0.3	-	-	-	0.4±0.1

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (aU); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma

#### 4.3.1.2. Bozulmuş sosis örneklerinden izole edilen bozucu maya sonuçları

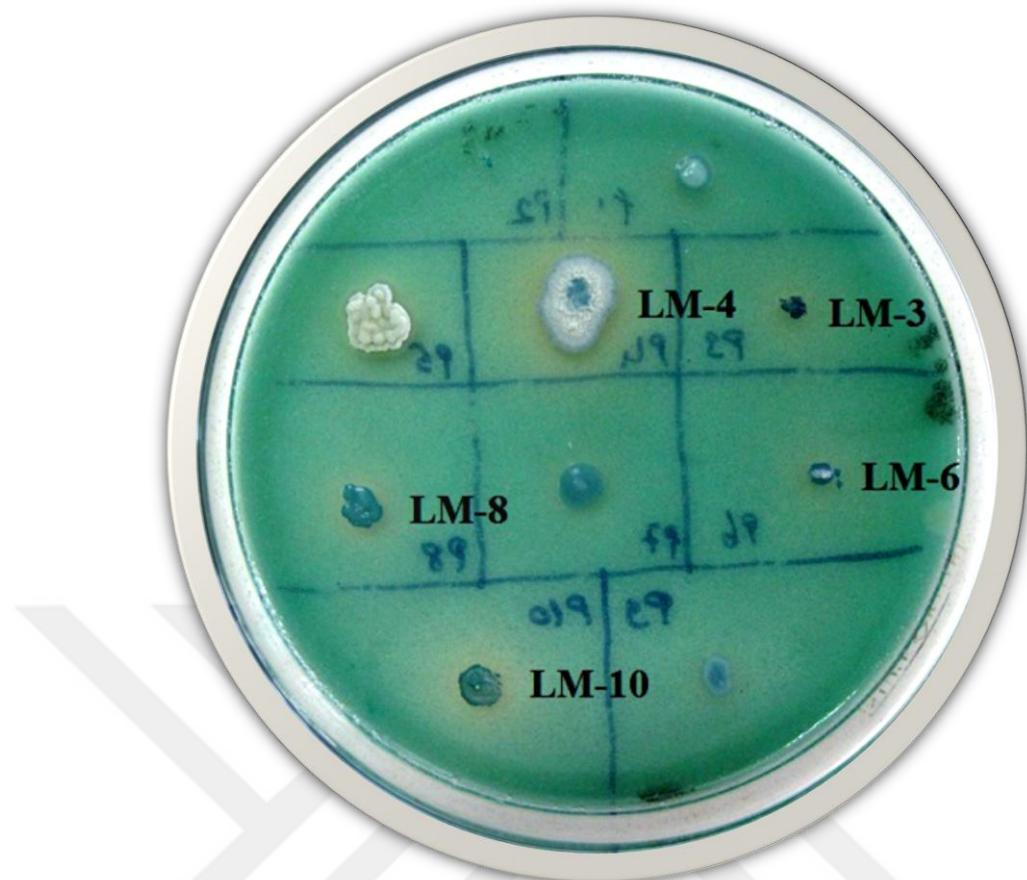
Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 maya suşunun bozulmuş sosis örneğinden izole edilen bozucu mayalar üzerine killer aktivite denemesi gerçekleştirilmiştir. pH 4 ve 30 °C'de 72 saatlik inkübasyon sonucunda en iyi killer zon aktivitesi gösteren suşların zon çapları mm cinsinden standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.5'te ve Şekil 4.7'de, aU cinsinden Çizelge 4.6'da verilmiştir. En iyi killer aktivitenin gerçekleştiği bozucu mayalar

Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Sosisten izole edilen BM-31 mayası üzerine 26 maya suşunun killer aktivitesi denenmiştir. Çalışma sonucunda en iyi killer aktiviteyi LM-13, LM-15, LM-16, LM-18, LM-19, LM-20 maya suşları göstermiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. BM-31'e etki eden 13, 15, 16, 18, 19 ve 20 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

Yine sosisten izole edilen BM-37 bozucu mayası üzerine killer aktivite denemesi gerçekleştirilen 26 mayadan en iyi killer aktivite etkisini gösteren mayaların oluşturdukları killer zon aktivitesi Şekil 4.5'te görülmüştür. Buna göre BM-37 bozucu mayası üzerine en iyi zon aktivitesini gösteren maya suşlarının LM-3, LM-4, LM-6, LM-8 ve LM-10 maya suşlarının olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.6).



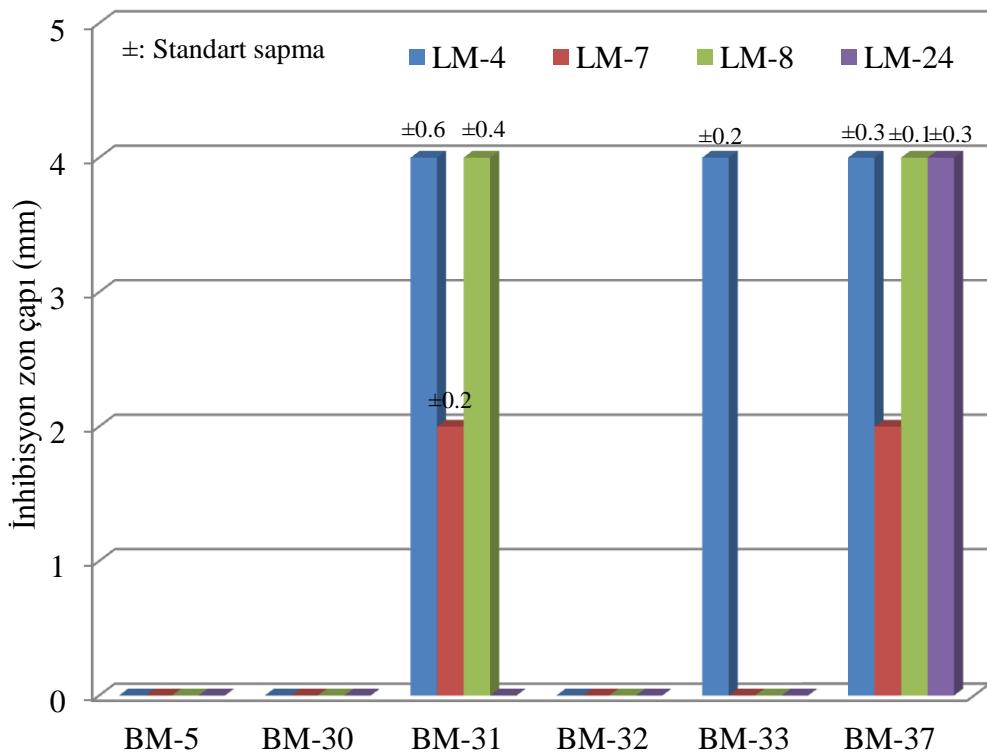
Şekil 4.6. BM-37'ye etki eden 3, 4, 6, 8 ve 10 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.5. Bozulmuş sosis örneğinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer Özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)

LM	BM-5	BM-30	BM-31	BM-32	BM-33	BM-37
LM-1	-	-	2±0.2	-	-	-
LM-2	-	-	2±0.3	-	-	-
LM-3	-	-	3±0.1	-	2±0.1	2±0.1
LM-4	-	-	4±0.6	-	4±0.2	4±0.3
LM-5	-	-	4±0.1	-	-	2±0.1
LM-6	-	-	2±0.1	-	-	2±0.1
LM-7	-	-	2±0.2	-	-	2±0.1
LM-8	-	-	4±0.4	-	-	4±0.3
LM-9	-	-	2±0	-	-	2±0.1
LM-10	-	-	4±0.1	-	-	4±0.4
LM-11	-	-	-	-	-	-
LM-12	-	-	2±0.2	-	-	-
LM-13	-	-	2±0.1	-	-	2±0.1
LM-14	-	-	-	-	-	4±0.1
LM-15	-	-	4±0.2	-	-	6±0.4
LM-16	-	-	4±0.1	-	4±0.2	4±0.1
LM-17	-	-	-	-	2±0	4±0.3
LM-18	-	-	6±0.7	-	4±0.5	4±0.1
LM-19	-	-	4±0.3	-	4±0.4	4±0.1
LM-20	-	-	6±0.2	-	2±0.1	4±0.3
LM-21	-	-	-	-	-	2±0.1
LM-22	-	-	-	-	-	-
LM-23	-	-	-	-	-	4±0.1
LM-24	-	-	-	-	-	4±0
LM-25	-	-	-	-	-	4±0.1
LM-26	-	-	-	-	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer Özelliği araştırılan maya kodları

Zon aktivitesi (mm); -Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma



Şekil 4.7. Bozulmuş sosisten izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları

Çizelge 4.6. Bozulmuş sosis örneğinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU)

LM	BM-5	BM-30	BM-31	BM-32	BM-33	BM-37
LM-1	-	-	0.4±0.2	-	-	-
LM-2	-	-	0.4±0.3	-	-	-
LM-3	-	-	0.9±0.1	-	0.4±0.1	0.4±0.1
LM-4	-	-	1.6±0.6	-	1.6±0.2	1.6±0.3
LM-5	-	-	1.6±0.1	-	-	0.4±0.1
LM-6	-	-	0.4±0.1	-	-	0.4±0.1
LM-7	-	-	0.4±0.2	-	-	0.4±0.1
LM-8	-	-	1.6±0.4	-	-	1.6±0.3
LM-9	-	-	0.4±0	-	-	0.4±0.1
LM-10	-	-	1.6±0.1	-	-	1.6±0.4
LM-11	-	-	-	-	-	-
LM-12	-	-	0.4±0.2	-	-	-
LM-13	-	-	0.4±0.1	-	-	0.4±0.1
LM-14	-	-	-	-	-	1.6±0.1
LM-15	-	-	1.6±0.2	-	-	3.6±0.4
LM-16	-	-	1.6±0.1	-	1.6±0.2	1.6±0.1
LM-17	-	-	-	-	0.4±0	1.6±0.3
LM-18	-	-	3.6±0.7	-	1.6±0.5	1.6±0.1
LM-19	-	-	1.6±0.3	-	1.6±0.4	1.6±0.1
LM-20	-	-	3.6±0.2	-	0.4±0.1	1.6±0.3
LM-21	-	-	-	-	-	0.4±0.1
LM-22	-	-	-	-	-	-
LM-23	-	-	-	-	-	1.6±0.1
LM-24	-	-	-	-	-	1.6±0
LM-25	-	-	-	-	-	1.6±0.1
LM-26	-	-	-	-	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları

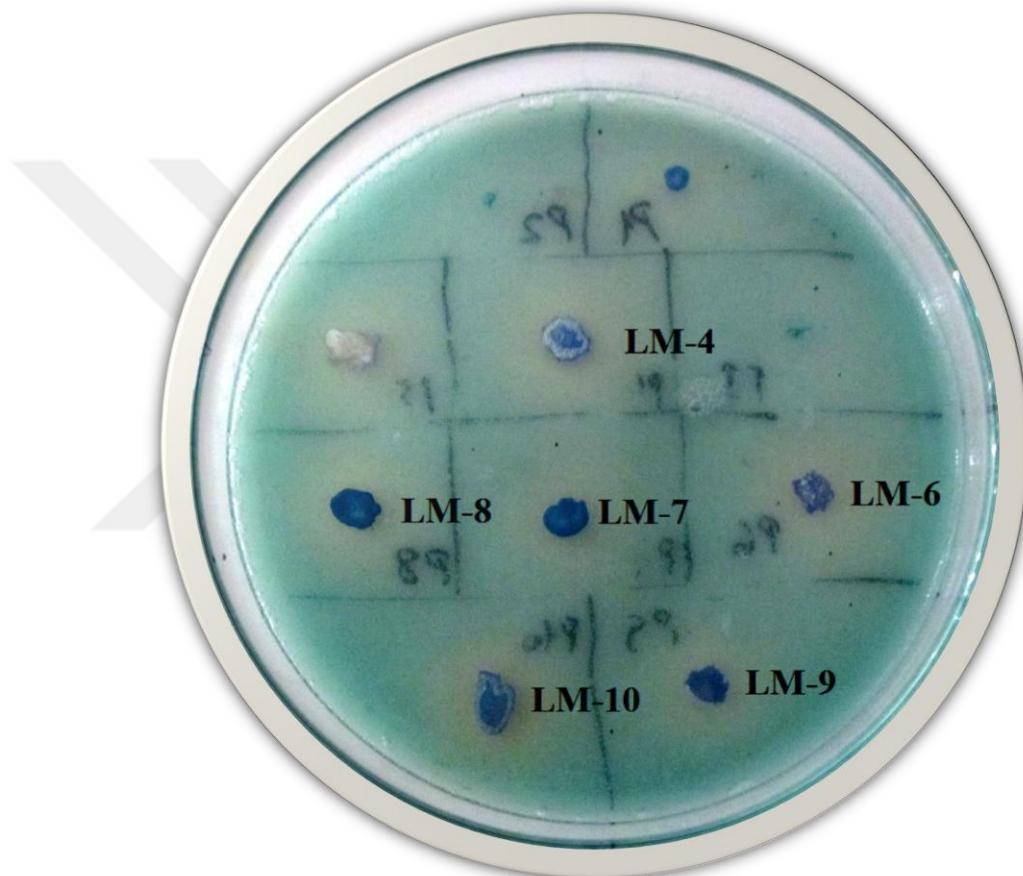
Zon aktivitesi (aU); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma

#### 4.3.2. Bozulmuş süt ürünlerinden izole edilen bozucu maya sonuçları

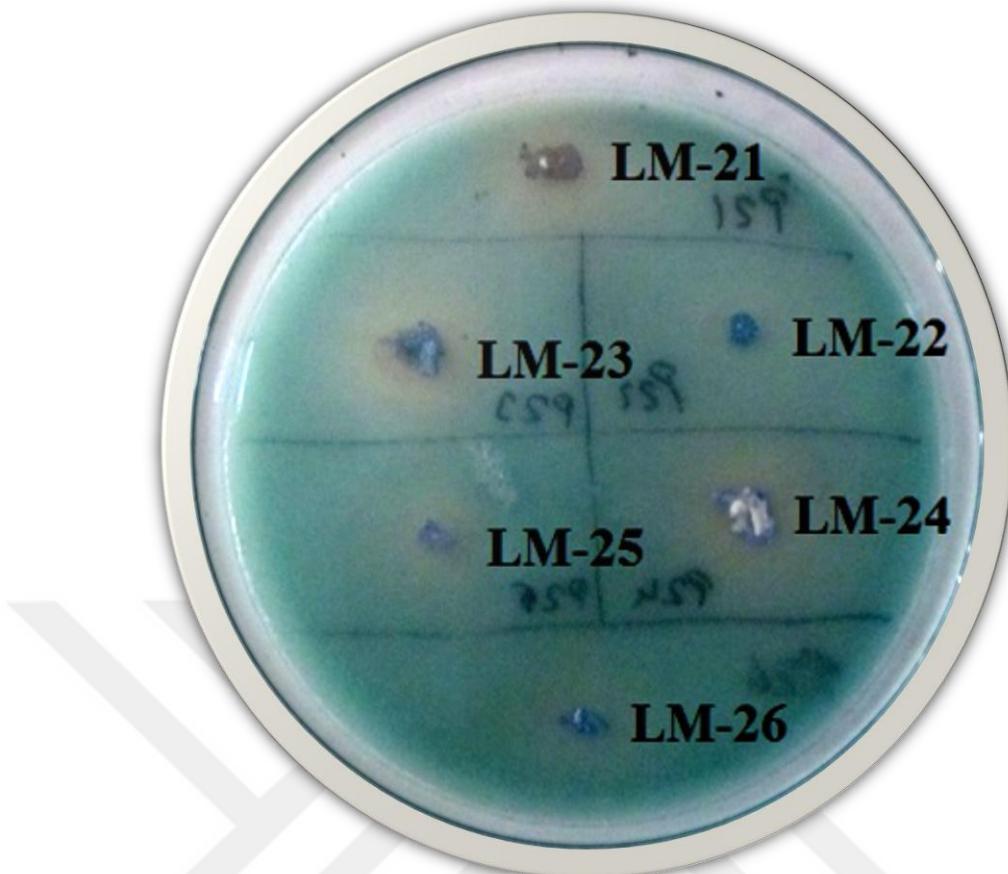
İsparta pazarından tesadüfen temin edilen peynir örneklerinin bozulması sonucu izole edilen bozucu mayalar üzerindeki killer aktivitesi gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.7'de ve Şekil 4.13'te mm, Çizelge 4.8'de aU cinsinden ifade edilmiştir. Bozulmuş peynir

örneklerinden izole edilen mayalar içerisinde 26 mayanın en iyi killer etki gösterdiği bozucu mayanın BM-25 olduğu görülmüştür. BM-25 bozucu mayasına etki eden mayaların zon yapısı Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

BM-25 bozucu mayasına en iyi etkiyi gösteren killer maya suşları LM-4, LM-6, LM-7, LM-8, LM-9 ve LM-10 (Şekil 4.8), LM-21, LM-22, LM-23, LM-24, LM-25 ve LM-26 maya suşlarıdır (Şekil 4.9).

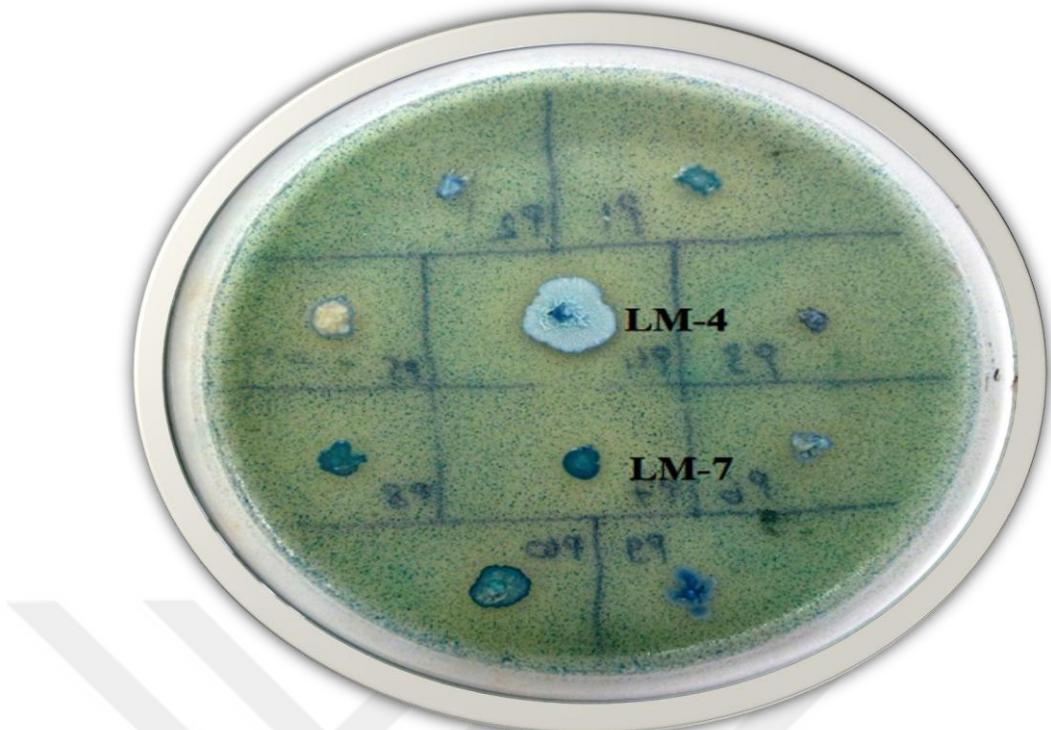


Şekil 4.8. BM-25'e etki eden 4, 6, 7, 8, 9 ve 10 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

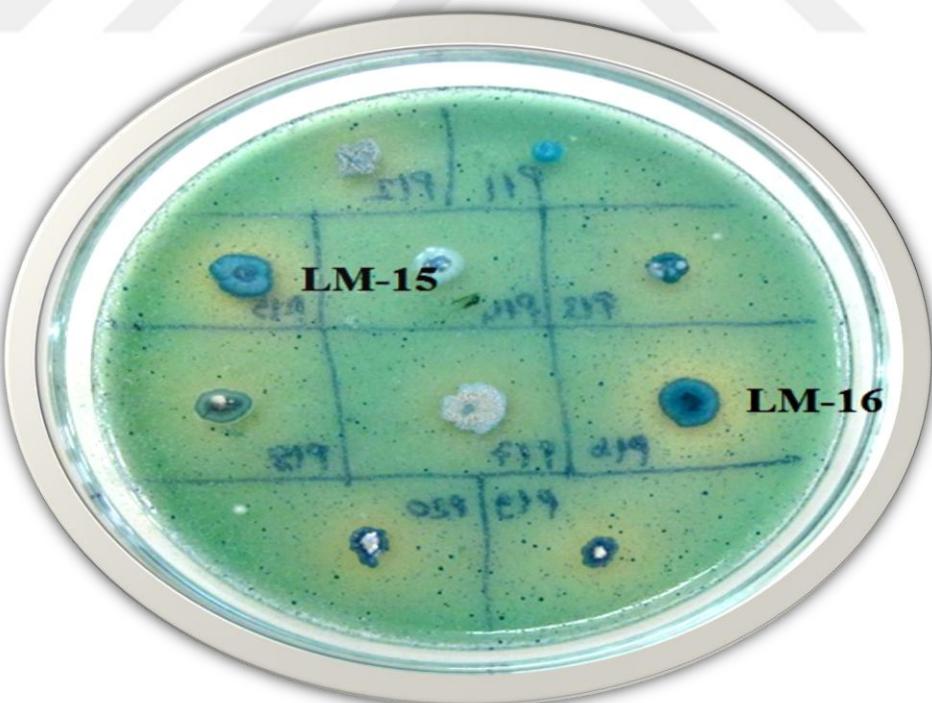


Şekil 4.9. BM-25'e etki eden 21, 22, 23, 24, 25 ve 26 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

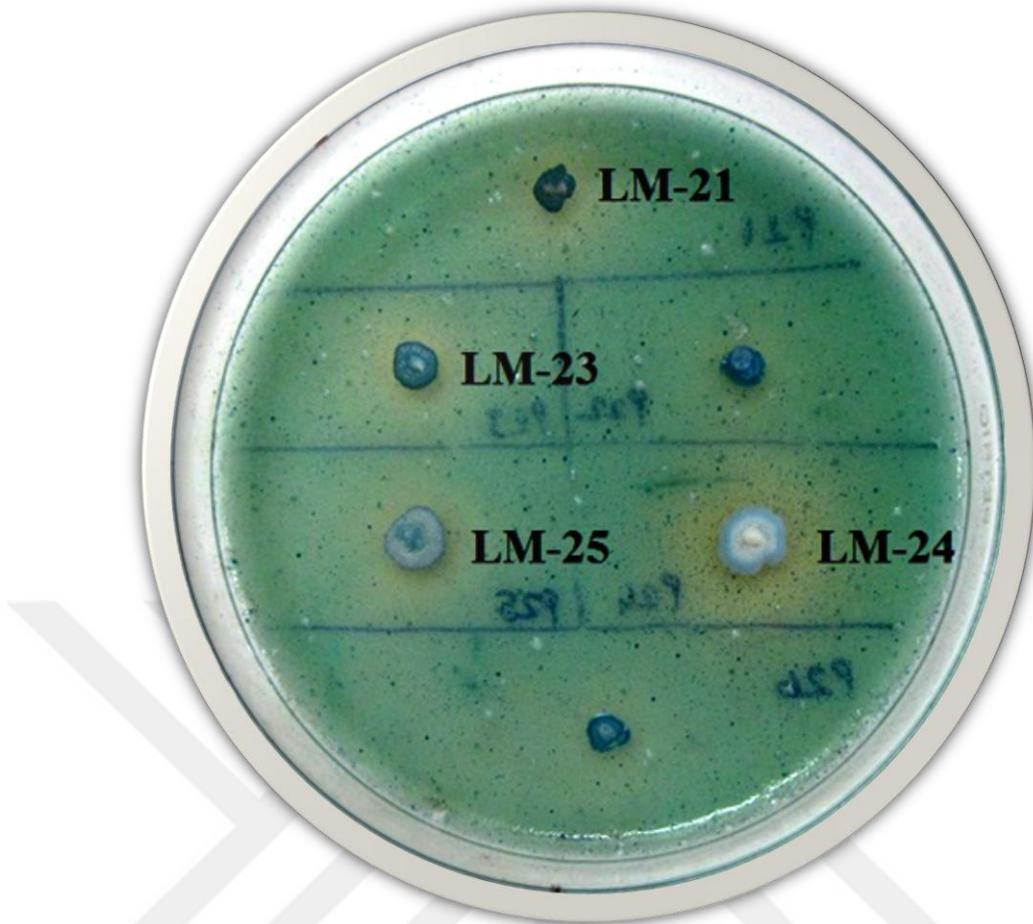
BM-25 bozucu mayası dışında bozulmuş peynirden izole edilen bozucu maya suşlarından killer özelliği araştırılan 26 mayanın en iyi killer zon aktivitesini gösterdiği bozucu maya suşlarından biri de BM-38'dir. Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de gösterilen maya suşları 26 maya içerisinde BM-38'e karşı en iyi killer zon aktivitesini göstermiştir. BM-38 mayasına pH 4'te ve 30 °C'de etki eden killer maya suşları LM-4, LM-7 (Şekil 4.10), LM-15, LM-16 (Şekil 4.11), LM-21, LM-23; LM-24 ve LM-25 (Şekil 4.12)'dır.



Şekil 4.10. BM-38'e en iyi etki eden 4 ve 7 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü



Şekil 4.11. BM-38'e en iyi etki eden 15 ve 16 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

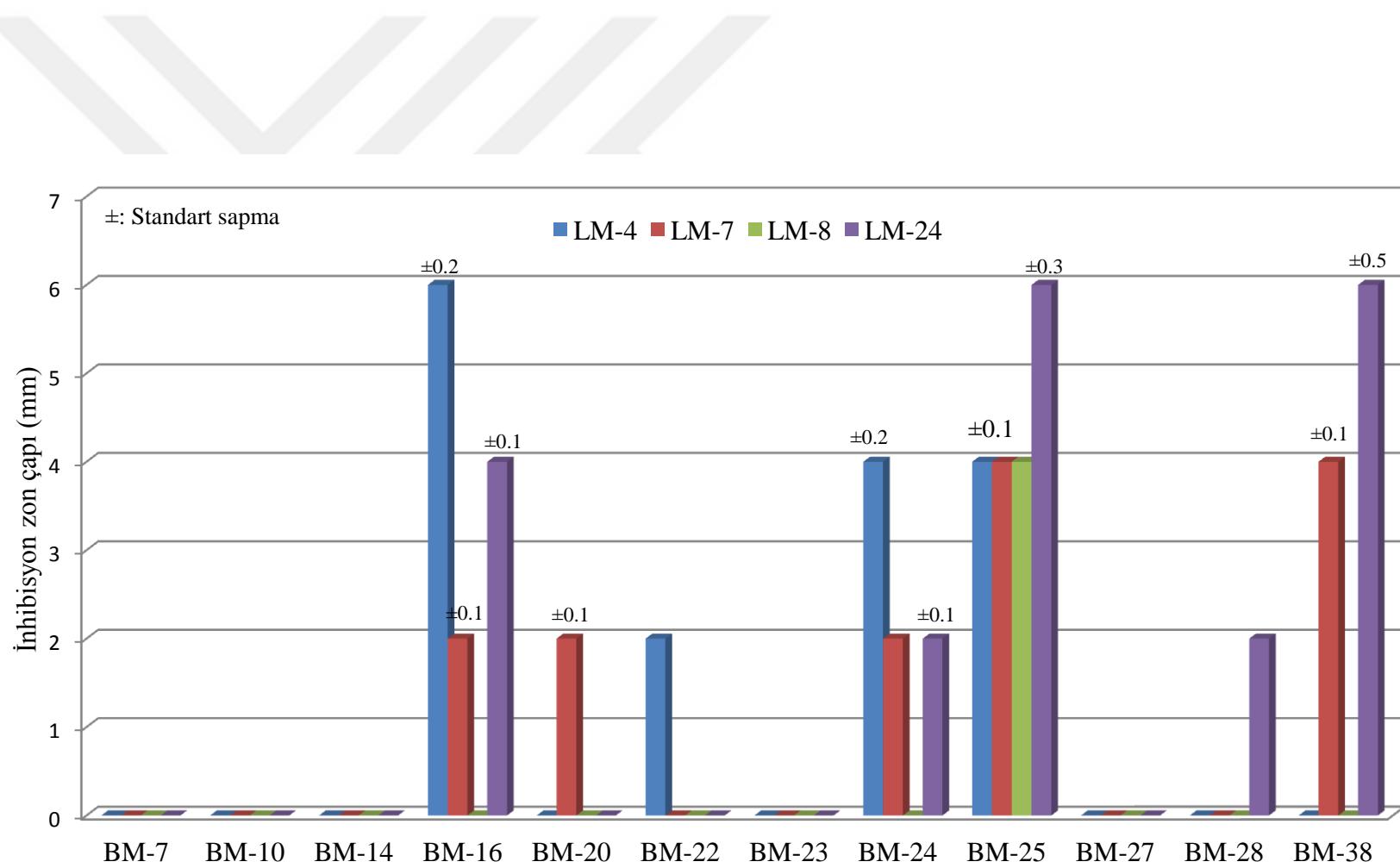


Şekil 4.12. BM-38'e en iyi etki eden 21, 23, 24 ve 25 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.7. Bozulmuş peynir örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)

LM	BM-7	BM-10	BM-14	BM-16	BM-20	BM-22	BM-23	BM-24	BM-25	BM-27	BM-28	BM-38
LM-1	-	-	-	4±0.1	-	-	-	-	2±0.1	-	-	-
LM-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-4	-	-	-	6±0.2	-	2	-	4±0.2	4±0.1	-	-	-
LM-5	-	2±0.1	-	6±0.3	-	-	-	4±0.3	4±0.1	-	-	-
LM-6	-	-	-	-	-	-	-	2±0.1	4±0.2	-	-	-
LM-7	-	-	-	2±0.1	2±0.1	-	-	2±0	4±0.1	-	-	4±0.1
LM-8	-	-	-	-	-	-	-	-	4±0.1	-	-	-
LM-9	-	-	-	-	2±0	-	-	-	4±0.1	-	-	-
LM-10	-	-	-	-	2±0	-	-	-	4±0.2	-	-	-
LM-11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-12	-	-	-	-	-	-	-	-	2±0	-	-	4±0.2
LM-13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2±0.1
LM-14	2±0.1	-	-	-	-	4±0.6	-	-	2±0.2	-	-	-
LM-15	4±0.5	-	-	-	-	-	2	-	4±0.1	-	-	2
LM-16	-	-	-	-	-	-	2	-	4±0.4	-	-	4±0.1
LM-17	-	-	-	6±0.1	-	2±0.1	-	-	2±0.3	-	-	-
LM-18	-	-	-	4±0.2	-	-	2±0.1	-	6±0.4	-	-	2±0
LM-19	-	-	-	-	-	2±0	4±0.1	-	-	-	-	2±0.1
LM-20	-	-	-	-	-	-	2±0.1	2±0	4±0.1	-	-	4±0.2
LM-21	2±0.1	-	-	-	-	-	-	-	4±0.2	-	2±0.2	4±0.1
LM-22	-	-	-	-	-	-	2	4±0.1	2±0	-	2±0.1	-
LM-23	-	-	-	-	-	-	-	4±0.2	4±0.4	-	4±0.1	4±0.2
LM-24	-	-	-	4±0.1	-	-	-	2±0.1	6±0.3	-	2±0	6±0.5
LM-25	2±0.1	-	-	-	-	-	-	2±0	2±0	-	2±0	4±0.1
LM-26	-	-	-	-	-	-	-	4±0.2	4±0.2	-	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (mm); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma



Şekil 4.13. Bozulmuş peynirden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon capları

Çizelge 4.8. Bozulmuş peynir örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU)

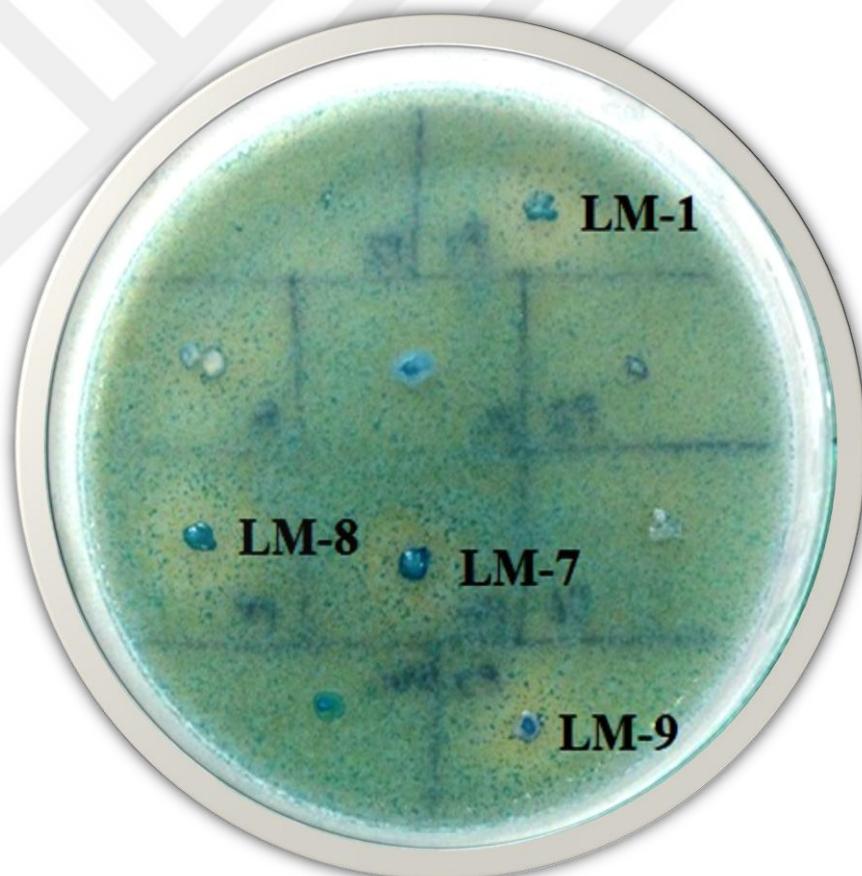
LM	BM-7	BM-10	BM-14	BM-16	BM-20	BM-22	BM-23	BM-24	BM-25	BM-27	BM-28	BM-38
LM-1	-	-	-	1.6±0.1	-	-	-	-	0.4±0.1	-	-	-
LM-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-4	-	-	-	3.6±0.2	-	0.4±0	-	1.6±0.2	1.6±0.1	-	-	-
LM-5	-	0.4±0.1	-	3.6±0.3	-	-	-	1.6±0.3	1.6±0.1	-	-	-
LM-6	-	-	-	-	-	-	-	0.4±0.1	1.6±0.2	-	-	-
LM-7	-	-	-	0.4±0.1	0.4±0.1	-	-	0.4±0	1.6±0.1	-	-	1.6±0.1
LM-8	-	-	-	-	-	-	-	-	1.6±0.1	-	-	-
LM-9	-	-	-	-	0.4±0	-	-	-	1.6±0.1	-	-	-
LM-10	-	-	-	-	0.4±0	-	-	-	1.6±0.2	-	-	-
LM-11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-12	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4±0	-	-	1.6±0.2
LM-13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4±0.1
LM-14	0.4±0.1	-	-	-	-	1.6±0.6	-	-	0.4±0.2	-	-	-
LM-15	1.6±0.5	-	-	-	-	-	0.4±0	-	1.6±0.1	-	-	0.4±0
LM-16	-	-	-	-	-	-	0.4±0	-	1.6±0.4	-	-	1.6±0.1
LM-17	-	-	-	3.6±0.1	-	0.4±0.1	-	-	0.4±0.3	-	-	-
LM-18	-	-	-	1.6±0.2	-	-	0.4±0.1	-	3.6±0.4	-	-	0.4±0
LM-19	-	-	-	-	-	-	0.4±0	1.6±0.1	-	-	-	0.4±0.1
LM-20	-	-	-	-	-	-	0.4±0.1	0.4±0	1.6±0.1	-	-	1.6±0.2
LM-21	0.4±0.1	-	-	-	-	-	-	-	1.6±0.2	-	0.4±0.2	1.6±0.1
LM-22	-	-	-	-	-	-	0.4±0	1.6±0.1	0.4±0	-	0.4±0.1	-
LM-23	-	-	-	-	-	-	-	1.6±0.2	1.6±0.4	-	1.6±0.1	1.6±0.2
LM-24	-	-	-	1.6±0.1	-	-	-	0.4±0.1	3.6±0.3	-	0.4±0	3.6±0.5
LM-25	0.4±0.1	-	-	-	-	-	-	0.4±0	0.4±0	-	0.4±0	1.6±0.1
LM-26	-	-	-	-	-	-	-	1.6±0.2	1.6±0.2	-	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
 Zon aktivitesi (aU); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma

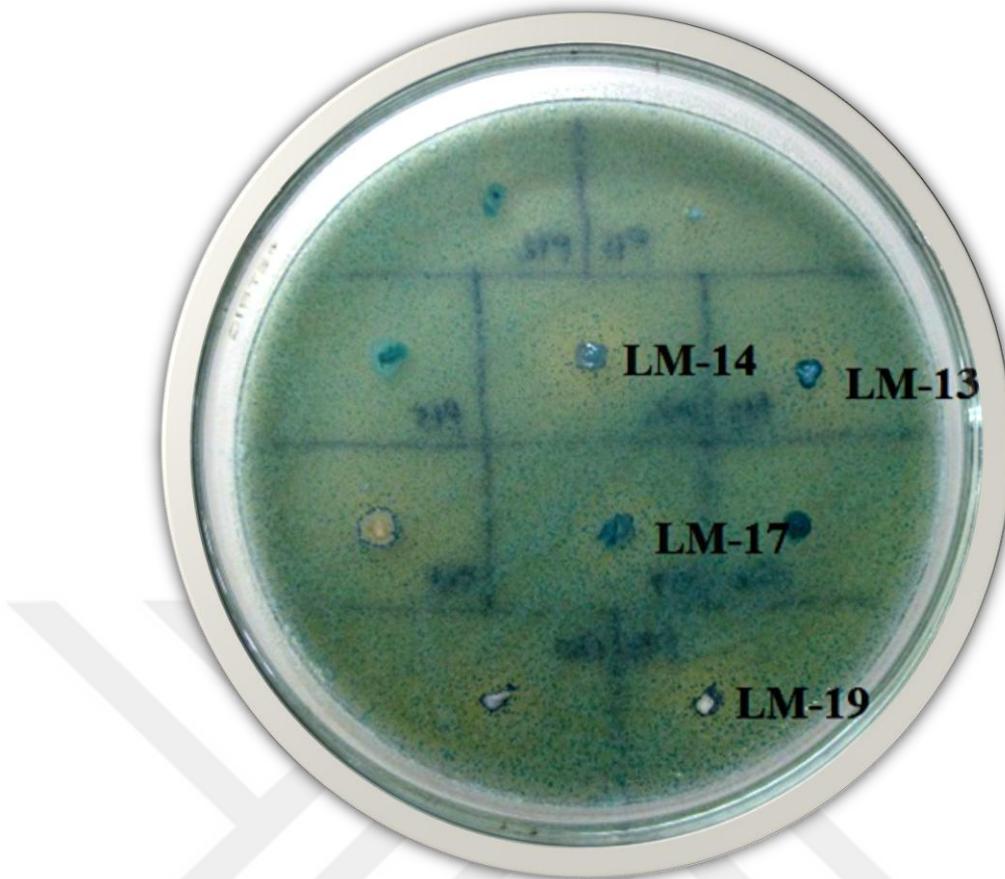
#### **4.3.2.2. Bozulmuş kaymak örneklerinden izole edilen bozucu maya sonuçları**

Süleyman Demirel Üniversitesi'nden temin edilen 26 adet maya suşunun kaymaktan izole edilen bozucu mayalara karşı gösterdiği killer aktivite araştırılmıştır. Bozulmuş kaymaktan izole edilen 4 suşa 26 mayanın killer aktivitesi mm olarak standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.9 ve Şekil 4.16'da, aU olarak Çizelge 4.10'da ifade edilmiştir. 26 adet maya suşunun bozucu mayalar üzerine pH 4 ve 30 °C inkübasyonda en yüksek duyarlılığa sahip bozucu maya suşu BM-39 olarak gözlemlenmiştir.

BM-39'a karşı killer zon oluşturan suşlar LM-1, LM-7, LM-8, LM-9 (Şekil 4.14), LM-13, LM-14, LM-17 ve LM-19 maya suşlarıdır (Şekil 4.15).



Şekil 4.14. BM-39'a en iyi etki eden 1, 7, 8 ve 9 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

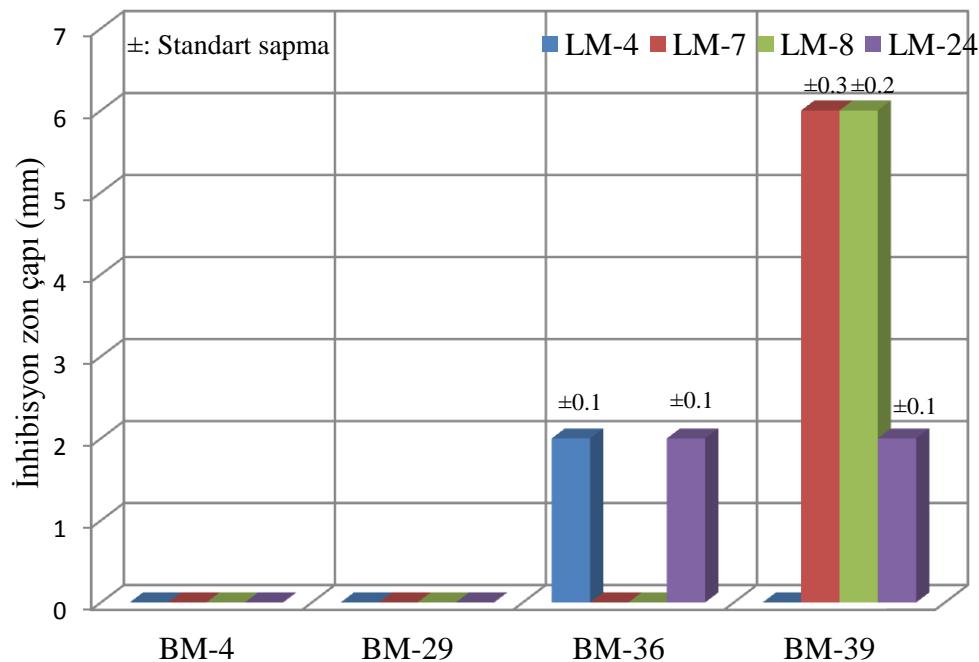


Şekil 4.15. BM-39'a en iyi etki eden 13, 14, 17 ve 19 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.9. Bozulmuş kaymak örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)

LM	BM-4	BM-29	BM-36	BM-39
LM-1	-	-	-	2±0.1
LM-2	-	-	-	-
LM-3	-	-	-	-
LM-4	-	-	2±0.1	-
LM-5	-	-	-	-
LM-6	-	-	2±0.1	-
LM-7	-	-	-	6±0.6
LM-8	-	-	-	6±1.6
LM-9	-	-	-	4±0.1
LM-10	-	-	2±0.1	-
LM-11	-	-	-	-
LM-12	-	-	2±0.1	-
LM-13	-	-	-	2±0.1
LM-14	-	-	-	4±0.1
LM-15	-	-	4±0.2	-
LM-16	-	-	2±0.1	-
LM-17	-	-	-	4±0.1
LM-18	-	-	2±0.1	-
LM-19	-	-	4±0.1	2±0.1
LM-20	-	-	4±0.1	2±0.1
LM-21	-	-	2±0.1	-
LM-22	-	-	-	4±0.1
LM-23	-	-	-	-
LM-24	-	-	2±0.1	2±0.1
LM-25	-	-	-	-
LM-26	-	-	-	4±0.2

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (mm); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma



Şekil 4.16. Bozulmuş peynirden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon capları

Çizelge 4.10. Bozulmuş kaymak örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivte değerleri (aU)

LM	BM-4	BM-29	BM-36	BM-39
LM-1	-	-	-	0.4±0.1
LM-2	-	-	-	-
LM-3	-	-	-	-
LM-4	-	-	0.4±0.1	-
LM-5	-	-	-	-
LM-6	-	-	0.4±0.1	-
LM-7	-	-	-	3.6±0.6
LM-8	-	-	-	3.6±1.6
LM-9	-	-	-	1.6±0.1
LM-10	-	-	0.4±0.1	-
LM-11	-	-	-	-
LM-12	-	-	0.4±0.1	-
LM-13	-	-	-	0.4±0.1
LM-14	-	-	-	1.6±0.1
LM-15	-	-	1.6±0.2	-
LM-16	-	-	0.4±0.1	-
LM-17	-	-	-	1.6±0.1
LM-18	-	-	0.4±0.1	-
LM-19	-	-	1.6±0.1	0.4±0.1
LM-20	-	-	1.6±0.1	0.4±0.1
LM-21	-	-	0.4±0.1	-
LM-22	-	-	-	1.6±0.1
LM-23	-	-	-	-
LM-24	-	-	0.4±0.1	0.4±0.1
LM-25	-	-	-	-
LM-26	-	-	-	1.6±0.2

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (aU); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma

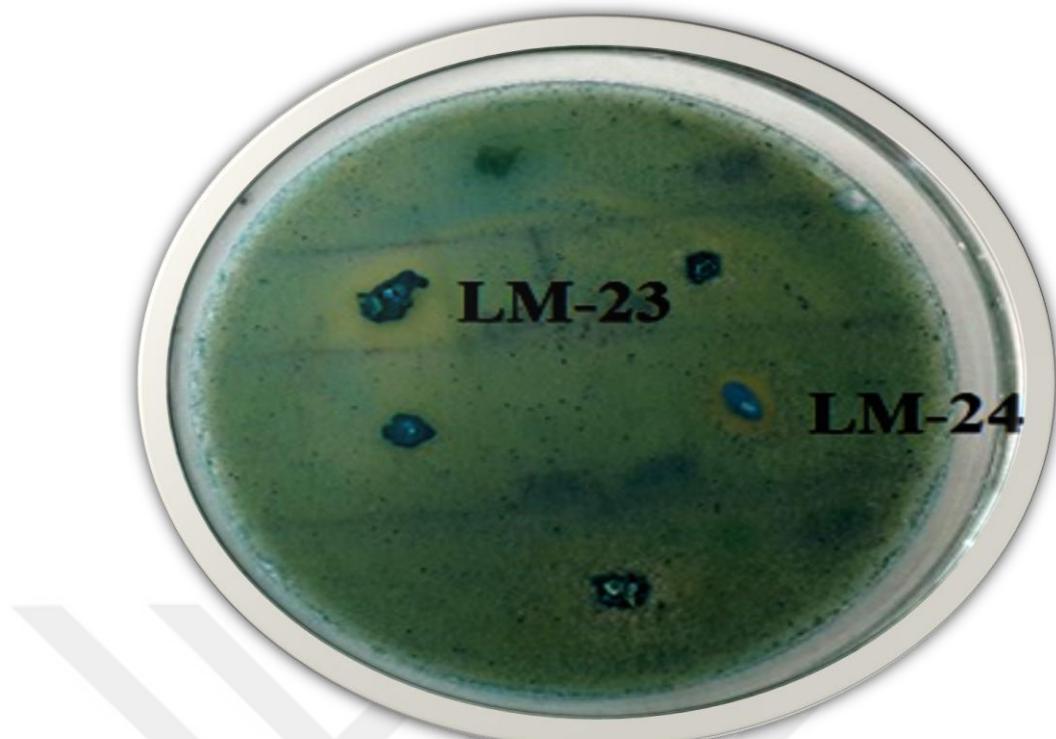
#### 4.3.2.3. Bozulmuş yoğurt örneklerinden izole edilen bozucu maya sonuçları

Isparta pazarından tesadüfi olarak temin edilen yoğurt örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı Süleyman Demirel Üniversitesi'nden alınan 26 adet maya suşunun killer aktivite denemeleri gerçekleştirilmiştir. Deneme sonucunda elde edilen veriler mm olarak standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.11 ve Şekil 4.20'de, aU olarak Çizelge 4.12'de verilmiştir. Yoğurt üzerindeki denemeler sonucunda 26 mayanın en etkili olduğu bozucu maya suşı BM-19 olmuştur.

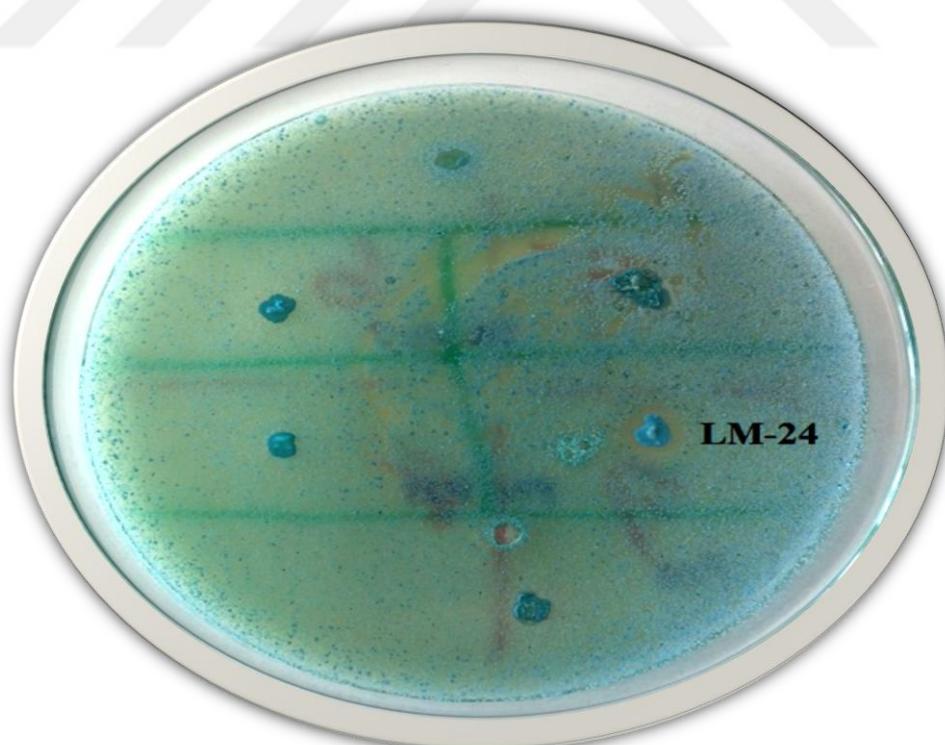
BM-19 mayasına karşı en iyi killer zon oluşturan suşlar LM-7 (Şekil 4.17), LM-23 ve LM-24 (Şekil 4.18) killer maya suşlarıdır. Ayrıca BM-19 bozucu mayasının yanısıra BM-9 bozucu mayasına karşı da LM-24 killer maya suşu (Şekil 4.19) iyi bir zon oluşumu sağlamıştır.



Şekil 4.17. BM-19'a en iyi etki eden 3, 4 ve 7 numaralı mayanın inhibisyon zon çapı görüntüsü



Şekil 4.18. BM-19'a en iyi etki eden 23 ve 24 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

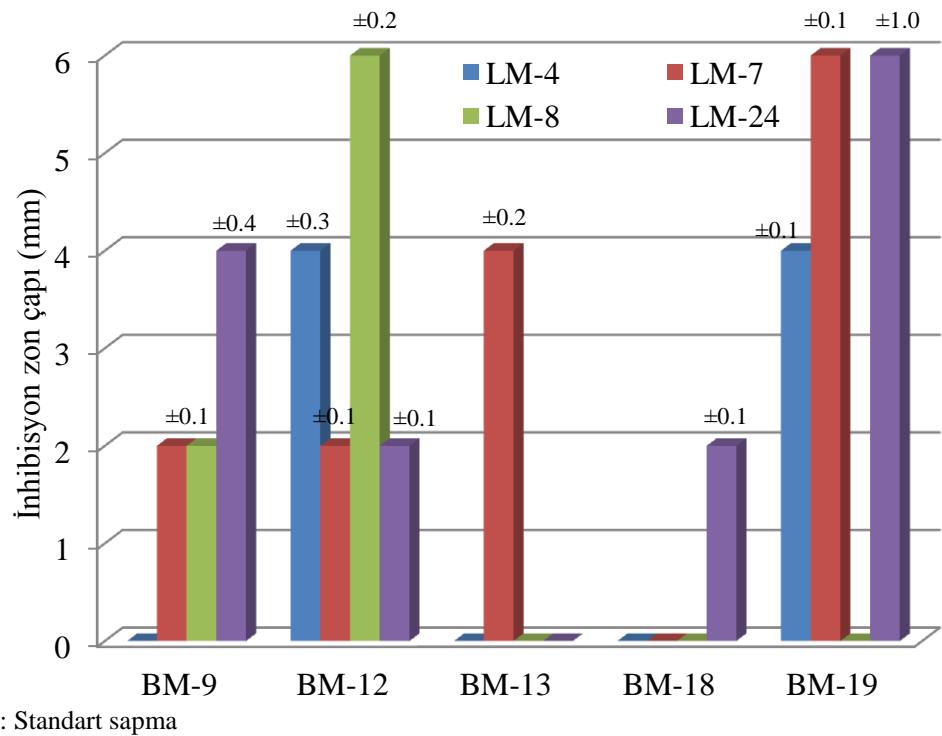


Şekil 4.19. BM-9'a en iyi etki eden 24 numaralı mayanın inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.11. Bozulmuş yoğurt örnekleriinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)

LM	BM-9	BM-12	BM-13	BM-18	BM-19
LM-1	-	4±0.4	-	-	-
LM-2	-	-	-	-	-
LM-3	-	-	-	-	-
LM-4	-	4±0.3	-	-	4±0.1
LM-5	6±0.4	-	-	-	4±0.2
LM-6	2±0.2	-	-	-	-
LM-7	2±0.1	2±0.1	4±0.2	-	6±0.6
LM-8	2±0.1	6±1.2	-	-	-
LM-9	2±0.1	4±0.2	-	-	-
LM-10	-	4±0.1	-	-	-
LM-11	-	-	-	-	-
LM-12	-	-	-	-	-
LM-13	-	2±0	2	-	-
LM-14	-	2±0	6±0.8	-	-
LM-15	-	-	-	-	-
LM-16	-	-	-	-	-
LM-17	-	4±0.2	6±0.6	-	-
LM-18	-	-	-	-	-
LM-19	-	-	-	-	-
LM-20	-	-	-	-	-
LM-21	-	-	-	-	-
LM-22	-	-	-	-	-
LM-23	-	-	-	-	4±0.6
LM-24	4±0.4	2±0.1	-	2±0.1	6±1.0
LM-25	-	-	-	-	-
LM-26	-	-	-	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
 Zon aktivitesi (mm); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma



Şekil 4.20. Bozulmuş yoğurt örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları

Çizelge 4.12. Bozulmuş yoğurt örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU)

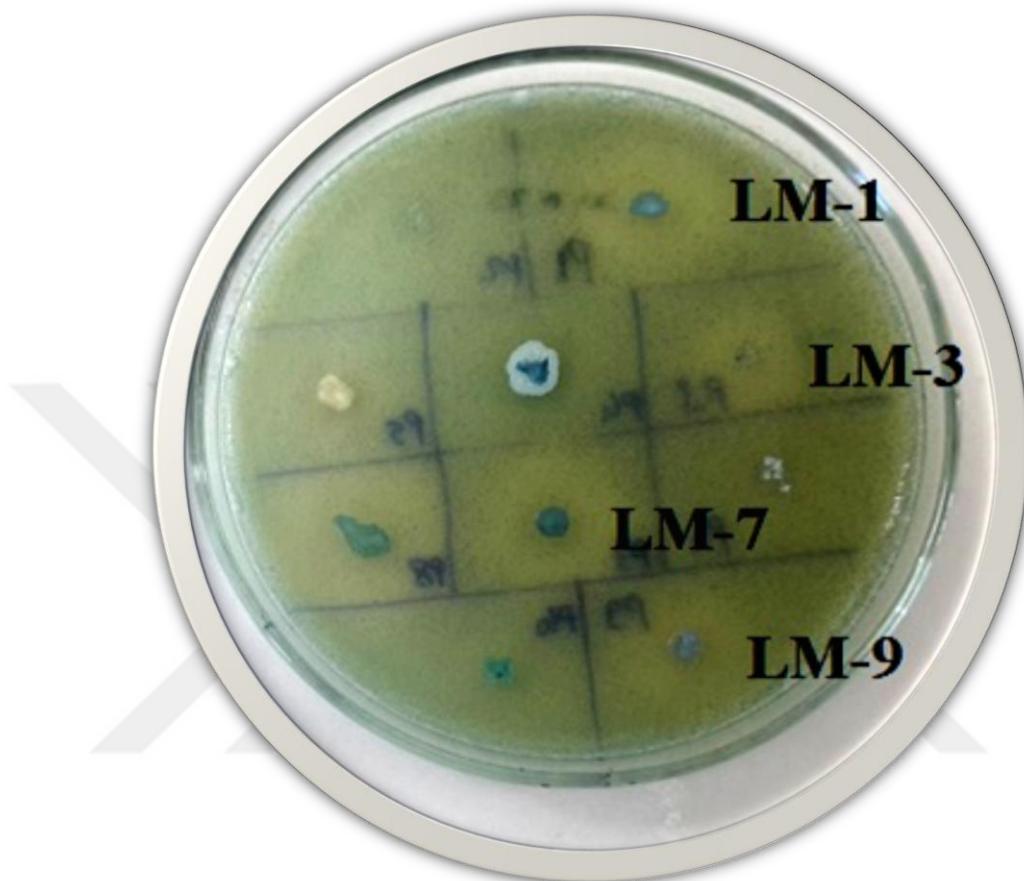
LM	BM-9	BM-12	BM-13	BM-18	BM-19
LM-1	-	1.6±0.4	-	-	-
LM-2	-	-	-	-	-
LM-3	-	-	-	-	-
LM-4	-	1.6±0.3	-	-	1.6±0.1
LM-5	3.6±0.4	-	-	-	1.6±0.2
LM-6	0.4±0.2	-	-	-	-
LM-7	0.4±0.1	0.4±0.1	1.6±0.2	-	3.6±0.6
LM-8	0.4±0.1	3.6±1.2	-	-	-
LM-9	0.4±0.1	1.6±0.2	-	-	-
LM-10	-	1.6±0.1	-	-	-
LM-11	-	-	-	-	-
LM-12	-	-	-	-	-
LM-13	-	0.4±0	0.4±0	-	-
LM-14	-	0.4±0	3.6±0.8	-	-
LM-15	-	-	-	-	-
LM-16	-	-	-	-	-
LM-17	-	1.6±0.2	3.6±0.6	-	-
LM-18	-	-	-	-	-
LM-19	-	-	-	-	-
LM-20	-	-	-	-	-
LM-21	-	-	-	-	-
LM-22	-	-	-	-	-
LM-23	-	-	-	-	1.6±0.6
LM-24	1.6±0.4	0.4±0.1	-	0.4±0.1	3.6±1.0
LM-25	-	-	-	-	-
LM-26	-	-	-	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (aU); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma

#### 4.3.2.4. Bozulmuş tereyağı örneklerinden izole edilen bozucu maya sonuçları

Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 maya suşunun 3 farklı bozulmuş tereyağı örneğinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktivitesi denenmiştir. Denemeler sonucunda elde edilen veriler mm olarak standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.13 ve Şekil 4.22'de, aU olarak Çizelge 4.14'te belirtilmiştir. Tereyağı örneklerinden izole edilen bozucu mayalardan 26 mayaya karşı en yüksek duyarlılığa sahip maya izolatı BM-11 olmuştur.

BM-11'e karşı killer aktivite denemesi gerçekleştirilen 26 maya içerisinde en iyi killer zon aktivitesi gösteren killer maya suşları LM-1, LM-3, LM-7 ve LM-9 (Şekil 4.21) olmuştur.

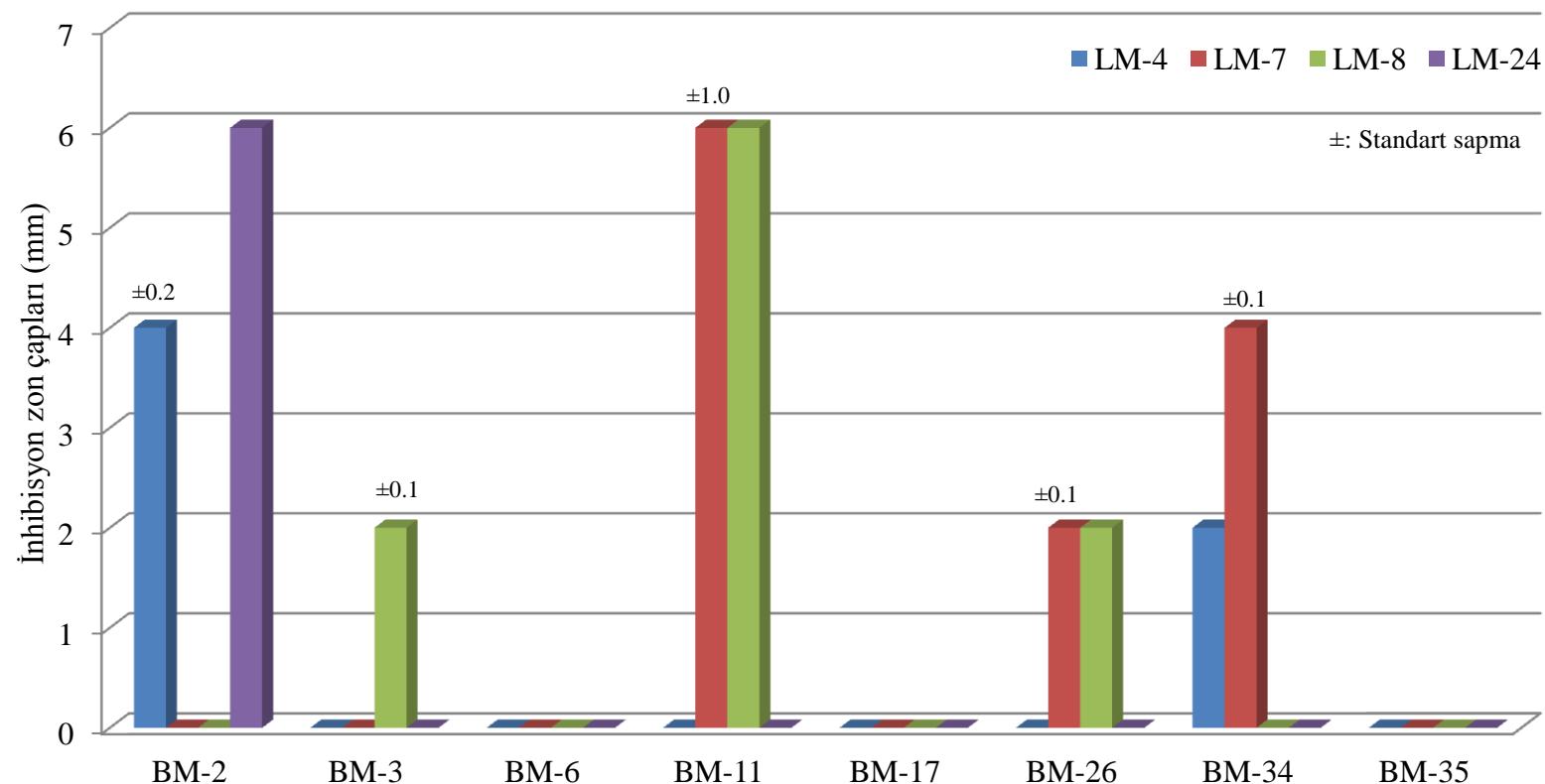


Şekil 4.21. BM-11'e en iyi etki eden 1, 3, 7 ve 9 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.13. Bozulmuş tereyağı örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)

LM	BM-2	BM-3	BM-6	BM-11	BM-17	BM-26	BM-34	BM-35
LM-1	-	-	-	6±0.6	-	-	-	-
LM-2	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-3	-	-	-	4±0.2	-	-	-	-
LM-4	4±0.2	-	-	-	-	-	2±0	-
LM-5	4±0.4	2±0	-	-	-	-	-	-
LM-6	-	-	-	-	-	-	-	4±0.1
LM-7	-	-	-	6±1.0	-	2±0.1	4±0.2	-
LM-8	-	2±0.1	-	2±0	-	-	-	-
LM-9	4±0.2	2±0	-	6±0.1	-	2±0	-	-
LM-10	-	-	-	-	-	2±0.1	4±0.2	-
LM-11	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-12	-	4±0.2	-	6±0.6	-	-	4±0	2±0
LM-13	-	2±0	-	-	-	-	-	-
LM-14	-	-	-	-	-	2	-	-
LM-15	-	2±0	-	-	-	2	-	2±0
LM-16	-	2±0.1	-	-	-	2	-	-
LM-17	-	6±0.8	-	-	-	-	2±0	-
LM-18	-	2±0.1	-	-	-	-	2±0	4±0.2
LM-19	-	2±0.1	-	-	-	3±0.1	2±0	4±0.2
LM-20	-	2±0.2	-	-	-	3±0.1	4±0.2	2±0
LM-21	-	2±0.1	-	4±0.2	-	-	-	-
LM-22	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-23	-	4±0.2	-	-	-	2±0.1	-	-
LM-24	6±0	-	-	-	-	-	-	-
LM-25	-	-	-	-	-	2	-	-
LM-26	-	-	-	-	-	2	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (mm); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma



Şekil 4.22. Bozulmuş tereyağı örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları

Çizelge 4.14. Bozulmuş tereyağı örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU)

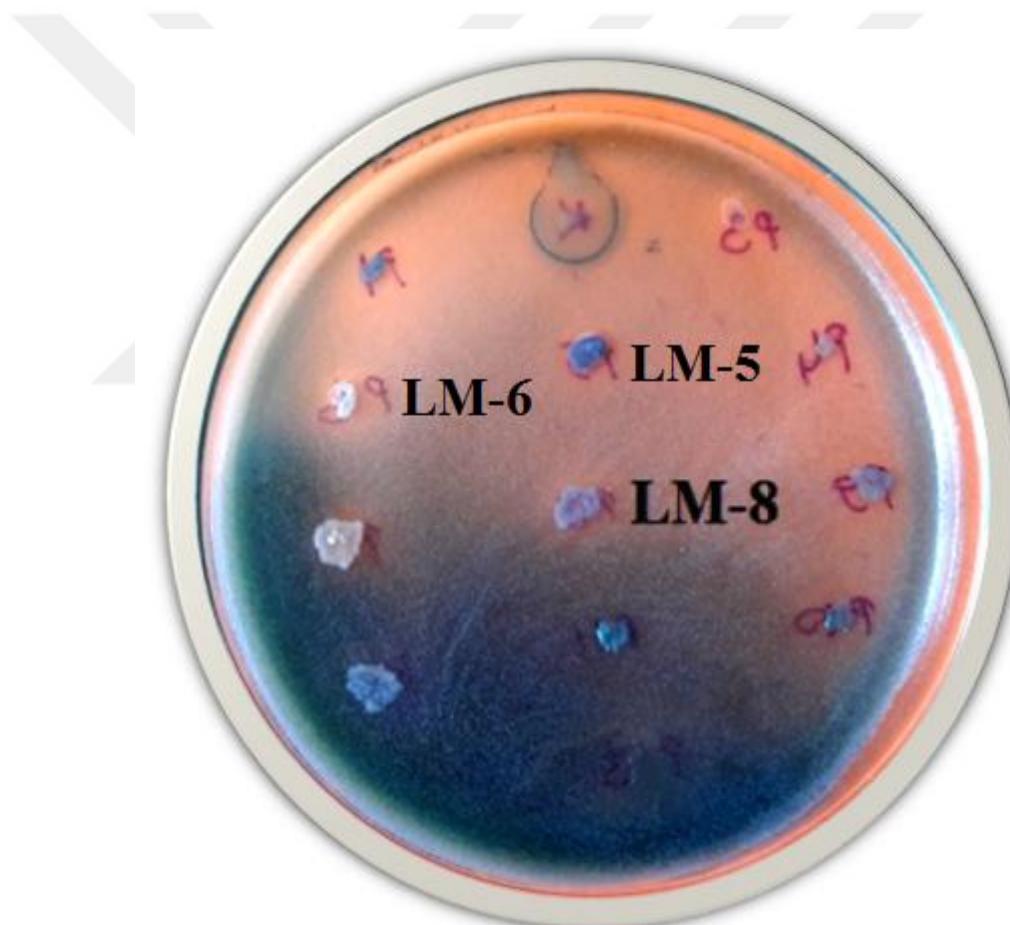
LM	BM-2	BM-3	BM-6	BM-11	BM-17	BM-26	BM-34	BM-35
LM-1	-	-	-	3.6±0.6	-	-	-	-
LM-2	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-3	-	-	-	1.6±0.2	-	-	-	-
LM-4	1.6±0.2	-	-	-	-	-	0.4±0	-
LM-5	1.6±0.4	0.4±0	-	-	-	-	-	-
LM-6	-	-	-	-	-	-	-	1.6±0.1
LM-7	-	-	-	3.6±1.0	-	0.4±0.1	1.6±0.2	-
LM-8	-	0.4±0.1	-	0.4±0	-	-	-	-
LM-9	1.6±0.2	0.4±0	-	3.6±0.1	-	0.4±0	-	-
LM-10	-	-	-	-	-	0.4±0.1	1.6±0.2	-
LM-11	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-12	-	1.6±0.2	-	3.6±0.6	-	-	1.6±0	0.4±0
LM-13	-	0.4±0	-	-	-	-	-	-
LM-14	-	-	-	-	-	0.4±0	-	-
LM-15	-	0.4±0	-	-	-	0.4±0	-	0.4±0
LM-16	-	0.4±0.1	-	-	-	0.4±0	-	-
LM-17	-	3.6±0.8	-	-	-	-	0.4±0	-
LM-18	-	0.4±0.1	-	-	-	-	0.4±0	1.6±0.2
LM-19	-	0.4±0.1	-	-	-	0.9±0.1	0.4±0	1.6±0.2
LM-20	-	0.4±0.2	-	-	-	0.9±0.1	1.6±0.2	0.4±0
LM-21	-	0.4±0.1	-	1.6±0.2	-	-	-	-
LM-22	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-23	-	1.6±0.2	-	-	-	0.4±0.1	-	-
LM-24	3.6±0	-	-	-	-	-	-	-
LM-25	-	-	-	-	-	0.4±0	-	-
LM-26	-	-	-	-	-	0.4±0	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (aU); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma

### **4.3.3. Diğer bozulmuş fermentte ürünlerden izole edilen bozucu maya sonuçları**

#### **4.3.3.1. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu maya sonuçları**

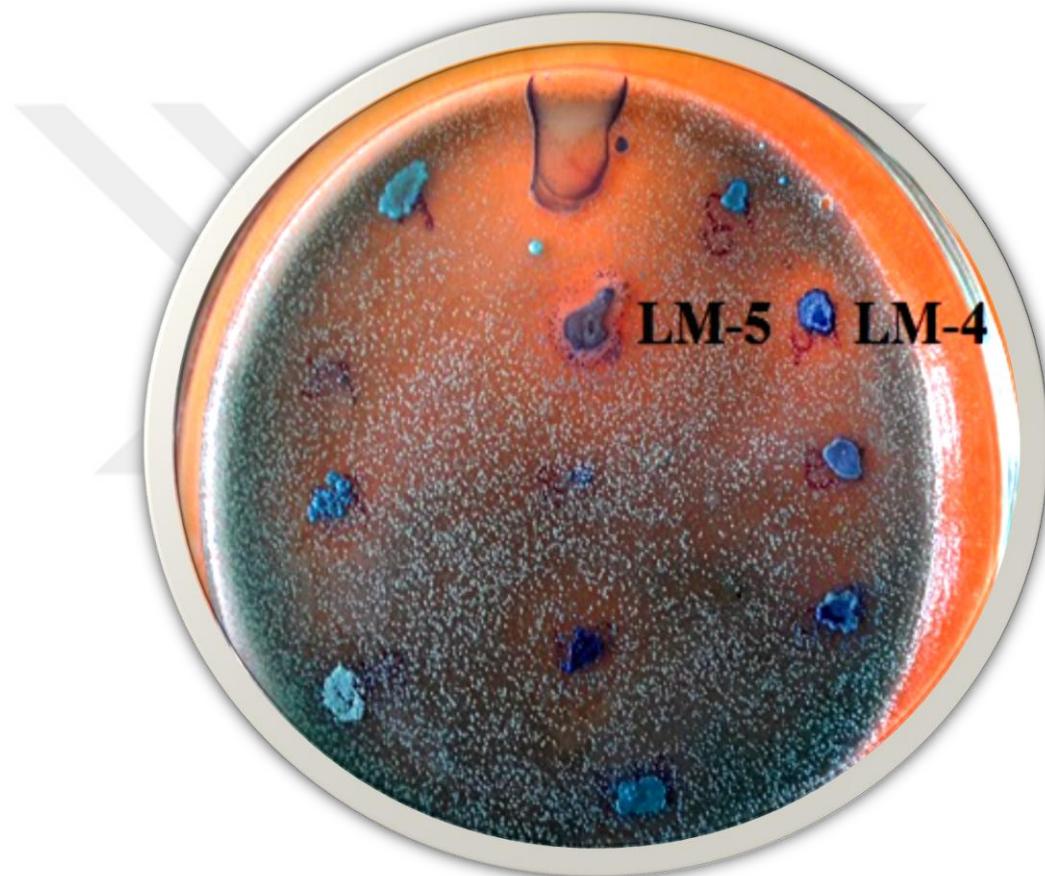
Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden alınan 25 maya suşunun Isparta pazarından tesadüfi olarak alınan bozulmuş zeytin örneğinden izole edilen bozucu maya suşlarına karşı killer aktivitesi değerlendirilmiştir. Sonuçlar çap üzerinden mm olarak standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.15'de ve Şekil 4.25'de, aU olarak Çizelge 4.16'da verilmiştir. Çalışma sonucunda bozulmuş zeytin örneğindeki bozucu mayalara karşı en yüksek killer aktivitenin LM-5, LM-6 ve LM-8 maya suşu tarafından gerçekleştiği tespit edilmiştir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. BM-43'e en yüksek etkiyi gösteren 5, 6 ve 8 numaralı mayanın inhibisyon zon çapı görüntüsü

Bozulmuş zeytinden izole edilen BM-47 bozucu mayasına karşı yapılan killer aktivite denemesi sonucunda LM-4 ve LM-5 mayalarının gösterdikleri killer etki

Şekil 4.24'de görülmektedir. Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'de killer aktivite oluşturan mayalar dışında killer aktivite gösteren mayalar Çizelge 4.15'te ve Şekil 4.25'de mm, Çizelge 4.16'da aU cinsinden ifade edilmiştir. Buna göre et ve süt ürünlerinden izole edilen bozucu mayalara karşı gerçekleştirilen killer aktiviteye göre bozulmuş zeytinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan 25 mayanın etki mekanizmaları düşük düzeyde gerçekleşmiştir. Zon aralıkları bakımından et ve süt grubundan izole edilen bozucu mayalara göre killer aktivite değerleri yüksek bulunmuştur.

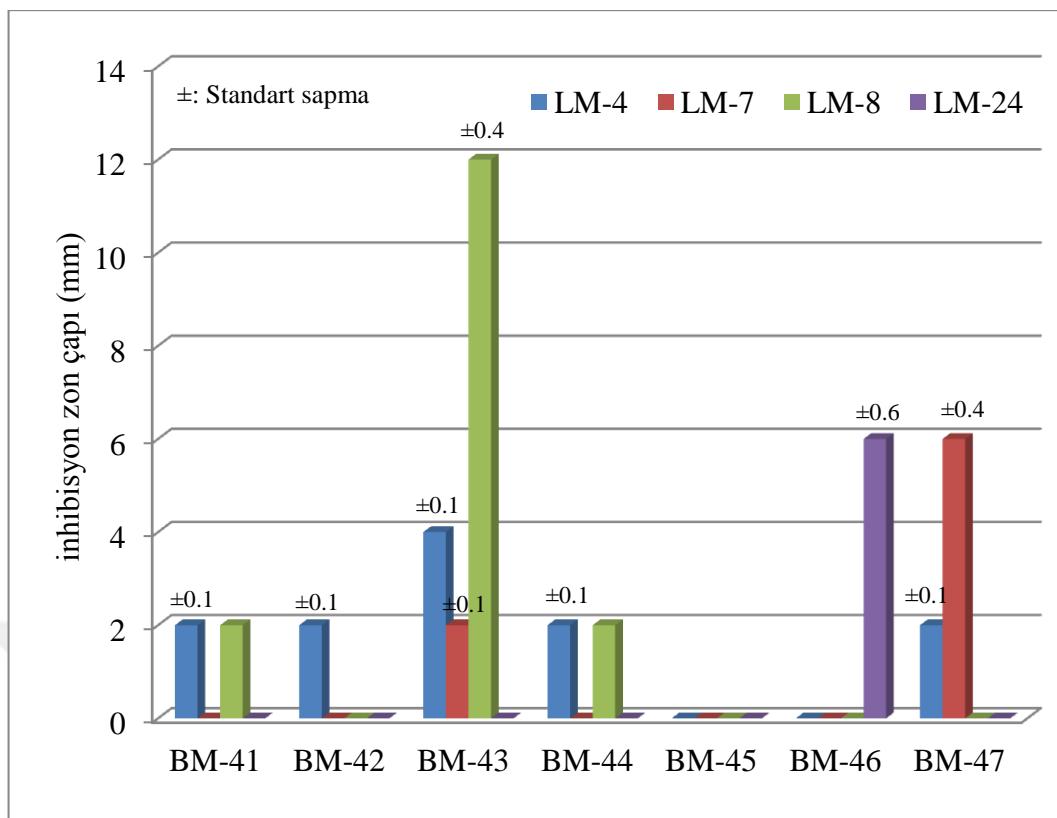


Şekil 4.24. BM-47'ye karşı killer etki gösteren 4 ve 5 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.15. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)

LM	BM-41	BM-42	BM-43	BM-44	BM-45	BM-46	BM-47
LM-1	-	-	2±0.1	-	-	-	-
LM-3	2±0.1	-	2±0.1	-	-	4±0.2	4±0.3
LM-4	2±0.1	2±0.1	4±0.1	2±0.1	-	-	2±0.1
LM-5	-	-	-	4±0.1	2±0.1	2±0.1	4±0.2
LM-6	-	-	2±0.1	-	-	-	-
LM-7	-	-	2±0.1	-	-	-	6±0.4
LM-8	2	-	12±1.4	2±0	-	-	-
LM-9	-	4±0.1	8±0.6	-	6±0.6	-	-
LM-10	4±0.2	-	2±0.1	-	8±1.0	-	-
LM-11	-	-	4±0.3	-	4±0.1	-	-
LM-12	-	-	2±0	-	-	4±0.1	-
LM-13	-	-	4±0.1	2±0	4±0.1	-	-
LM-14	4±0.1	2±0	-	-	-	-	-
LM-15	4±0.1	2±0.1	2±0	-	-	-	2±0
LM-16	-	-	-	-	2±0	-	-
LM-17	2	-	2±0	-	-	-	-
LM-18	-	-	-	-	2±0	-	-
LM-19	-	-	-	-	2±0	-	2±0
LM-20	-	-	-	-	2±0.1	-	6±0.4
LM-21	4±0.2	-	2±0	-	4±0.1	-	2±0
LM-22	2±0	-	-	-	-	-	-
LM-23	-	-	-	-	-	-	-
LM-24	-	-	-	-	-	6±0.6	-
LM-25	-	-	-	-	-	-	-
LM-26	-	-	-	-	-	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (mm); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma



Şekil 4.25. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları

Çizelge 4.16. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU)

LM	BM-41	BM-42	BM-43	BM-44	BM-45	BM-46	BM-47
LM-1	-	-	0.4±0.1	-	-	-	-
LM-3	0.4±0.1	-	0.4±0.1	-	-	1.6±0.2	1.6±0.3
LM-4	0.4±0.1	0.4±0.1	1.6±0.1	0.4±0.1	-	-	0.4±0.1
LM-5	-	-	-	1.6±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1	1.6±0.2
LM-6	-	-	0.4±0.1	-	-	-	-
LM-7	-	-	0.4±0.1	-	-	-	3.6±0.4
LM-8	0.4±0	-	14.4±1.4	0.4±0	-	-	-
LM-9	-	1.6±0.1	6.4±0.6	-	3.6±0.6	-	-
LM-10	1.6±0.2	-	0.4±0.1	-	6.4±1.0	-	-
LM-11	-	-	1.6±0.3	-	1.6±0.1	-	-
LM-12	-	-	0.4±0	-	-	1.6±0.1	-
LM-13	-	-	1.6±0.1	0.4±0	1.6±0.1	-	-
LM-14	1.6±0.1	0.4±0	-	-	-	-	-
LM-15	1.6±0.1	0.4±0.1	0.4±0	-	-	-	0.4±0
LM-16	-	-	-	-	0.4±0	-	-
LM-17	0.4±0	-	0.4±0	-	-	-	-
LM-18	-	-	-	-	0.4±0	-	-
LM-19	-	-	-	-	0.4±0	-	0.4±0
LM-20	-	-	-	-	0.4±0.1	-	3.6±0.4
LM-21	1.6±0.2	-	0.4±0	-	1.6±0.1	-	0.4±0
LM-22	0.4±0	-	-	-	-	-	-
LM-23	-	-	-	-	-	-	-
LM-24	-	-	-	-	-	3.6±0.6	-
LM-25	-	-	-	-	-	-	-
LM-26	-	-	-	-	-	-	-

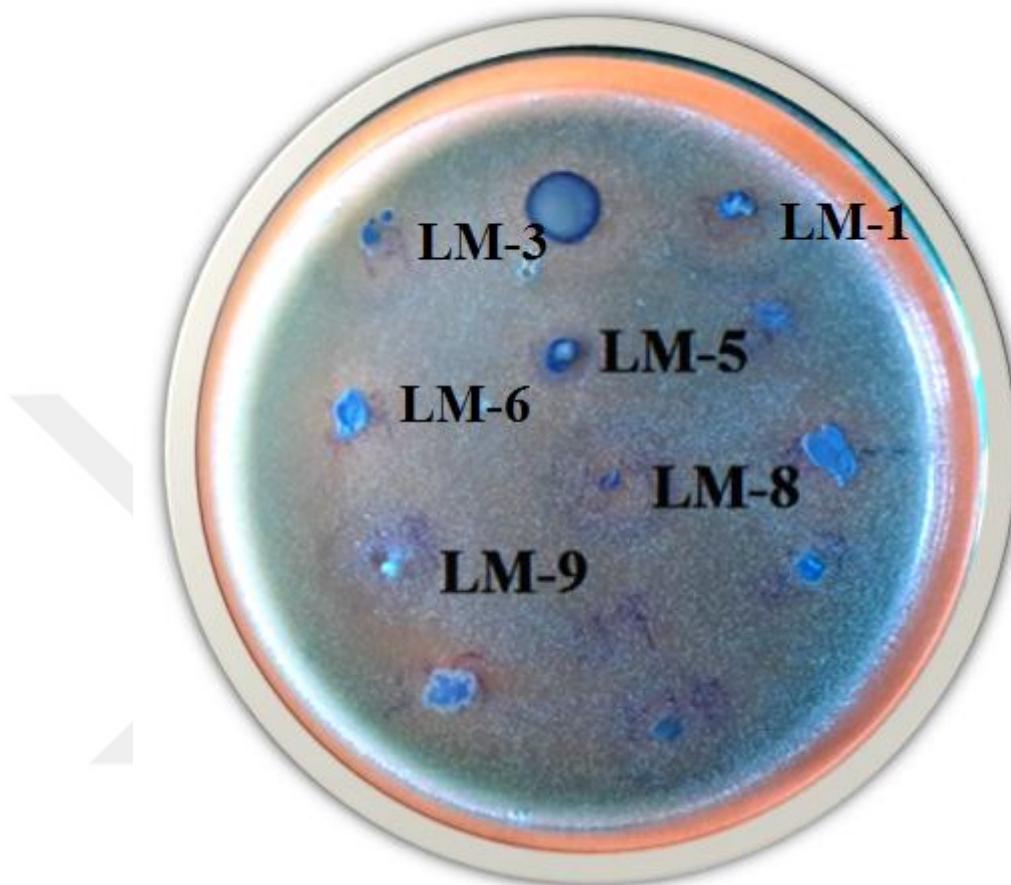
BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları

Zon aktivitesi (aU); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma

#### 4.3.3.2. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu maya sonuçları

Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden alınan 25 maya izolatlarının bozulmuş turşu örneğinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktivite denemesi gerçekleştirilmiştir. Buna göre yapılan denemeler sonucunda bozucu turşu mayalarına karşı en yüksek killer aktiviteyi LM-8 mayası gerçekleştirmiştir. En yüksek zon duyarlılığı gösteren bozucu maya BM-49 olmuştur (Şekil 4.26). Bozulmuş turşudan izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktivite denemelerinde diğer ürün gruplarına göre etki derecesi açısından düşük, zon çapı büyülüüğü bakımından yüksek bir zon aktivitesi gözlemlenmiştir. Ayrıca BM-49

bozucu mayasına etki eden maya suşları dışında killer aktivite sonuçları standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.17'de ve Şekil 4.27'de mm, Çizelge 4.18'de aU bakımından ifade edilmiştir.

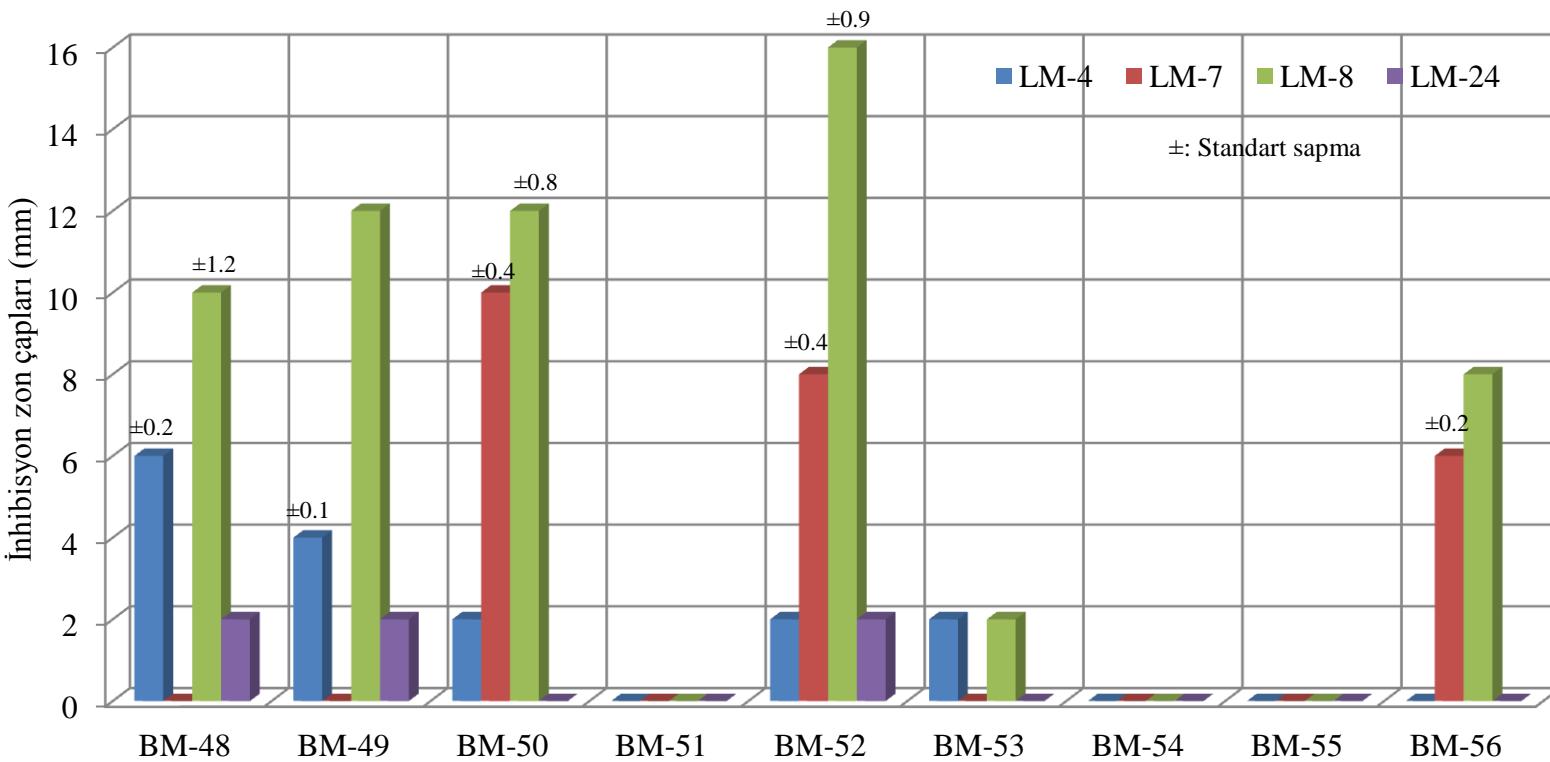


Şekil 4.26. BM-49 bozucu mayasına karşı 1, 3, 5, 6, 8 ve 9 numaralı mayaların inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.17. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların inhibisyon zon capları (mm)

LM	BM-48	BM-49	BM-50	BM-51	BM-52	BM-53	BM-54	BM-55	BM-56
LM-1	4±0.2	-	4±0.2	-	-	-	-	-	10±0
LM-3	6±0.4	6±0.1	2±0.1	-	-	-	-	-	8±0.2
LM-4	6±0.2	4±0.1	2±0	-	2±0	2±0	-	-	-
LM-5	-	6±0.2	-	-	-	-	-	-	4±0.2
LM-6	-	6±0.4	-	-	-	-	-	-	4±0
LM-7	-	-	10±1.4	-	8±1.4	-	-	-	6±0.2
LM-8	10±1.2	12±1.4	12±2.8	-	16±1.9	2±0	-	-	8±0
LM-9	-	8±1.0	4±0.2	2	-	-	-	-	4±0
LM-10	-	4±0.2	-	-	2±0	-	-	-	-
LM-11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-13	8±0.4	6±0.4	6±0.8	-	4±0.4	-	-	-	10±1.8
LM-14	-	-	4±0.2	-	-	-	-	-	-
LM-15	-	2±0.1	-	-	-	-	-	-	-
LM-16	-	4±0.1	2±0	-	-	-	-	-	-
LM-17	2±0.1	6±0.6	6±1.2	-	4±1.0	2±0	2±0	-	-
LM-18	2±0.1	-	-	2	-	-	-	-	-
LM-19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-20	-	-	-	-	-	-	-	-	4±0.6
LM-21	-	4±0.1	2±0	-	2±0.1	-	-	-	-
LM-22	-	4±0.2	-	-	4±0.1	-	-	-	-
LM-23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-24	2±0	2±0	-	-	2±0	-	-	-	-
LM-25	2±0	-	-	-	6±0.1	-	-	-	-
LM-26	4±0.2	-	-	-	-	-	-	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (mm); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma



Şekil 4.27. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilmiş en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları

Çizelge 4.18. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU)

LM	BM-48	BM-49	BM-50	BM-51	BM-52	BM-53	BM-54	BM-55	BM-56
LM-1	1.6±0.2	-	1.6±0.2	-	-	-	-	-	10±0
LM-3	3.6±0.4	3.6±0.1	0.4±0.1	-	-	-	-	-	6.4±0.2
LM-4	3.6±0.2	1.6±0.1	0.4±0	-	0.4±0	0.4±0	-	-	-
LM-5	-	3.6±0.2	-	-	-	-	-	-	1.6±0.2
LM-6	-	3.6±0.4	-	-	-	-	-	-	1.6±0
LM-7	-	-	10±1.4	-	6.4±1.4	-	-	-	3.6±0.2
LM-8	10±1.2	14.4±1.4	14.4±2.8	-	25.6±1.9	0.4±0	-	-	6.4±0
LM-9	-	6.4±1.0	1.6±0.2	0.4±0	-	-	-	-	1.6±0
LM-10	-	1.6±0.2	-	-	0.4±0	-	-	-	-
LM-11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-13	6.4±0.4	3.6±0.4	3.6±0.8	-	1.6±0.4	-	-	-	10±1.8
LM-14	-	-	1.6±0.2	-	-	-	-	-	-
LM-15	-	0.4±0.1	-	-	-	-	-	-	-
LM-16	-	1.6±0.1	0.4±0	-	-	-	-	-	-
LM-17	0.4±0.1	3.6±0.6	3.6±1.2	-	1.6±1.0	0.4±0	0.4±0	-	-
LM-18	0.4±0.1	-	-	0.4±0	-	-	-	-	-
LM-19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-20	-	-	-	-	-	-	-	-	1.6±0.6
LM-21	-	1.6±0.1	0.4±0	-	0.4±0.1	-	-	-	-
LM-22	-	1.6±0.2	-	-	1.6±0.1	-	-	-	-
LM-23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM-24	0.4±0	0.4±0	-	-	0.4±0	-	-	-	-
LM-25	0.4±0	-	-	-	3.6±0.1	-	-	-	-
LM-26	1.6±0.2	-	-	-	-	-	-	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (aU); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma

#### **4.3.3.3. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu maya sonuçları**

Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 25 maya izolatına karşı bozulmuş sirke örneğinden izole edilen 2 farklı bozucu maya izolatına karşı killer aktivite denemesi gerçekleştirilmiştir. Bunun sonucunda BM-58 bozucu mayasına karşı 25 mayada killer aktivite gözlemlenmemiştir. BM-57 bozucu mayasına karşı ise düşük killer aktivite tespit edilmiştir. Bozucu BM-57'ye etki eden LM-5 killer mayası Şekil 4.28'de görülmektedir. Ayrıca bozulmuş sirkeden izole edilen diğer bozucu mayalara karşı denemesi gerçekleştirilen diğer 24 mayanın killer zon aktivite sonuçları standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.18'de ve Şekil 4.29'da mm, Çizelge 4.19'da aU olarak ifade edilmiştir.

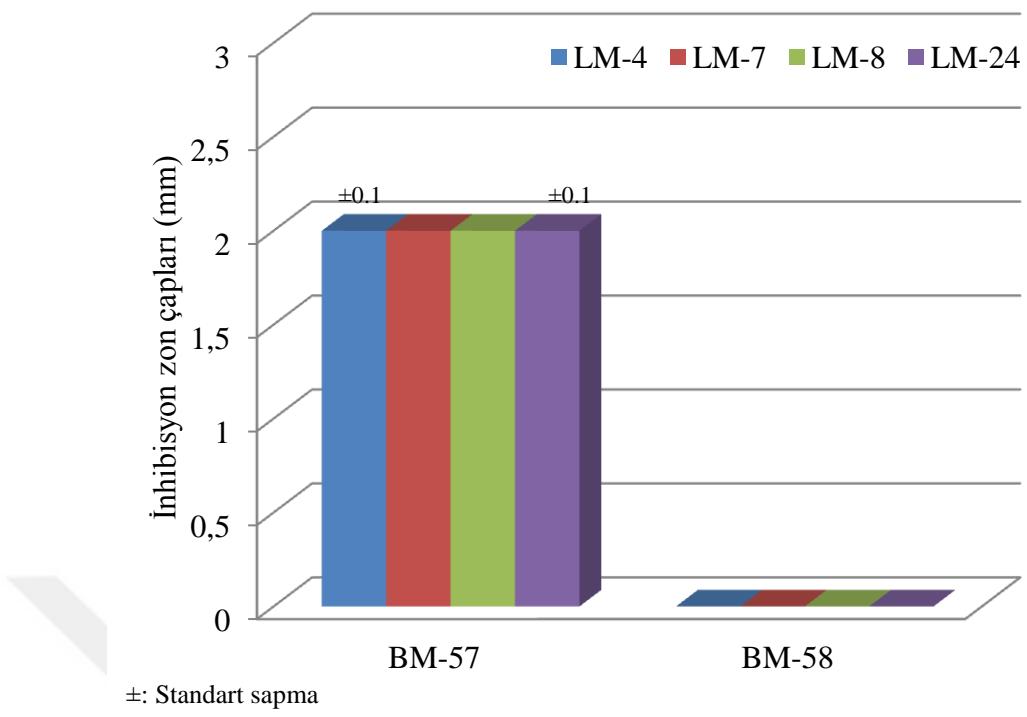


Şekil 4.28. BM-57 bozucu mayasına karşı 4, 5, 6, 7 ve 10 numaralı mayanın inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.19. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan maya suşlarının inhibisyon zon çapları (mm)

LM	BM-57	BM-58
LM-1	-	-
LM-3	-	-
LM-4	2±0.1	-
LM-5	4±0.1	-
LM-6	-	-
LM-7	2±0	-
LM-8	2±0	-
LM-9	-	-
LM-10	-	-
LM-11	-	-
LM-12	-	-
LM-13	-	-
LM-14	2±0	-
LM-15	-	-
LM-16	-	-
LM-17	-	-
LM-18	-	-
LM-19	-	-
LM-20	-	-
LM-21	-	-
LM-22	-	-
LM-23	-	-
LM-24	2±0.1	-
LM-25	-	-
LM-26	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (mm); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma



Şekil 4.29. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı seçilen en iyi killer aktivite gösteren mayaların oluşturdukları inhibisyon zon çapları

Çizelge 4.20. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların killer aktivite değerleri (aU)

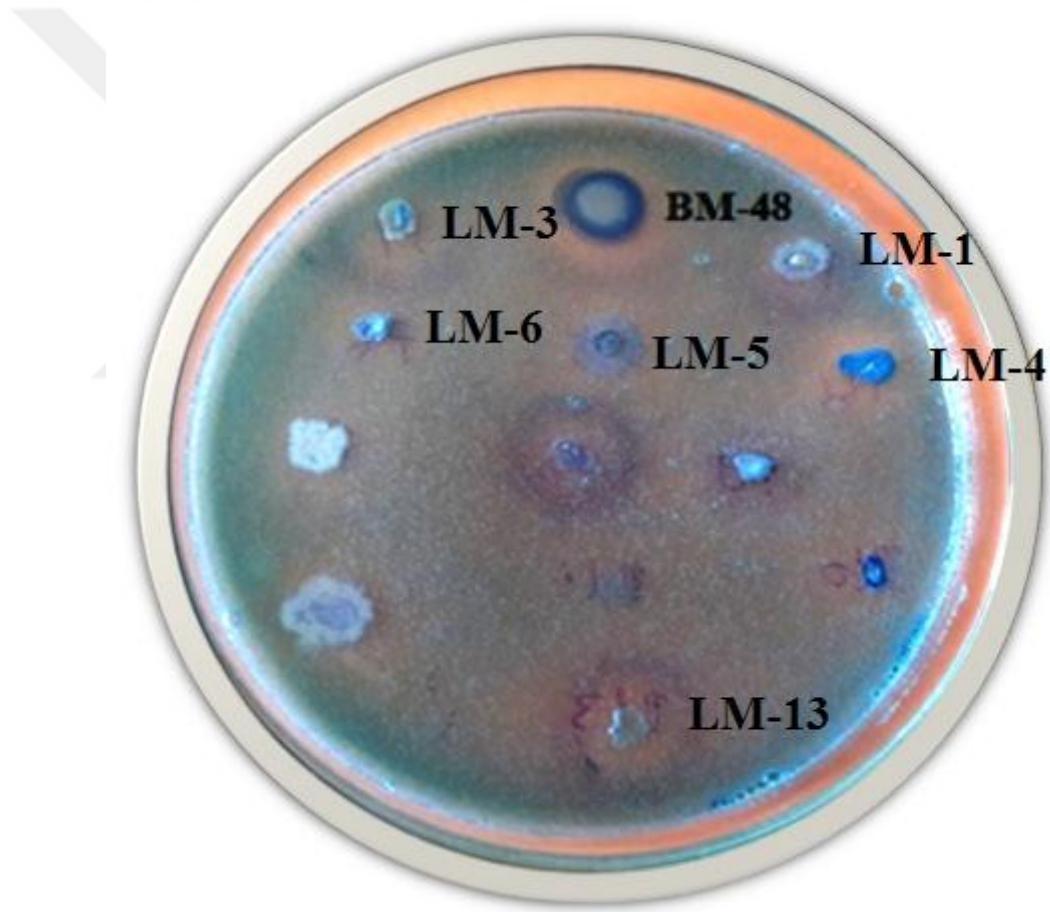
LM	BM-57	BM-58
LM-1	-	-
LM-3	-	-
LM-4	0.4±0.1	-
LM-5	1.6±0.1	-
LM-6	-	-
LM-7	0.4±0	-
LM-8	0.4±0	-
LM-9	-	-
LM-10	-	-
LM-11	-	-
LM-12	-	-
LM-13	-	-
LM-14	0.4±0	-
LM-15	-	-
LM-16	-	-
LM-17	-	-
LM-18	-	-
LM-19	-	-
LM-20	-	-
LM-21	-	-
LM-22	-	-
LM-23	-	-
LM-24	0.4±0.1	-
LM-25	-	-
LM-26	-	-

BM: Bozucu maya kodları; LM: Killer özelliği araştırılan maya kodları  
Zon aktivitesi (aU); -: Zon oluşumu gözlenmemiştir; ±: Standart sapma

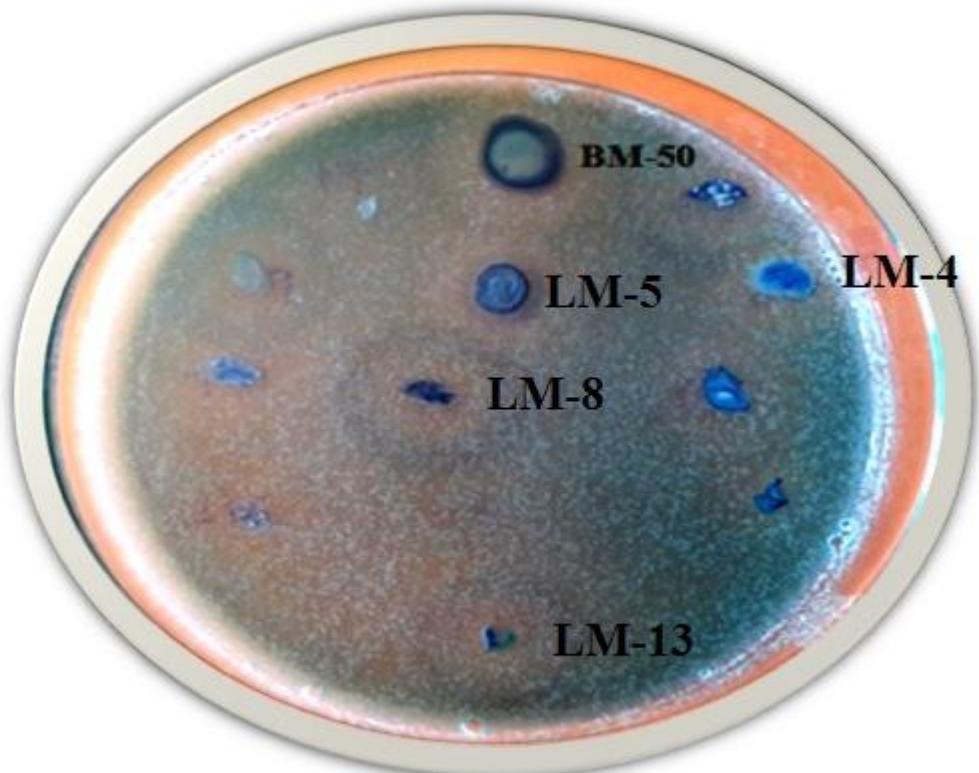
#### 4.4. Killer Özellikli Ticari Şarap Maya Suşunun Bozucu Mayalara Etkisi

Killer özellikli ticari bir şarap mayası olan *S. cerevisiae* maya suşunun 19 adet bozucu mayaya karşı killer aktivitesi araştırılmıştır. pH 4'e ayarlanmış sitrat-fosfat tampon içerisinde çözündürülen YEPD-MB katı besiyerinde agar difüzyon yöntemiyle denemeler gerçekleştirilmiştir. Bozulmuş sirke, zeytin ve turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı referans *S. cerevisiae* denenmiş ve bozulmuş sirkeden izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktivite sonuçları Çizelge 4.21'de ve Şekil 4.34'te mm, Çizelge 4.22'de aU, bozulmuş zeytinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktivite sonuçları Çizelge 4.23'te ve Şekil

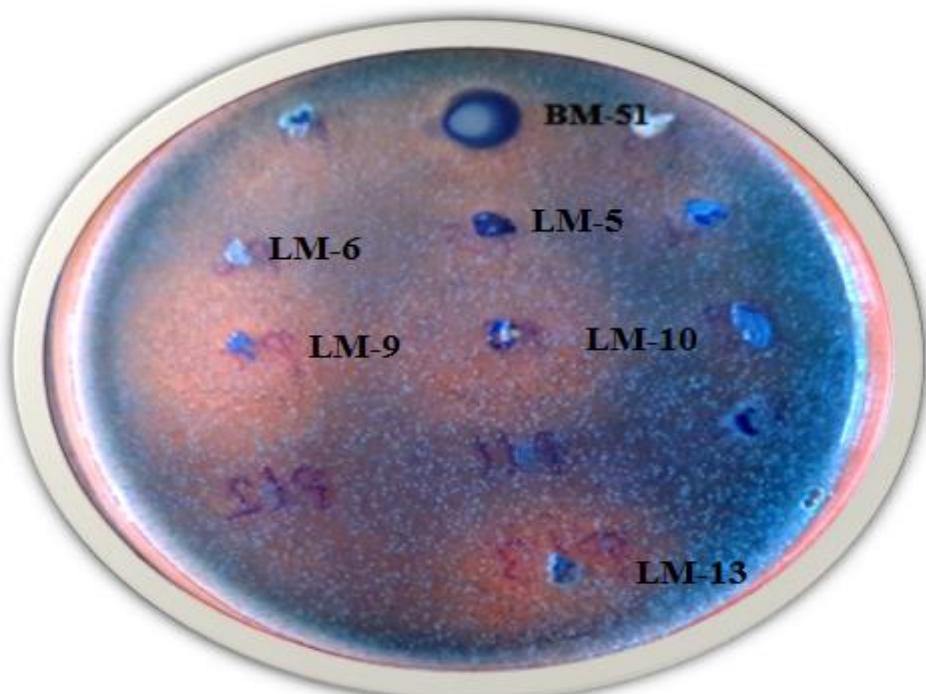
4.36'da mm, Çizelge 4.24'de aU, bozulmuş turşudan izole edilen bozucu mayalara karşı sonuçlar Çizelge 4.24'de ve Şekil 4.38'de mm, Çizelge 4.25'te aU cinsinden rapor edilmiştir. Buna göre killer özellikli ticari bir şarap mayası olan *S. cerevisiae*, BM-42, BM-43 ve BM-52 bozucu mayalarına karşı killer aktivite etkisi gösterememiştir. Bu durumun sebebinin kullanılan tampon çözeltisinin pH'sından, killer maya izolatının bozucu maya ile aynı tür maya izolatı olmasından ya da inkübasyon sıcaklığından kaynaklanabileceğinin düşünülmektedir. Ayrıca bozulmuş turşu, sirke ve zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara etki eden *S. cerevisiae* killer maya suşunun zon aktivitesi Şekil 4.30, Şekil 4.31, Şekil 4.32, Şekil 4.33, Şekil 4.35, ve Şekil 4.37'da gösterilmiştir.



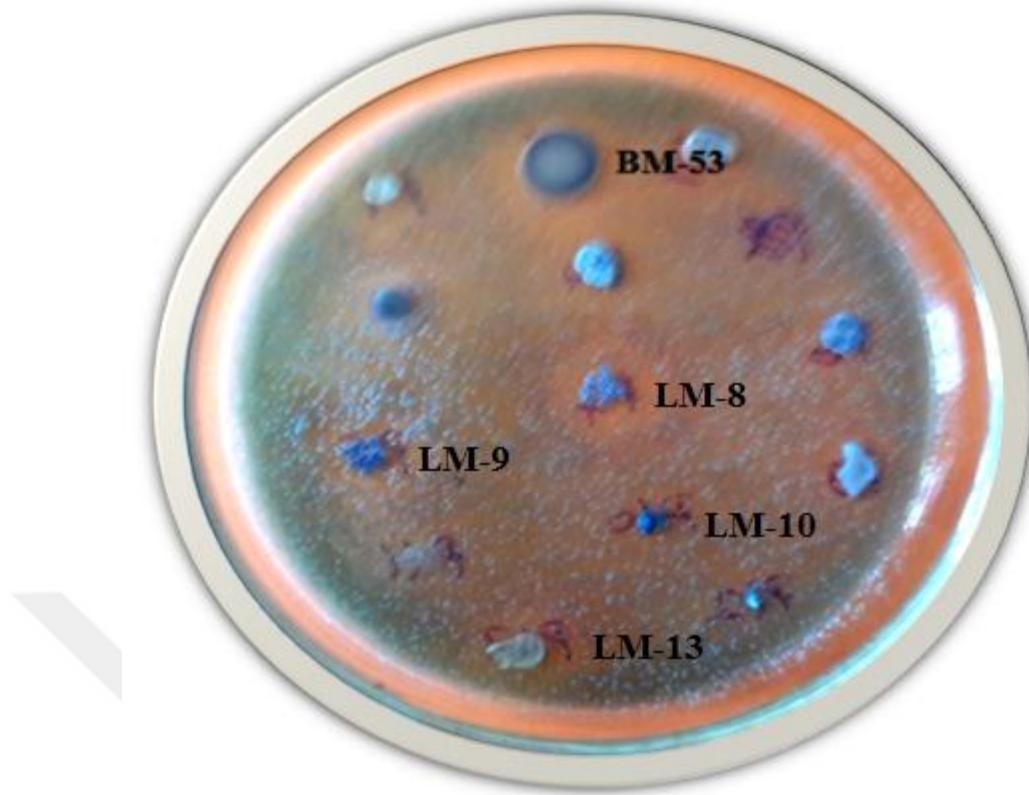
Şekil 4.30. M1 bozucu mayasına karşı ticari killer referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü



Şekil 4.31. M7 bozucu mayasına karşı ticari killer referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü



Şekil 4.32. M8 bozucu mayasına karşı ticari killer referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü



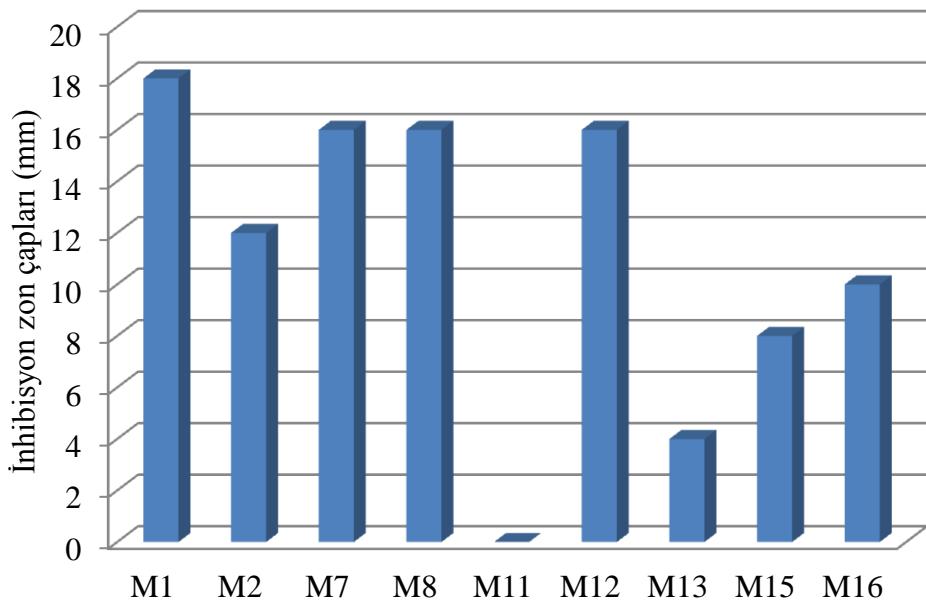
Şekil 4.33. M12 bozucu mayasına karşı ticari killer referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.21. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun inhibisyon zon çapları (mm)

K	Turşu	Zon çapı (mm)
K	M1	18
K	M2	12
K	M7	16
K	M8	16
K	M11	-
K	M12	16
K	M13	4
K	M15	8
K	M16	10

K: Referans *S. cerevisiae* killer suşu

-: Zon oluşumu gözlenmemiştir



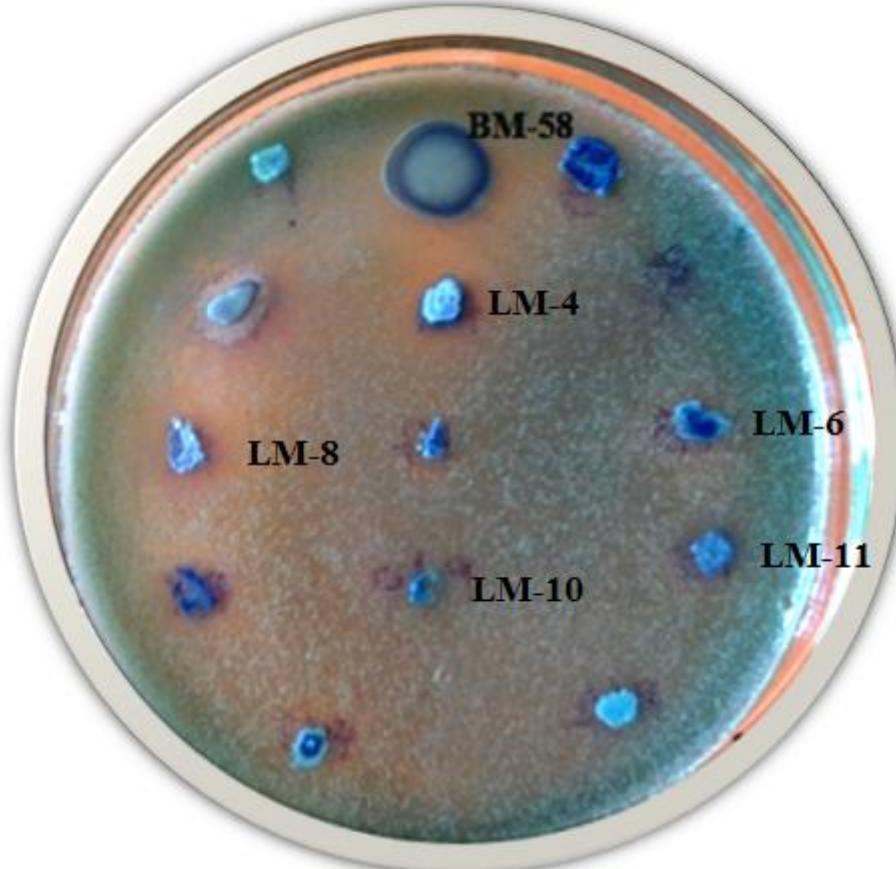
Şekil 4.34. Ticari referans killer suşunun bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı inhibisyon zon çapı

Çizelge 4.22. Bozulmuş turşu örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun killer aktivite değerleri (aU)

K	Turşu	Zon çapı (aU)
K	M1	32.4
K	M2	14.4
K	M7	25.6
K	M8	25.6
K	M11	-
K	M12	25.6
K	M13	1.6
K	M15	6.4
K	M16	10

K: Referans *S. cerevisiae* killer suşu

-: Zon oluşumu gözlenmemiştir

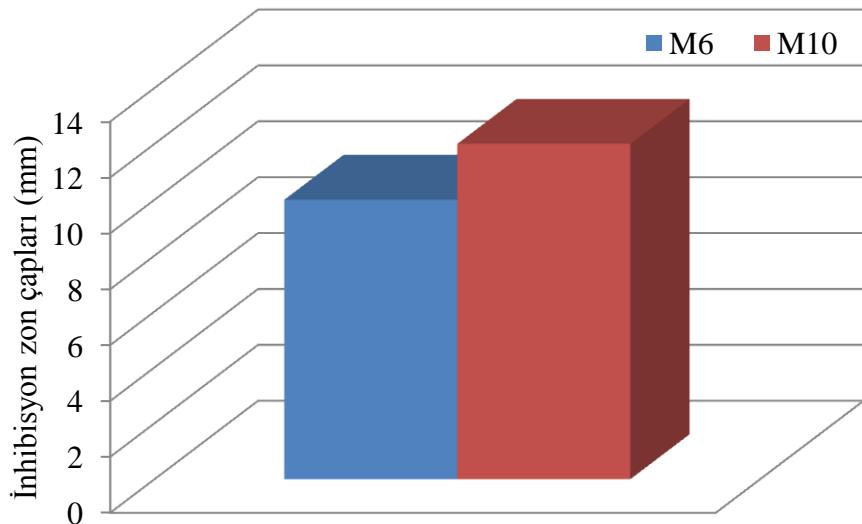


Şekil 4.35. M10 bozucu mayasına karşı ticari killer referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.23. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun inhibisyon zon çapları (mm)

K	Sirke	Zon çapı (mm)
K	M6	10
K	M10	12

K: Referans *S. cerevisiae* killer suşu

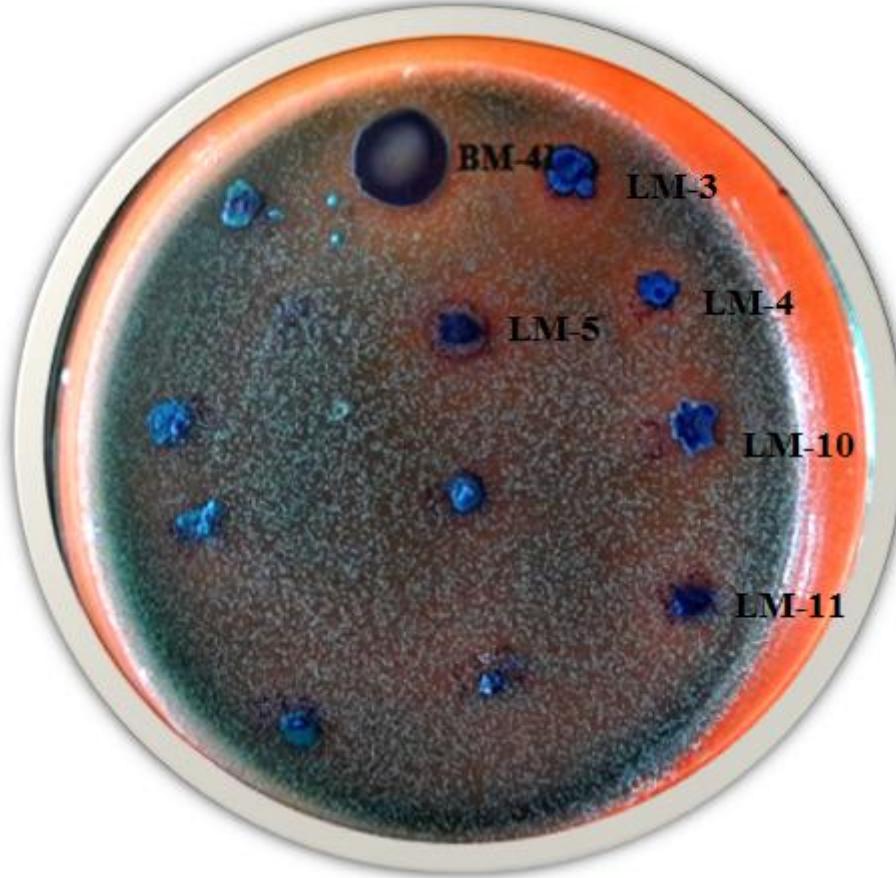


Şekil 4.36. Ticari referans killer suşunun bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı inhibisyon zon çapı

Çizelge 4.24. Bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun killer aktivite değerleri (aU)

K	Sirke	Zon çapı (aU)
K	M6	10
K	M10	14.4

K: Referans *S. cerevisiae* killer suşu



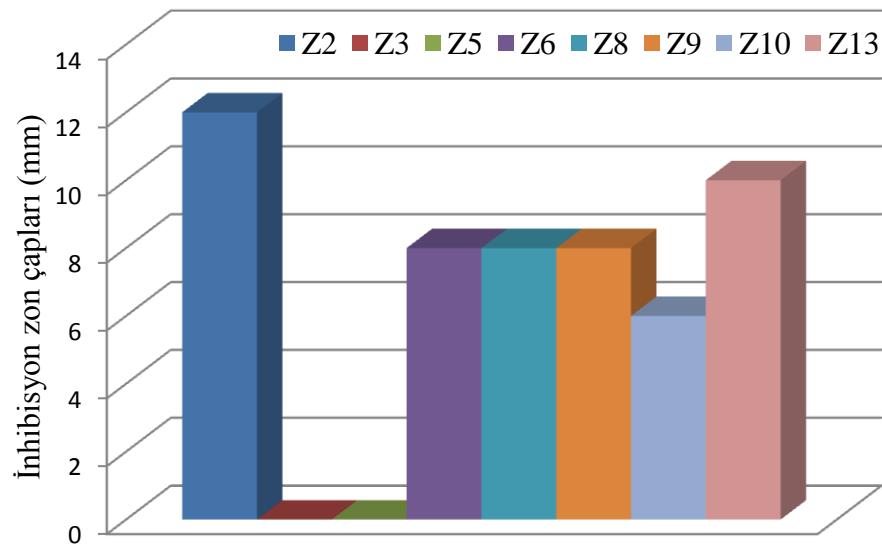
Şekil 4.37. Z2 bozucu mayasına karşı ticari referans suşunun inhibisyon zon çapı görüntüsü

Çizelge 4.25. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun inhibisyon zon çapları (mm)

K	Zeytin	Zon çapı (mm)
K	Z2	12
K	Z3	-
K	Z5	-
K	Z6	8
K	Z8	8
K	Z9	8
K	Z10	6
K	Z13	10

K: Referans *S. cerevisiae* killer suşu

-: Zon oluşumu gözlenmemiştir



Şekil 4.38. Ticari referans killer suşunun bozulmuş sirke örneklerinden izole edilen bozucu mayalara karşı inhibisyon zon çapı

Çizelge 4.26. Bozulmuş zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara ticari referans killer suşunun killer aktivite değerleri (aU)

K	Zeytin	Zon çapı (aU)
K	Z2	14.4
K	Z3	-
K	Z5	-
K	Z6	6.4
K	Z8	6.4
K	Z9	6.4
K	Z10	3.6
K	Z13	10

K: Referans *S. cerevisiae* killer suşu

-: Zon oluşumu gözlenmemiştir

## **5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR**

Yapılan in-vitro çalışmaları sonucu katı besiyerinde bozucu mayalara karşı zon oluşturduğu gözlenen mayaların killer özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Tez çalışmasında, kantitatif testlerden elde edilen sonuçlara göre mayaların killer aktivite düzeyi belirlenmeye çalışılmıştır. Killer aktivite düzeyi öncelikli olarak inhibisyon etki düzeyleri, killer mayaların bozucu mayalara karşı katı besiyerinde oluşturduğu zon çapı büyülüğu ve farklı ürün gruplarına göre killer aktivite aralıkları dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Ayrıca zon çapı büyülüklükleri inhibisyon etki düzeyi ve etki spektrumu olarak iki farklı oran olarak killer aktivite değerlendirilmiştir.

İnhibisyon etki düzeyi, killer özelliği araştırılan maya izolatlarının bozucu mayalar üzerinde göstermiş oldukları killer aktivitelerinin yüzdesel değeri olarak ifade edilmiştir. Killer özelliği araştırılan mayaların bozulmuş gıdalardan izole edilen ve bozucu mayalar olarak adlandırılan toplam 58 adet mayaya karşı göstermiş olduğu inhibisyon etki düzeyleri Çizelge 5.1'de verilmiştir. İnhibisyon etki düzeylerinin değerlendirilmesinde, killer özelliği araştırılan her bir maya izolatının, bozucu mayalara karşı göstermiş olduğu killer zon aktivitesinin etki ettiği bozucu maya sayısı ve bu sayının yüzdesel oranını dikkate alınmıştır.

Çizelge 5.1. Killer özelliği araştırılan mayaların bozucu mayalara (58 adet maya) karşı etki eden maya sayısı ve yüzdesel etki düzeyleri

Killer özelliği araştırılan maya kodları (LM)	Etki Düzeyleri (adet)	% Etki Düzeyi
LM-1	10	17
LM-2	1	2
LM-3	12	21
LM-4	26	45
LM-5	22	38
LM-6	12	21
LM-7	24	41
LM-8	19	33
LM-9	20	35
LM-10	14	24
LM-11	2	3
LM-12	11	19
LM-13	18	31
LM-14	14	24
LM-15	17	29
LM-16	15	26
LM-17	19	33
LM-18	21	36
LM-19	16	28
LM-20	18	31
LM-21	17	29
LM-22	12	21
LM-23	12	21
LM-24	22	38
LM-25	13	22
LM-26	7	12

Çizelge 5.1'e göre değerlendirme yapıldığında gerçekleştirilen tez çalışmasındaki verilere göre en yüksek etki düzeyine sahip LM, ağız sütünden izole edilmiş LM-4 mayasıdır. %43'lük bir etki düzeyine sahip maya suşu en yüksek killer aktiviteye

sahiptir. LM-4'ten sonra en yüksek ikinci etki düzeyine sahip maya suyu %41'lik etki düzeyi ile yoğurttan izole edilen LM-7 mayasıdır. En düşük etki düzeyine sahip maya suyu ise %2'lik etki düzeyi ile kefirden izole edilen LM-2 mayasıdır. Etki düzeyleri göz önünde bulundurulduğunda killer özelliği araştırılan 26 mayanın her biri, sucuk, sosis, peynir, tereyağı, kaymak, yoğurt, sirke, zeytin ve turşuda bozulmaya neden olan ve izole edilen bozucu mayaların tamamına killer aktivite gösterememiştir. Örneğin sirke anasından izole edilen killer özelliği araştırılan LM-11 maya izolatı yalnız zeytinden izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktivite gösterirken, ağız sütünden izole edilen LM-4 mayası bozulmuş ürün gruplarının tamamından izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktivite göstermiştir.

Killer zon aktivite düzeyi, inhibisyon etki düzeyinin yanısıra katı besiyerinde oluşan zon çapı büyüklüğü de dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Buna göre killer aktivite düzeyi şu şekilde ifade edilmiştir; 1-3 mm arasında oluşan zon çapına göre killer aktivite “+”, 3-5 mm arasında oluşan zon çapına göre killer aktivite “++”, 5-8 mm arasında oluşan zon çapına göre killer aktivite ise “+++” şeklinde ifade edilmiştir.

Killer aktivitenin zon çapı ile yapılan değerlendirme sonucunda killer özelliği araştırılan 26 mayanın, et ürünlerinde (sucuk, sosis) bozulmaya neden olan 11 bozucu mayaya karşı göstermiş olduğu killer aktivitenin sayısı ve bu 11 bozucu mayaya karşı killer aktivitenin yüzdesel ifadesi Çizelge 5.2'de verilmiştir.

Çizelge 5.2. Bozulmuş et örneklerinden izole edilen bozucu mayalara etkisi araştırılan killer özellikli mayaların killer etki sayısı ve yüzdesel değerleri

LM (Killer özelliği araştırılan maya kodları)	1-3 mm (+)		3-5 mm (++)		5-8 mm (+++)	
	Etki Sayısı	Etki Yüzdesi (%)	Etki Sayısı	Etki Yüzdesi (%)	Etki Sayısı	Etki Yüzdesi (%)
LM-1	1	%9	-	-	-	-
LM-2	1	%9	-	-	-	-
LM-3	3	%27	-	-	-	-
LM-4	4	%36	2	%19	-	-
LM-5	5	%45	1	%9	-	-
LM-6	4	%36	-	-	-	-
LM-7	5	%45	-	-	-	-
LM-8	3	%27	-	-	-	-
LM-9	4	%36	-	-	-	-
LM-10	3	%27	-	-	-	-
LM-11	-	-	-	-	-	-
LM-12	2	%18	-	-	-	-
LM-13	5	%45	-	-	-	-
LM-14	3	%27	-	-	-	-
LM-15	3	%27	1	9	-	-
LM-16	6	%55	-	-	-	-
LM-17	3	%27	-	-	-	-
LM-18	3	%27	1	9	-	-
LM-19	5	%45	-	-	-	-
LM-20	4	%36	1	9	-	-
LM-21	3	%27	-	-	-	-
LM-22	4	%36	-	-	-	-
LM-23	5	%45	-	-	-	-
LM-24	4	%36	1	9	-	-
LM-25	5	%45	-	-	-	-
LM-26	2	%18	-	-	-	-

Zon çapının büyülüklüğü açısından yapılan değerlendirme sonucunda et ürünlerindeki bozucu mayalara karşı en iyi killer zon aktivitesini %36 ‘+’ ve %19 ‘++’ inhibisyon zon aktivitesi ile ağız sütünden izole edilen LM-4 maya suşunun gösterdiği görülmüştür. LM-4 mayası dışında LM-5, LM-15, LM-18, LM-20 ve LM-24 mayaları ‘+’ ve ‘++’ olarak ifade edilen zon çapı değerlerinde et ürünlerinden izole edilen 11 bozucu mayaya karşı killer zon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca et ürünlerinden izole edilen bozucu mayalara karşı ‘+++’ zon aktivitesinde herhangi bir killer aktivite değeri gözlenmemiştir. Zon çapı açısından genel olarak et ürünlerinde bozulmaya neden olan bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan 26 mayanın ‘+’ olarak ifade edilen değerler arasında en yüksek killer aktiviteyi %55 ile tarhanadan izole edilen LM-16 mayasının gösterdiği belirlenmiştir. LM-16 mayası dışında %45’lik killer aktivite yüzdesi ile ağız sütünden izole edilen LM-5, kefirden izole edilen LM-13, goruk ekşisinden izole edilen LM-19, zeytinden izole edilen LM-23 ve bozadan izole edilen LM-25 mayalarının ‘+’ açısından yüksek düzeyde killer aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. ‘++’ açısından yüksek killer zon aktivitesi gösteren killer mayanın ise ağız sütünden izole edilen LM-4 maya suşu olduğu gözlenmiş, ‘+++’ killer aktivite gösteren maya suşu tespit edilememiştir.

Killer aktivitenin zon çapı açısından yapılan değerlendirmesi sonucunda killer özelliği araştırılan 26 mayanın, süt ürünlerinde (peynir, yoğurt, kaymak, tereyağı) bozulmaya neden olan 29 bozucu mayaya karşı göstermiş olduğu killer aktivitenin sayısı ve 29 bozucu mayaya karşı yüzdesel ifadesi Çizelge 5.3’te verilmiştir.

Çizelge 5.3. Bozulmuş süt örneklerinden izole edilen bozucu mayalara etkisi araştırılan killer özellikli mayaların killer etki sayısı ve yüzdesel değerleri

LM (Killer özelliği araştırılan maya kodları)	1-3 mm (+)		3-5 mm (++)		5-8 mm (+++)	
	Etki Sayısı	Etki Yüzdesi (%)	Etki Sayısı	Etki Yüzdesi (%)	Etki Sayısı	Etki Yüzdesi (%)
LM-1	4	% 14	1	% 3	-	-
LM-2	-	-	-	-	-	-
LM-3	1	% 3	-	-	-	-
LM-4	8	% 28	1	% 3	-	-
LM-5	6	% 21	2	% 7	-	-
LM-6	5	% 17	-	-	-	-
LM-7	10	% 35	3	% 10	-	-
LM-8	4	% 14	2	% 7	-	-
LM-9	8	% 28	1	% 3	-	-
LM-10	6	% 21	-	-	-	-
LM-11	-	-	-	-	-	-
LM-12	6	% 21	1	% 3	-	-
LM-13	5	% 17	-	-	-	-
LM-14	6	% 21	1	% 3	-	-
LM-15	8	% 28	-	-	-	-
LM-16	6	% 21	-	-	-	-
LM-17	5	% 17	3	% 10	-	-
LM-18	7	% 24	1	% 3	-	-
LM-19	9	% 31	-	-	-	-
LM-20	10	% 35	-	-	-	-
LM-21	7	% 24	-	-	-	-
LM-22	5	% 17	-	-	-	-
LM-23	7	% 24	-	-	-	-
LM-24	8	% 28	4	% 14	-	-
LM-25	6	% 21	-	-	-	-
LM-26	4	% 14	-	-	-	-

Süt ürünlerinde bozulmaya neden olan 29 maya izolatörlerinde killer özelliği araştırılan 26 maya izolatörünün zon çapı büyüklüğü ve yüzdesel ifadesi değerlendirildiğinde yoğurttan izole edilen LM-7 ve zeytinden izole edilen LM-24 mayalarının yüksek killer aktivite değeri gösterdikleri belirlenmiştir. ‘+’ zon çapı büyülüğine göre en iyi killer zon aktivitesi gösteren killer mayanın %35 ile yoğurttan izole edilen LM-7 maya suyu olduğu belirlenmiştir. LM-7 maya suyu dışında goruk ekşisinden izole edilen LM-20 mayasının da %35'lik bir killer aktivitesi tespit edilmiştir. ‘++’ açısından killer aktivite değerlendirme yapıldığında ise %14 killer aktivite düzeyi ile zeytinden izole edilen LM-24 mayasının en yüksek killer aktivite değerinde olduğu gözlenmiştir. Ayrıca ‘+++’ killer aktivitesinde herhangi bir killer aktivite gözlenmemiştir.

Killer özelliği araştırılan mayaların bozulmuş et ve süt ürünlerinin yanı sıra birkaç farklı bozulmuş fermentte gıda ürününden de (sirke, zeytin, turşu) bozucu mayalar izole edilmiştir. Killer özelliği araştırılan 26 mayanın, zeytin, sirke ve turşudan izole edilen 18 bozucu mayaya karşı killer aktivite sayısı ve yüzdesel olarak ifadesi Çizelge 5.4'te verilmiştir.

Çizelge 5.4. Bozulmuş turşu, sirke ve zeytin örneklerinden izole edilen bozucu mayalara etkisi araştırılan killer özellikli mayaların killer etki sayısı ve yüzdesel değerleri

LM (Killer özelliği araştırılan maya kodları)	1-3 mm (+)		3-5 mm (++)		5-8 mm (+++)	
	Etki Sayısı	Etki Yüzdesi (%)	Etki Sayısı	Etki Yüzdesi (%)	Etki Sayısı	Etki Yüzdesi (%)
LM-1	3	%17	-	-	1	%6
LM-3	5	%28	-	-	3	%17
LM-4	10	%56	-	-	1	%6
LM-5	6	%33	1	%6	-	-
LM-6	2	%11	1	%11	-	-
LM-7	2	%11	1	%6	2	%11
LM-8	4	%22	2	%11	4	%22
LM-9	4	%22	2	%11	-	-
LM-10	4	%22	3	%17	-	-
LM-11	2	%11	1	%6	-	-
LM-12	2	%11	-	-	-	-
LM-13	4	%22	-	-	-	-
LM-14	4	%22	4	%22	-	-
LM-15	5	%28	-	-	-	-
LM-16	3	%17	-	-	-	-
LM-17	8	%44	-	-	-	-
LM-18	3	%17	-	-	-	-
LM-19	2	%11	-	-	-	-
LM-20	3	%17	-	-	-	-
LM-21	7	%39	-	-	-	-
LM-22	3	%17	-	-	-	-
LM-23	-	-	-	-	-	-
LM-24	5	%28	-	-	-	-
LM-25	2	%11	-	-	-	-
LM-26	1	%6	-	-	-	-

Sirke, zeytin ve turşuda bozulmaya neden olan 18 bozucu mayaya karşı killer özelliği araştırılan 26 maya izolatının killer çap büyüklüğü ve bu büyülügün yüzdesel ifadesi değerlendirilmiştir. Buna göre ‘+’, ‘++’ ve ‘+++’ olarak verilen zon çapı büyülüklerinde en iyi killer aktivite gösteren maya izolatının sırasıyla %22, %11 ve %22 ile yoğurttan izole edilen LM-8 mayası olduğu tespit edilmiştir. ‘+’ killer zon aktivitesinde %56 killer aktivite değeri ile en yüksek killer zon yüzdesine sahip mayanın ağız sütünden izole edilen LM-4 maya suyu olduğu belirlenmiştir. ‘++’ zon çapı yüzdesel aktivitesi açısından bir değerlendirme yapıldığında ise %22 killer zon aktivitesi ile kefirden izole edilen LM-14 killer mayasının en yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. ‘+’ zon aktivite değeri açısından en yüksek orana sahip olan LM-4 mayasının ‘++’ değeri açısından herhangi bir killer zon aktivitesi göstermediği görülmüştür. ‘+++’ zon çapı yüzdesel aktivitesinde ise yoğurttan izole edilen LM-8 mayası %22’lik killer zon aktivite değeri ile en yüksek killer aktivite yüzdesi tespit edilmiştir. ‘++’ killer aktivite yüzdesel değeri ile en iyi killer aktiviteyi gösteren LM-14 mayası ‘+++’ killer aktivitesi yüzdesi açısından herhangi bir etki göstermemiştir.

Genel olarak et, süt ve diğer fermente gıdalarda bozulmaya neden olan bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan 26 mayanın killer zon yüzdesel aktivitesine göre değerlendirme yapılmıştır. Buna göre ağız sütünden izole edilen LM-4 ve LM-5, yoğurttan izole edilen LM-8, tarhanadan izole edilen LM-15, goruk ekşisinden izole edilen LM-20, ve zeytinden izole edilen LM-24 mayalarının en iyi killer zon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir.

Etki düzeyi ve zon çapı büyülüğünne göre yapılan killer aktivite değerlendirmesi sonucu düşük, orta ve yüksek düzeyde etki spektrumları dikkate alınmıştır. Etki spektrumu, killer özelliği araştırılan 26 mayanın bozulmuş fermente gıda ürünlerinden izole edilen 58 bozucu mayaya karşı gösterdiği killer aktivitenin şiddetini göstermektedir. 1-3 mm arası oluşan zon çapına göre killer aktivitesi düşük etki spektrumlu, 3-5 mm arası oluşan zon çapına göre killer aktivitesi orta etki spektrumlu ve 5-8 mm arası oluşan zon çapına göre killer aktivitesi ise yüksek etki spektrumlu killer aktivite olarak değerlendirilmiştir. Killer özelliği araştırılan 26 mayanın 58 bozucu mayaya karşı gösterdikleri killer etkiler göz önüne alındığında bu mayalar arasında farklı sonuçların olduğu görülmüştür (Çizelge 5.5).

Çizelge 5.5. Bozucu mayalara karşı zon aktivitesi gösteren killer mayaların belirli aralıklarda düşük, orta ve yüksek etki spektrumu değerleri

LM (Killer özelliği araştırılan maya kodları)	Etki Spektrumu Düşük (1-3 mm)	% İnhibisyon (Düşük)	Etki Spektrumu Orta (3-5 mm)	% İnhibisyon (Orta)	Etki Spektrumu Yüksek (5-8 mm)	% İnhibisyon (Yüksek)
LM-1	7	%12	1	%2	-	-
LM-2	1	%2	-	-	-	-
LM-3	10	%17	-	-	-	-
LM-4	26	%45	-	-	-	-
LM-5	21	%36	-	-	-	-
LM-6	11	%45	-	-	-	-
LM-7	22	%38	2	%3	2	%3
LM-8	13	%22	2	%3	4	%7
LM-9	18	%31	2	%3	-	-
LM-10	13	%22	1	%2	-	-
LM-11	2	%3	-	-	-	-
LM-12	9	%16	-	-	-	-
LM-13	16	%28	2	%3	-	-
LM-14	14	%24	-	-	-	-
LM-15	16	%28	-	-	-	-
LM-16	15	%26	-	-	-	-
LM-17	19	%33	-	-	-	-
LM-18	15	%26	-	-	-	-
LM-19	16	%28	-	-	-	-
LM-20	18	%31	-	-	-	-
LM-21	17	%29	-	-	-	-
LM-22	12	%21	-	-	-	-
LM-23	12	%21	-	-	-	-
LM-24	21	%36	-	-	-	-
LM-25	13	%22	-	-	-	-
LM-26	7	%12	-	-	-	-

Düşük etki spektrumu açısından değerlendirildiğinde killer aktivite oranının en yüksek ağız sütünden izole edilen LM-4 ve yine ağız sütünden izole edilen LM-6 mayalarında olduğu tespit edilmiştir. Test edilen bozucu mayalar üzerinde killer özelliği araştırılan bu mayaların %45 düzeyinde inhibisyon etkisine sahip oldukları görülmüştür. Orta ve yüksek etki spektrumuna göre değerlendirme yapıldığında ise yine yoğurttan izole edilen LM-8 mayasının yüksek killer aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Orta ve yüksek etki spektrumu açısından herhangi bir etki göstermeyen ağız sütünden izole edilen LM-6 mayasının düşük etki spektrumunda %45'lik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Etki düzeyleri açısından LM-6 mayasının %21'lik killer zon aktivite yüzdesi orta düzeyde killer aktivite göstermiş olduğu değerin altında kalmasına rağmen killer aktivite açısından değerlendirilebilecek düzeyde bir maya izolatı olduğunu göstermiştir.

En yüksek inhibisyon etki düzeyine sahip olan ağız sütünden izole edilen LM-4 mayasında killer aktivite incelendiğinde ise tüm bozucu mayalar üzerinde killer zon aktivitesi bakımından orta düzeyde killer aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Etki düzeyi açısından %38 oranında killer etkiye sahip olan ağız sütünden izole edilen LM-5 mayasının %36 düzeyinde düşük etki spektrumunda yüksek bir killer etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu yüzdesel ifadeler LM-5 mayasının orta ve yüksek etki spektrumuna sahip olmamasına rağmen ilerleyen çalışmalarla killer maya olarak kullanılabileme potansiyelinin olabileceği göstermektedir.

Yüksek etki spektrumu gösteren, killer özelliği araştırılan mayalar içerisinde ise en yüksek inhibisyon düzeyinin %7 ile yoğurttan izole edilen LM-8 mayasında olduğu görülmektedir. Etki düzeyi açısından %22 oranında düşük bir etki spektrumuna sahip olan yoğurttan izole edilen LM-8 mayasının %33'lük düzeyde killer zon aktivitesi ve %7 oranında göstermiş olduğu yüksek etki spektrumu LM-8 mayasının ilerleyen çalışmalarla birlikte killer maya olarak değerlendirilebilecek düzeyde olduğunu göstermiştir.

Zon çapına göre yapılan killer aktivite spektrumu, zon çapı büyüğlüğü ve etki düzeyleri değerlendirildiğinde yoğurttan izole edilen LM-8 izolatının killer maya olarak önemli bir potansiyele sahip olduğu gözlenmiştir. LM-8 izolatının bozucu

mayalar üzerindeki inhibisyon etki düzeyi bakımından %33 oranında bir etkiye sahip olduğu dikkate alındığında bu killer özellik gösteren mayanın bozucu mayalar üzerinde 1/3 oranında killer etki gösterebileceği düşünülmektedir.

Zeytinden izole edilen LM-24 mayasının düşük etki spektrumunda %36 oranında bir değere sahip olduğu belirlenirken orta ve yüksek etki spektrumunda herhangi bir etkisi görülmemiştir. LM-24 mayasına etki düzeyi açısından bir değerlendirme yapıldığında ise %38 oranında bir killer etki sağlamıştır. Yüksek etki spektrumuna sahip olmamasına rağmen LM-24 mayasının da potansiyel bir killer maya olarak kullanılabileceği öngörülülmüştür.

LM-24 ve LM-5 killer özellik gösteren mayalar düşük etki spektrumunda %36, yüksek etki spektrumunda %38'lik bir etki düzeyi sağlayarak benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu iki maya izolatının düşük düzeyde yüksek killer aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir.

Etki düzeyi ve spektrumu birlikte değerlendirildiğinde en yüksek killer aktiviteyi gösteren maya izolatının ağız sütünden izole edilen LM-4 killer maya izolatısı olduğu görülmüştür. %43'lük etki düzeyi ve %45'lük etki spektrum derecesi ile en yüksek killer değerleri bu maya izolatı sağlamıştır. Bu killer mayanın orta düzeyde en iyi killer aktiviteye sahip maya izolatısı olduğu belirlenmiştir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında, etki düzeyi, katı besiyerindeki zon aktivitesi ve düşük, orta ve yüksek düzeyde etki spektrumuna göre değerlendirme yapılmıştır. Buna göre en iyi killer aktiviteyi gösteren killer mayaların sırasıyla LM-4, LM-24, LM-8 ve LM-7 olduğu tespit edilmiştir. Bu mayaların ilerleyen çalışmalarında killer toksinleri saflaştırılarak endüstri uygulamalarında kullanımları hedeflenmektedir.

Killer özellikli ticari bir şarap mayası olan *S. cerevisiae* maya kültürü, çalışmada araştırılan maya izolatlarının killer özelliklerinin karşılaştırılması amacıyla kullanılmıştır. Ticari killer maya kültürü olan *S. cerevisiae* sirke, turşu ve zeytinde bozulmaya neden olan bozucu mayalara karşı kantitatif yöntem kullanılarak katı besiyerinde agar difüzyon metodu ile killer maya aktivitesi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda en yüksek duyarlılıkta killer aktiviteye tepki gösteren maya

izolatının turşudan izole edilen maya suşu olduğu gözlemlenmiştir. *S. cerevisiae* killer maya suşunun etki etmediği maya suşu, turşudan izole edilen BM-50, zeytinden izole edilen BM-42 ve BM-43 kodlu bozucu maya suşalarıdır.

Killer özellikle ticari bir şarap mayası olan *S. cerevisiae* killer mayasının çeşitli et ve süt ürünlerinde bozulmaya neden olan bozucu mayalar üzerindeki etkisi gözlenmemiştir. Bu killer maya izolatı sirke, zeytin ve turşuda bozulmaya yol açan bozucu mayalar üzerindeki killer aktivite denemelerine göre değerlendirilmiştir.

Killer özelliği bilinen ticari maya suşu ile killer özelliği araştırılan Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen 26 mayanın, bozulmuş ürünlerden izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktiviteleri katı besiyerinde test edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonunda zon oluşturduğu gözlenen killer maya izolatlarının göstermiş oldukları killer aktivite özellikleri karşılaştırılmıştır. Etki düzeyleri açısından değerlendirildiğinde turşudan izole edilen bozucu mayalara karşı *S. cerevisiae* killer mayasının yüksek killer zon etkisine sahip olduğu görülmüştür. Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen ve killer özellikleri araştırılan 26 maya suşu (LM) ile karşılaştırıldığında, killer özelliği bilinen *S. cerevisiae* ticari şarap mayasının diğer LM'lere göre yüksek etki spektrumuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Ticari killer mayası dışında killer özelliği araştırılan mayalardan en iyi killer aktivite gösteren killer mayaların LM-4, LM-7, LM-8 ve LM-24 olduğu tespit edilmiştir. Katı besiyerinde zon oluşturulması ile killer özellik gösterdiği belirlenen mayaların ilerleyen çalışmalarla birlikte killer maya izolatı olarak gıda endüstrisinde değerlendirileceği düşünülmektedir.

Literatür incelendiğinde birçok üründe bozulmaya neden olan mayalara karşı farklı ortamlardan izole edilmiş ya da referans suşlar ile killer aktivite testleri yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Literatürde daha önceden yapılmış olan çalışmalarda elde edilen veriler ile tez çalışmasındaki sonuçlar çalışma koşulları açısından benzerlik göstermektedir.

Alonso vd. (2015) farklı *Zygosaccharomyces* türlerine karşı *Pichia membranafaciens* mayasının killer aktivitesini incelemiştir. Gerçekleştirilen tez çalışması ile yapılan bu çalışmada elde edilen veriler karşılaştırıldığında birbirine yakın sonuçlar

gözlemlenmiştir. Çalışma kapsamında *Pichia membranafaciens* mayasının *Zygosaccharomyces* türlerine karşı göstermiş olduğu killer aktivite, kantitatif testler sonucunda belirlenmiştir: Sonuçlar incelendiğinde killer aktivitenin 1-4 mm arasında bir zon etkisinin olduğu görülmüştür. *Pichia membranafaciens* 1106 killer mayasının *Zygosaccharomyces* türlerine karşı en yüksek killer etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. 20 °C'deki 48 saatlik inkübasyon ve %3'lük NaCl'nin killer aktiviteyi artırdığı gözlemlenmiştir. Yapılan tez çalışmasında 1-3 mm'lik zon çapları, besiyeri bileşiminde NaCl olmadan 30 °C'de 48 saat inkübasyon sonucunda tespit edilmiştir. Alonso vd. (2015)'nin çalışmasının devamında besiyeri bileşiminde bulunan %60 glukoz miktarının killer zon aktivitesini artıracağı düşünülmüştür. Analiz sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde besiyeri bileşiminde bulunan %60 glukozun killer aktiviteyi beklenen seviyede artırmadığı, %3 NaCl eklenen besiyeri bileşiminde gözlenen killer aktivitenin %60 glukoz ilave edilen besiyeri bileşimine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumda çalışmada killer aktiviteyi, besiyeri bileşiminde bulunan NaCl miktarının glukoza oranla daha yüksek düzeyde teşvik ettiği tespit edilmiştir Tez çalışmasında besiyeri bileşiminde %2 oranında glukoz kullanılırken, bu çalışmada besiyeri bileşiminde %60 glukoz kullanılmıştır. Çalışmada, besiyeri bileşiminde bulunan %60'luk glukoz miktarının tez çalışmasındaki %2 glukoza göre killer zon etkisini artırmadığı gözlemlenmiştir. Killer zon aktivitesinin glukoz miktarının yüksekliğine bağlı olmadığı görülmüştür. Tez çalışmasında bazı fermenter gidalarda bozulmaya neden olan bozucu mayalara karşı 26 mayanın killer aktivitesi incelendiğinde et ürünlerinde bozulmaya neden olan bozucu mayalara karşı yüksek killer aktivite gösteren suşlar elde edilmiştir. Bu durumun besiyeri içeriğinde bulunan glukoz miktarının killer aktiviteyi teşvik etme durumundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Alonso vd. (2015)'nin çalışması pH 4.0'de 0.2 M'lık sitrat-fosfat tampon çözeltisi ile yapılmışken, tez çalışması pH 4.0'de 0.1 M'lık sitrat-fosfat tamponda gerçekleştirilmiş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışma ortamdaki NaCl'nin killer aktiviteyi teşvik ettiğini göstermiştir. Tez çalışmasında besiyeri bileşiminde yer alan glukoz oranının killer aktiviteyi belirlemede bu çalışmaya kıyasla yeterli düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan bu çalışmaya göre besiyeri bileşimine NaCl ilavesinin tez çalışmasındaki killer aktiviteyi artırabilecegi düşünülmektedir.

Afyoncu (2012) tarafından yapılan tez çalışmasında üzüm bağlarından izole edilen mayaların, çeşitli ürünlerden izole edilmiş mayalara karşı killer aktiviteleri incelenmiş ve şarap fermantasyonunda starter kültür özellikleri araştırılmıştır. Maya izolatları tez çalışmasına kıyasla %2 ve %10 oranında YEPD sıvı besiyerine inoküle edilerek killer aktiviteleri değerlendirilmiştir. Tez çalışmasında ise sıvı besiyerinde kültürü geliştirmek için %1 oranında maya inokülasyonu gerçekleştirilmiştir. Afyoncu (2012), çalışmasında besiyerine şarap fermantasyonunda problem oluşturan bir kimyasal olan siklohekzimid eklemiş ve bu kimyasala karşı maya izolatlarının dirençliliğini sağlamayı hedeflemiştir. Çalışmada pH 4 ve pH 4.7'de killer aktivite test edilmiştir. Besiyeri 1 M sitrat-fosfat tampon ile pH 4'e getirilmiş ve % 0.5 metilen mavisi %10 eklenerek killer mayaların diğer mayalar üzerinde oluşturdukları şeffaf zonlar gözlenmiştir. Ayrıca çalışmada killer özelliği araştırılan starter kültür santrifüj edilerek farklı ürünlerden izole edilen mayalara karşı yayma kültürel ekim yöntemiyle inoküle edilerek 20 °C'de 1-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Yapılan tez çalışmasında ise katı besiyerinde agar difüzyon metodu ile kantitatif olarak killer aktivite analizi yapılmış ve 30 °C'de 1-3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Tez çalışmasında metilen mavisi oranı %0.003 oranında eklenmiş ve killer zonlar ayrıt edilmiştir. Afyoncu (2012) gerçekleştirdiği çalışmada *S. cerevisiae* EX33 starter maya kültürünü değerlendirmiştir, aynı cins ve türde duyarlı maya izolatlarına literatürde belirtildiği gibi killer etki göstermediğini gözlemlemiştir. Ayrıca *S. cerevisiae* EX33 maya suşunun *Torulaspora delbrueckii* suşlarından bazlarına karşı killer toksin ürettiği bildirilmiştir. Farklı ürünlerden izole edilen 26 mayanın bozulmuş ürünlerden izole edilen bozucu mayalara karşı killer aktivite denemeleri bu çalışmaya göre yüksek etki spektrumlarında ve yüksek etki düzeylerinde gerçekleşmiştir. Bu durumun yapılan tez çalışması ile beraber sıcaklık, besiyeri pH'sı, besiyeri içeriği, killer mayanın santrifüj yoluyla test edilmesi ve kullanılan yöntem açısından farklılık gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca killer toksin üreten suşların tez çalışması ve bu çalışma için starter kültür olarak da değerlendirilebileceği ancak killer aktivite yeteneklerinin tek bir özellik olarak bu duruma yeterli olmayacağı düşünülmektedir.

Rodriguez-Gomez vd. (2013) gerçekleştirdikleri çalışmada İspanyol bir şarap çeşidi olan Sherry şaraplarının alkolik fermantasyonu için starter *Saccharomyces* suşlarının seçilmesinde birçok parametreyi değerlendirmiştir ve starter özellikleri ile beraber

killer özelliklerini araştırmışlardır. Toksin ürettiği bilinen K1 ve K2 maya suşlarının *Saccharomyces*'den izole edilmiş J1, J2, J3, J4, J5 mayalarına karşı killer toksin üretme yeteneklerini değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda K1 killer toksini varlığında J1, J2, J3, J4, J5 mayalarının inhibe olduğu, K2 killer toksin varlığında J1, J2, J3, J4, J5 mayalarının killer toksinden etkilenmediğini gözlemlemiştir. Bu durumun K1 ve K2 toksin üreticisi olduğu bilinen *Saccharomyces*'in killer toksinin bu maya izolatları ile aynı cins ya da türe ait olmasından, duyarlı hücreyi inhibe edebilecek düzeyde yeterli killer toksin salgılanmamasından, killer toksinin duyarlı mayalara karşı şaraptaki fermantasyon ve besi ortamını oluşturmamasından ve çevresel etkilerden kaynaklanabileceğinin düşünülmektedir. Tez çalışmasında da killer özellikli ticari bir şarap mayası olan *S. cerevisiae* killer mayasının turşu, sirke ve zeytinden izole edilen bozucu mayalara killer etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Tez çalışmasında killer maya olduğu bilinmesine rağmen *S. cerevisiae*'nın her bozucu mayaya etki edemediği belirlenmiştir Literatür incelemesinde killer mayalar üzerinde yapılan çalışmalarla, killer maya izolatının duyarlı maya izolatı üzerinde killer toksin üretmemesinin; duyarlı maya suşu olarak bilinen maya izolatlarının killer mayalar tarafından üretilen toksine karşı dirençli olması, duyarlı maya izolatı ile killer mayanın aynı cins ya da türe ait maya izolatları olması, killer toksinin duyarlı maya izolatını inhibe edecek düzeyde killer toksini salgılayamaması ve duyarlı hücre üzerinde oluşturulacak killer aktivite için uygun besi ortamının sağlanamaması gibi faktörlerden kaynaklanabileceğinin bildirilmiştir. Bazı bozulmuş fermenterlerden izole edilen bozucu mayalara karşı referans killer suşun etki edememesi killer mayanın bozucu maya ile aynı tür ya da cinse ait olması, besiyeri pH'sı, besiyerinin içeriği, inkübasyon sıcaklığı ve farklı tampon kullanımından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Tez çalışmasında referans killer suşun sirkede ve turşuda bozulmaya neden olan birçok maya üzerinde killer aktivite göstermesine rağmen bazı bozucu mayalara karşı killer aktivite gösteremediği gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalar incelemesinde referans killer suşun izole edildiği şarabın genel fermantasyon ortam sıcaklığının 20 °C olduğu görülmektedir. Tez çalışmasındaki inkübasyon sıcaklığının referans killer maya suşunun toksin üretmesini etkileyeceği düşünülmektedir.

Lopes ve Sangorrin (2010) gerçekleştirdikleri çalışmada üç farklı türe ait 36 maya izolatının şarapta bozulmaya neden olan *Pichia guillermondii* ve *Pichia*

*membranafaciens* mayalarına karşı killer aktivitesini incelemiştir. Çalışmada tez çalışmasına kıyasla 0.5 M'lık sitrat-fosfat tampon içerisinde YEPD-MB besiyerine %3 Malt Ekstrakt ilave edilip pH 4.6'ya ayarlanmıştır. Buna ek olarak NaCl'nin killer aktiviteye etkisini belirlemek amacıyla besiyerine belirli oranlarda NaCl ilave etmişlerdir. Bu durum sonucunda *Metschnikowia pulcherima* NRRL Y711 duyarlı mayasının sadece *Candida glabrata* NCYC 388 killer mayasına karşı direnç gösterdiği, diğer iki killer suş olan *Wickerhamomyces anomala* NRRC Y366 ve *Torulaspora delbrueckii* NRRL Y866 mayalarının *Pichia membranafaciens* NRCC 1088 duyarlı mayasına karşı %0 NaCl'de killer etki gösteremediği, %1 ve %3'lük NaCl'de killer etki sağladığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen killer zon çaplarının NaCl oranı artışı ile arttığı gözlemlenmiştir. %1 NaCl oramında 21 mm'den yüksek zon çapı elde edilememişken, %3 NaCl ortamında 42 mm'ye kadar artan bir zon çapı tespit edilmiştir. Bu durumun NaCl konsantrasyonunun artışı ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu çalışma haricinde yapılan birçok çalışmada NaCl varlığının ve NaCl konsantrasyonunun artışının killer mayanın zon çapını artıracağı ifade edilmektedir. Gerçekleştirilen tez çalışmasında besiyerine NaCl eklenmemiştir. Bu yüzden tez çalışmasında 1-8 mm aralıklarında zon oluşumu tespit edilmiş, Lopes ve Sangorrin (2010)'in çalışmasında NaCl'nin oranına göre genelde 21-42 mm arasında killer zon aktivitesi gözlemlenmiştir. Tez çalışmasında besiyeri bileşimine NaCl ilave edilmediği için etki spektrumu, etki düzeyi ve killer zon aktivitesi yapılan bu çalışmaya göre değişiklik göstermiştir. Ayrıca yapılan çalışmada YEPD-MB besiyerine %3 oranında Malt Ekstrakt eklenmiştir. Eklenen Malt Ekstrakt'ın diğer besiyeri bileşenlerinin yanında bu çalışmada killer aktiviteyi teşvik ettiği gözlemlenmiştir. %0 NaCl ortamında bile ilave edilen Malt Ekstrakt, 21 mm'ye kadar killer zon gözlenmesini sağlamıştır. Tez çalışmasında besiyeri, 0.1 M sitrat-fosfat tampon ile pH 4.0'e ayarlanmıştır. Yapılan bu çalışmada ise besiyeri pH'sı, 0.5 M'lık sitrat-fosfat tampon ile 4.6'ya getirilmiştir. Tez çalışmasına göre çalışmadaki besiyeri pH değerinin killer aktiviteyi etkilediği görülmüştür. Tez çalışmasında besiyeri bileşiminde Malt Ekstrakt olmaması, NaCl ilave edilmemesi, pH'nın 0.5 M'lık sitrat-fosfat tampon ile 4.6 yerine, 0.1 M'lık sitrat-fosfat tampon ile 4.0'a ayarlanması killer aktivitenin çalışmaya göre düşük olmasına sebep olduğu düşünülmektedir.

Ullivari vd. (2011)'nin çalışmalarında Arjantin'de üretilen ve şarap yapımında starter kültür olarak kullanılan şarap mayalarından 31 maya suşunun *S. cerevisiae* P351 duyarlı maya suşuna karşı killer aktivite denemeleri gerçekleştirılmıştır. Çalışma, starter maya suşlarının killer toksin üretim yeteneklerini tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Killer toksin üretme yeteneğine sahip olduğu tespit edilirse şarap üretiminde kimyasal koruyucuların yerine doğal bir koruyucu olarak killer mayaları kullanmak hedeflenmiştir. Killer aktiviteyi belirlemek için yapılan analizler sonucunda starter maya suşlarından 11 maya suşunun duyarlı maya izolatına karşı killer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmadaki besiyeri pH değeri, inkübasyon sıcaklığı ve inkübasyon süresi tez çalışmasına göre farklılık göstermektedir. Besiyeri pH'sı 4.5'a ayarlanarak ekimler sonrası 18 °C'de 5 günlük inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda oluşan killer aktivite incelenmiştir. Tez çalışması ile benzer olarak düşük (+), orta (++) ve yüksek (+++) düzeyde killer aktivite ile kendi içinde derecelendirilen zon aralıklarını belirlemiştir. Maya izolatlarının killer aktiviteleri katı besiyerinde oluşan zon çapı büyülüklüklerinin sınıflandırılması yolu ile değerlendirilmiştir. 1-2 mm arası oluşan zon çapı değerini düşük (+), 2-4 mm arası oluşan zon çapı değerini orta (++) ve 4 mm'den büyük oluşan zon çapı değerini yüksek (+++) killer aktivite olarak değerlendirilmiştir. Tez çalışması ile bu çalışma arasında benzer sonuçlar elde edilmesine rağmen 18 °C inkübasyon sıcaklığında ve pH 4.5'te 4 mm'den daha yüksek killer aktivite tespit edilememiştir. Tez çalışmasında 4 mm'den daha yüksek killer aktivite zonları 30 °C inkübasyon sıcaklığında ve pH 4.0'te tespit edilmiştir. Killer aktivitenin, tez çalışması ve bu çalışma özelinde farklı olma durumunun besiyeri bileşeni, besiyeri pH'sı, inkübasyon sıcaklığı, bozucu mayaların ve killer özelliği araştırılan maya izolatlarının çalışmada kullanılan duyarlı ve starter maya suşları ile aynı cins ya da tür maya suşu olması gibi durumlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Tez çalışmasındaki inkübasyon süresi, inkübasyon sıcaklığı ve besiyeri pH'sının killer aktiviteyi belirlemede en uygun koşullar olduğu öngörmektedir.

Wojcik ve Wiater (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ormandan, meyve ağaçlarının yapraklarından, çiçek kökleri, tahlillar ve donmuş meyveden izole edilen 50'nin üzerinde mayanın killer aktivitesi incelenmiştir. *Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Pachysolen*, *Yarrowia* ve *Trichosporon* cinslerine ait 102 killer aktivite gösterebilecek olan maya suşu, duyarlı suş oldukları bilinen referans *Kluyveromyces*

*lactis* Y-6682 ve *Kluyveromyces marxianus* Y-8281 maya suşları üzerinde test edilmiştir. Killer aktivitesi incelenen 102 suş içerisinde 24 suşun duyarlı maya izolatlarına karşı killer aktivite gösterdiği gözlemlenmişken 24 maya suşi haricinde 10 maya suşunun zayıf killer etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca en yüksek killer aktivitenin çiçeklerden ve ormandan alınan toprak ürününden izole edilen mayada gözlendiği tespit edilmiştir. Çalışmada YEPD-MB besiyeri pH 4.5'te 0.5 M sitrat-fosfat tamponu ile hazırlanmış ve ek olarak besiyerine %2 NaCl eklerek killer zon aktivitesi gözlemlenmiştir. Diğer çalışmaların yanısıra bu çalışmada 8 mm'lik delgeç ile kuyucuk açılarak içerisinde 100 µl potansiyel killer suş inoküle edilmiştir. Ayrıca üç farklı sıcaklıkta (18 °C, 22 °C, 25 °C) inkübasyon gerçekleştirilmiş ve düzenli olarak kontrol edilerek 7 gün sonunda zon oluşumları gözlemlenmiştir. Çalışmada 24 farklı killer maya izolatı, referans olarak kullanılan duyarlı maya izolatlarına karşı yüksek killer aktivite göstermiştir. Ayrıca 24 killer maya suşu haricinde 10 adet killer maya suşu duyarlı maya izolatlarına karşı düşük killer aktivite göstermiştir. Düşük ve yüksek killer aktivite gösteren suşlar 22 °C'de 48 saatlik inkübasyon sonucunda tespit edilmiştir. Bazı suşlar duyarlı maya suşlarına karşı 1 mm'den daha yüksek killer zon aktivitesi gösterirken, 1 mm'nin altındaki zon oluşumu gösteren maya suşları da gözlemlenmiştir. 1-5 mm arasındaki zon oluşumu için '+', 6-9 mm arasındaki zon oluşumu için '++' ve 10 mm'den büyük zon aktiviteleri için '+++' ifadeleri kullanılarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca tez çalışması ile yapılan bu çalışma yöntem açısından farklılık göstermektedir. Yapılan bu çalışma sonuçlarının tez çalışması sonuçlarına göre yüksek olduğu gözlenmiştir. Her iki çalışma sonuçlarındaki farklılığını, kullanılan maya izolatlarının ve çalışma koşullarının aynı olmaması ve aynı zamanda farklı yöntem kullanılmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Tez çalışmasında, katı besi ortamına inolüle edilen bozucu mayalara karşı killer özellikleri araştırılan maya izolatları direkt olarak katı besiyeri yüzeyine inoküle edilirken Wojcik ve Wiater (2015)'in çalışmalarında ise kuyucuk yöntemi ile killer aktivite araştırılmıştır. Kuyucuk yönteminde killer toksin üretimi için maya izolatlarının geliştirildikleri besiyeri süpernatantı kullanılmıştır. Dolayısıyla süpernatant içerisinde bulunan toksin miktarı ve aktivitesinin daha yüksek bir killer aktivite sağlayabilmesi söz konusudur. Zon çapı aralıklarına göre sınıflandırıldığından çalışmada elden edilen sonuçlar ile tez çalışması arasında farklılık olduğu gözlemlenmiştir. Bu şekilde değerlendirilen killer aktivite değerleri ile yapılan kıyaslama sonucunda tez çalışması sonuçlarının çoğunlukla düşük killer

aktivite düzeyinde olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmadaki koşullar ile tez çalışmasındaki koşullar bahsedildiği gibi birbirinden farklılıklar göstermektedir. Tez çalışmasında 0.1 M sitrat-fosfat tampon ile besiyeri pH 4.0'e ayarlanırken, bu çalışmada 0.5 M sitrat-fosfat tampon ile besiyeri pH 4.5'e ayarlanmıştır. Çalışmaya kıyasla tez çalışmasındaki killer aktivite değerleri farklılık göstermiştir. Bu durumun besiyeri pH'sını ayarlamak için kullanılan tamponun, tez çalışmasında kullanılan tampon'a göre içeriğinin ve oranlarının farklı olarak hazırlanmasından kaynaklanabileceğि düşünülmektedir. İnkübasyon sıcaklığı ve süresi de tez çalışması ile farklılık göstermiştir. Killer aktivitenin en yüksek görüldüğü sıcaklığın, çalışmada 25 °C olduğu ve 7. günün sonunda zon çapı ölçüldüğü, tez çalışmasında ise 30 °C sıcaklıkta 48 saatlik inkübasyon sonucunda killer aktivitenin gözlendiği rapor edilmiştir. İnkübasyon sıcaklığı ve inkübasyon süresinin killer aktiviteyi etkilediği düşünülmektedir. NaCl varlığı çalışmada killer aktiviteyi artırmıştır. Besiyeri bileşimine NaCl eklenmediği için tez çalışmasında gözlemlenen killer aktivite bu çalışmaya göre düşük seyretmiştir.

Meneghin vd (2010) killer maya aktivitesi gösteren *Candida glabrata*, *Pichia anamola* ve *Candida* sp. mayalarının içki fermantasyonunda yabani olarak kontamine olan *Bacillus suptilis* ve *Lactobacillus plantarum*'a karşı antibakteriyel ajan olarak etki ettiğini bildirmiştir. Killer aktivite gösteren mikroorganizmaların inhibisyon zonları mm cinsinden verilmiştir. Çalışmada kullanılan mayaların alkolik fermantasyon sırasında kontaminasyona sebep olan *Lactobacillus fermentum*, *L.plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *Bacillus subtilis* bakterilerine, *Torulaspora glabrata* ve *Saccharomyces cerevisiae* mayalarına karşı killer aktiviteleri değerlendirilmiştir. Killer mayalar tarafından alkolik fermantasyon sırasında kontaminasyona neden olan bakteri ve mayaların inhibisyonunun 0-48 saat sonucunda oluştugu bildirilmiştir. Tez çalışmasında killer zon aktivitesi için besi ortamını oluşturan YEPD-MB besiyeri Meneghin vd (2010)'nin çalışmasında da kullanılmış fakat tez çalışmasına kıyasla killer mayalar için inkübasyon 30 °C yerine 25 °C'de gerçekleşmiştir. Alkol fermantasyonunun 25 °C'de gerçekleşmesinden ve sıcaklığın fermantasyonu olumsuz olarak etkileyeceği düşünüldüğünden inkübasyon sıcaklığı 30 °C' ye ayarlanmamıştır. Killer özellik gösteren 3 maya izolatının kontaminasyona neden olan *T. glabrata*'ya karşı 0-8 mm arası etki ettiği, *S. cerevisiae*'ya karşı ise 0-4 mm arası killer aktivite gösterdiği

bildirilmiştir. *L. plantarum* ve *B. subtilis*'e karşı özellikle 24-36 saatleri arasında en yüksek killer aktiviteyi gösterdiği ve 20 mm'ye yakın killer etki zonuna sahip olduğu gözlemlenmiştir. Tez çalışması ile karşılaştırıldığında bu çalışmada *T. glabrata* ve *S. cerevisiae* mayalarına karşı düşük killer zon aktivitesi görülmüştür. Bu durumun inkübasyon sıcaklığından, besiyeri içeriğinden, kullanılan kültür farkından veya tampon çözeltisinin pH'sının 4.5-4.7 olarak ayarlanmasıdan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Erginkaya vd. (1996) tarafından gerçekleştirilen çalışmada farklı fermentte gıdalardan izole edilen 37 maya suşunda killer özellik araştırılmıştır. Bu suşlardan sadece 1 tanesinin killer karakterde olduğu, 4 suşun ise duyarlı olduğu belirlenmiştir. Killer maya olduğu tespit edilen maya suşunun fermentte sucuktan izole edilen *Candida famata* olduğu ve şıradan izole edilen *S. cerevisiae* suşlarına karşı duyarlı olduğu gözlenmiştir. Çalışmada tez çalışmasına kıyasla YEPD-MB agar'a, agar sürme ve agar difuzyon testleri uygulanmıştır. Dökme plak yöntemiyle duyarlı maya suşu inoküle edildikten sonra killer özelliği araştırılan maya öze yardımıyla ekilmiştir. 20 °C'de 5-7 günlük inkübasyon sonunda zon oluşumu besiyeri bileşiminin 0.1 M sitrat-fosfat tampon'da pH 4.6'ya ayarlanması ile değerlendirilmiştir. Diğer yöntemde ise dökme kültür ile duyarlı mayalar aktarılmış ve kuyucuklar açılarak killer özelliği araştırılan maya izolatı inoküle edilmiştir. 20 °C'de 5-7 günlük inkübasyon sonucu zon oluşumu gözlenmiştir. Tez çalışması ile karşılaştırıldığında yöntem ve sıcaklık-süre kombinasyonları farklı olmasına rağmen killer özellik gösteren maya hücreleri katı besiyerinde kantitatif testlerle belirlenmiştir. Çalışmada killer özelliği araştırılan ve tanımlanan mayalar içerisinde zonlar karşılaştırıldığında ise en yüksek killer aktiviteye sahip maya izolatının *S. cerevisiae*'e ait maya izolatı olduğu belirlenmiştir. Tez çalışması ile besiyeri bileşimi dışında herhangi bir özelliğin bu çalışma kapsamında uyusmadığı tespit edilmiştir. Buna rağmen bu çalışma ve tez çalışmasının zon oluşumları ve etki spektrumları açısından benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir.

Türkay (2012)'ın gerçekleştirdiği tez çalışmasında killer suş olduğu bilinen *Linderia saturnus*'un peynir, turşu ve zeytin salamurasında bozulmaya neden olan bozucu mayalara karşı killer aktivitesi araştırılmıştır. Bu çalışmada tez çalışmasında olduğu gibi besiyeri olarak YEPD-MB agar kullanılmıştır. Dökme plak yöntemi ile bozucu

mayalar inoküle edilmiş fakat killer suş sıvı kültür olarak inoküle edilmiştir. Petriler pH 3.5, pH 4.0 ve pH 5'te, 15 °C, 25 °C ve 30 °C'de gelişmeye bırakılmıştır. 15 °C ve pH 3.5, 25 °C ve pH 5.0, 30 °C ve pH 5.0 ortamlarında en yüksek killer aktivite gerçekleşmiştir. Tez çalışması ile bu çalışma özellikle sıcaklık ve pH açısından karşılaştırıldığında Türkay (2012)'ın çalışmasında pH 4 ve 30 °C'de gözlenen killer aktivite tez çalışmasında gözlenen killer aktiviteye göre düşük görülmüştür. Ayrıca diğer sıcaklık ve pH kombinasyonlarının da tez çalışmasına göre düşük etki spektrumunda ve düşük etki düzeyinde olduğu gözlemlenmiştir. Tez çalışmasında killer özelliği bilinen ticari bir şarap mayası olan *S. cerevisiae*'nin bozucu mayalar üzerindeki killer aktivitesinin Türkay (2012)'ın çalışmasında kullanılan killer mayaya göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Özellikle killer özelliği araştırılan 26 mayanın bozulmuş peynirden izole edilen bozucu mayalara karşı yüksek etki spektrumlu killer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Tez çalışmasında killer özellikteki ticari killer mayanın birkaç bozucu mayaya karşı etki göstermediği tespit edilmiştir. Referans maya olarak kullanılan ticari killer mayanın etki etmediği bozucu mayaların turşu ve zeytinden izole edilen mayalardır. Bazı bozucu mayalara karşı killer aktivite gözlenmemesinin sebebi olarak, killer aktivitenin pH ve sıcaklığa bağlı değişimi, bozucu mayalara karşı killer özelliği bilinen maya izolatlarının sıvı kültür olarak inokülasyonu, killer maya izolatının bozucu maya ile aynı cins ya da türe ait maya suşları olması ve besiyeri bileşimi gibi özelliklere bağlı olarak değiştiği görülmektedir.

Helguera vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada klinik *Candida glabrata* mayalarının killer varlıkları araştırılmış, pH ve sıcaklığın killer aktiviteye etkisi incelenmiştir. Yapılan tez çalışmasına kıyasla Helguera vd. (2012)'nin çalışmasında farklı pH ve sıcaklık denemeleri gerçekleştirılmıştır. pH 4 ve pH 9 arasında sitrat-fosfat tampon varlığında hazırlanan YEPD-MB agar 25 °C, 28 °C, 30 °C ve 37 °C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmada 64 klinik *Candida* maya izolatından sadece 4 maya suşunun, duyarlı oldukları bilinen *S. cerevisiae* W303, *S. cerevisiae* S288C, *C. glabrata* BG14 ve *C. glabrata* CBS138 maya suşlarına karşı killer aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Araştırma sonucunda 64 klinik *Candida* maya suşlarının sadece %6.25'inin *S. cerevisiae* W303 duyarlı suşuna karşı killer aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Tez çalışmasında killer zon aktivitesi pH 4'te yüksek gözlemlenmiştir. Helguera vd. (2012)'nin çalışmasında da killer aktivite pH 4'te

görlülmüştür. Ancak pH 8 ve pH 9 ortamlarında denemeler gerçekleştirildiğinde killer aktivitenin azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmada pH 4 ve pH 7 arası değerlerde klinik *Candida* maya izolatlarının yüksek killer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Sıcaklık açısından değerlendirildiğinde ise 28 °C, 30 °C ve 37 °C'de killer aktivitenin yüksek düzeyde sonuçlar verdiği görülmüştür. Tez çalışmasında 30 °C ve pH 4'te elde edilen sonuçlar bu çalışmadaki pH ve sıcaklık açısından benzerlik göstermektedir. Gerçekleştirilen tez çalışmasında ve Helguera vd. (2012)'nin yapmış oldukları çalışmada killer aktivite için belirlenen sıcaklık ve pH'nın yüksek killer aktivite değerleri için uygun olduğu görülmüştür. Yüksek killer aktivitenin bu değerler ile gözlenebileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmada kullanılan YEPD-MB besiyerindeki metilen mavisi oranı %0.001 iken, tez çalışmasında kullanılan YEPD-MB içeriğindeki metilen mavisi %0.003 oranındadır. Çalışmada kullanılan %0.001 oranındaki metilen mavisinin petri içerisinde oluşan killer zonu ayırt etmede düşük olduğu tez çalışmasında yapılan denemeler sonucunda gözlemlenmiştir. Tez çalışmasında analiz başlangıcında literatür incelenirken %0.03 metilen mavisi oranı görülmüş ve ilk denemelerde bu oran üzerinden denemeler gerçekleştirilmişdir. Fakat % 0.03 boyalı miktarı besiyeri içerisinde oluşan zonun ayırt edilmesinde sorun oluşturmuş ve oluşan zonlarda çaplar ayırt edilememiştir. Bu durum sonucunda da tez çalışmasındaki boyalı miktarı % 0.003'e düşürülmüş ve denemeler sonunda zonlar ayırt edilerek istenilen sonuçlar elde edilmiştir. Literatürdeki değerlere göre boyalı miktarında seyreltme yapılarak killer aktivite sonucu oluşan şeffaf zonların gözlenmesi sağlanmıştır.

Banjara vd. (2016) gut hastalığına sebep olan *Candida* maya türlerine karşı peynirden izole ettikleri *Debaryomyces hansenii* suşlarının killer aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmada, peynirden izole edilen *D. hansenii* suşlarının çeşitli pH ve sıcaklıklarda killer toksin üretim potansiyelleri incelenmiştir. Patojen *Candida* türlerinden *C. albicans*'a karşı *D. hansenii* suşlarının pH 4.5, pH 5.0 ve pH 5.5'ta killer aktivitesi gözlemlenirken pH 6.0'da killer aktivite gözlemlenmemiştir. Aynı zamanda bu çalışmada 20 °C, 25 °C, 30 °C ve 35 °C'deki killer aktivite sonuçları yüksek görülmüştür. *C. tropicalis* üzerinde gerçekleştirilen killer aktivite denemesinde ise sıcaklık açısından özellikle 20 °C ve 25 °C'de, pH açısından pH 4.5, pH 5.0 ve pH 5.5'te besiyeri üzerinde oluşan 2-8 mm arasındaki zon çapı büyüğünü yüksek killer aktivite olarak değerlendirilmiştir. pH 4.0 ve 30 °C sıcaklığında

gerçekleştirilen tez çalışması sonuçları ile yapılan bu çalışma sonuçları kıyaslandığında, tezde gözlenen killer aktivite değerlerinin, Banjara vd. (2016) tarafından yapılan sınıflandırmaya göre orta düzeyde killer aktivite düzeyinde olduğu gözlenmiştir. Tez çalışmasında bozulmuş peynirden izole edilen bozucu mayalara karşı yapılan killer aktivite denemelerinde killer özelliği test edilen mayaların bozucu mayalara karşı bu çalışmaya göre yüksek killer aktivite gösterdiği gözlemlenmemiştir. Banjara vd. (2016) oluşabilecek bir oksidatif reaksiyonu önlemek için besiyeri bileşiminde sodyum sitrat kullanmışlardır. Yapılan bu çalışmada özellikle pH açısından pH 4.5 ve pH 5.0'in, sıcaklık açısından ise 20-25 °C'deki inkübasyon derecesinin killer zonu etkilediği gözlemlenmiştir. Banjara vd. (2016)'nin yapmış oldukları bu çalışmada en az on iki örnekte tez çalışmasındaki gibi killer aktivite gözlemlenmiştir. Çalışmada elde edilen killer aktivite, tez çalışması ile karşılaşıldığında tez çalışmasına göre yüksek killer aktivite görülmüştür. Özellikle 20 °C'deki killer aktivite 15 mm ile en yüksek değere ulaşmıştır. Tez çalışmasında 30 °C'de oluşan killer aktiviteler kıyaslandığında çalışmada elde edilen killer aktivitelerin 2.2-15 mm arasında olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada özellikle *C. tropicalis*'e karşı killer özellik gösteren mayaların 20 °C'de 15 mm ve 25 °C'de 13 mm ile en yüksek killer aktiviteyi gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada killer aktivite 0-48 saat inkübasyon periyodunda görülmüştür. Killer aktivite gösterdiği tespit edilen ve peynirden izole edilen *D. hansenii* suşlarının *C. albicans* ve *C. tropicalis* üzerinde gösterdikleri killer aktivite 25 °C sıcaklıkta ve 24. saatte gözlenmeye başlamıştır. Banjara vd. (2016)'nin çalışmasının devamında berrak killer zon en az 10 gün daha gözlenmeye bırakılmış ve killer zon büyümeye devam etmiştir. Bu durum tez çalışmasında da gerçekleştirılmıştır. Tez çalışmasında sucuktan izole edilen mayalara karşı yapılan denemelerde 4. 5. ve 7. günün sonundaki incelemeler sonucunda zon çapının büyüğü, dolayısıyla killer aktivitenin devam ettiği gözlemlenmiştir. İnkübasyon sıcaklığı, inkübasyon süresi, besiyeri pH değeri, besyerindeki sodyum sitrat kullanımı ve agar difüzyon metodundaki farklılık gibi nedenlerden dolayı tez çalışmasındaki killer aktivite değerlerinin bu çalışmaya göre daha az düzeyde olduğu düşünülmektedir.

Killer toksin ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda sıvı kültür olarak geliştirilen maya izolatlarının üretikleri toksinler sıvı kültürden çeşitli yöntemlerle elde edilerek

saflaştırılmaktadır. Bu yöntemle saf ve daha yüksek konsantrasyonda elde edilen toksinler direkt olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla saf ve yüksek konsantrasyondaki toksin kullanımı ile gerçekleştirilen çalışma sonuçlarının daha yüksek aktivite değerlerlerinde olduğu gözlenmektedir. Bu şekilde gerçekleştirilen çalışmalar içerisinde Labbani vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada daha etkili sonuçlar sağlandığı gözlenmiştir. Labbani vd. (2015)'nin yapmış oldukları çalışmada *Pichia kluyveri* mayasından Pkkp toksinini izole etmişler ve molekül ağırlığını 54 kDa olarak belirlemişlerdir. Pkkp killer toksinini yiyecek ve içeceklerde bozulmaya neden olan birçok maya türü üzerine denemişler ve toksinin bozucu mayalar üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonunu (MICs) belirlemişlerdir. Tez çalışmasından farklı olarak katı besiyerinde kuyucuk yöntemi kullanılarak yapılan denemelerde, 25 °C'de 5 günlük inkübasyon süresi ile oluşan killer aktivite belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma sonuçları ise aU birimi olarak ifade edilmiştir. pH 4.0, pH 4.2, pH 4.3 ve pH 4.5'te ön denemeler gerçekleştirilmiş olup en iyi killer zon aktivitesinin tez çalışmasında olduğu gibi pH 4.0'te görüldüğü belirlenmiştir. Bu çalışmada sıvı besiyerinde elde edilen killer toksinin bozucu mayalar üzerindeki inhibisyon zon aktiviteleri katı besiyerinde agar difüzyon metodu ile kantitatif olarak belirlenmiş ve toksin etrafında oluşan zon çapı aU cinsinden verilmiştir. Tez çalışmasında mm olarak ölçülen zon çapı değerleri aU'e dönüştürülerek değerlendirilmiştir. Çalışmada sıvı kültürden elde edilen süpernatant toksin kaynağı olarak kullanılmıştır. Supernatantın etki etiği duyarlı mayalara karşı aU değeri 1.721 olarak tespit edilmiştir. Tez çalışmasında katı besiyerinde agar difüzyon metodu ile zon aktivitesi denemesinde çoğunlukla 0.4 aU, 1.6 aU ve 3.6 aU değeri görülmüş ve çalışma ile benzerlik göstermiştir. Ayrıca tez çalışmasında daha yüksek aU değerleri de tespit edilmiştir. Tez çalışması ve yapılan bu çalışmanın killer zon çapı aralıkları açısından gösterdikleri killer aktivitelerinin benzer olduğu belirlenmiştir. Çalışmada *P. kluyveri* killer mayasının çeşitli yiyecek, düşük alkollü içecek ve meyve suyu izole edilen bozucu mayaların %15'ini inhibe etiği vurgulanırken, tez çalışmasında et, süt ve diğer fermenti gıdalarda bozulmaya neden olan bozucu mayalara karşı killer özelliği araştırılan mayaların bozucu mayalar üzerinde yaklaşık %50 oranında killer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Labbani vd. (2015)'nin çalışmasında elde edilen killer aktivite değerleri ile tez çalışmasında gözlenen killer aktivite değerleri farklıdır. Çalışma koşullarının aynı olmaması, farklı bozucu maya suşları üzerinde çalışılmış

olması ve toksinin çalışmada kullanım şekli gibi önemli nedenlerden dolayı her iki çalışma sonuçlarında farklılıklar gözlenmiştir.

Villalba vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmada şarapta bozucu mayalara karşı *Torulaspora delbrueckii* tarafından üretilen killer toksin olan TdKT'nın etkinliği araştırılmıştır. Şarapta bozulmaya neden olan 12 adet *Brettanomyces bruxellensis*, *Pichia guilliermondii*, *P. manshurica* ve *P. membranifaciens* türü mayaların TdKT toksini ile biyokontrolü hedeflenmiştir. 18 farklı *T. delbrueckii* killer suşunun ürettiği toksinler bozucu mayalar üzerinde denenmiş ve en yüksek killer aktiviteyi sağlayan toksinin TdKT olduğu belirlenmiştir. Killer toksinin pH 4.2 ve pH 4.8 arasında en iyi killer aktiviteyi gösterdiği tespit edilmiş ve 40 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda toksinin inaktive olduğu saptanmıştır. Çalışma kapsamında şaraptan izole edilen bozucu mayalar üzerinde TdKT toksininin killer özelliğin belirlenmesi açısından toplam bozucu mayalara etkisi %83.3 düzeyinde görülmüştür. Tez çalışmasında da benzer şekilde, çalışmada kullanılan toplam bozucu mayalar içerisinde killer aktiviteye karşı hassasiyet gösteren bozucu maya sayısının yaklaşık %50 düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Villalba vd. (2015), killer toksin sentezlediği düşünülen *T. delbrueckii* mayası üzerinde çeşitli ön denemeler yoluyla çalışmalar yapmış ve toksinin killer aktivitesini tespit ettiklerinde killer toksini saflaştırmışlardır. Saflaştırma sonucunda killer mayanın üretmiş olduğu toksinin bu şekilde duyarlı maya izolatları üzerinde kullanımının bozucu mayalar üzerinde etkili olabildiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada inkübasyon sıcaklığının 30-35 °C arasında olması, besiyeri bileşiminde etanol kullanılması, besyerindeki glukoz miktarının yapılan tez çalışmına göre yüksek miktarda olması gibi durumların killer aktivite üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir. Benzer şekilde, bu konuda yapılan diğer çalışmalarında da çalışma koşullarının killer aktivite üzerinde önemli derecede etkili olduğu vurgulanmaktadır.

Goretti vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada, *Williopsis saturnus'*ın salgılanlığı KT4561 killer toksininin maya koleksiyonundan temin edilen 21 türde ait 310 adet bozucu maya üzerinde killer etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda killer toksinin denemedede kullanılan 310 adet bozucu mayanın yaklaşık % 65'ine karşı etki ettiği ve toksinin minimum inhibisyon konsantrasyonunun 32 µg/ml olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın kantitatif analizlerin de tez çalışmada olduğu gibi YEPD-MB agar katı

besiyeri kullanılmıştır. KT4561 toksini, katı besiyerine dökme plak ile inoküle edilen bozucu mayalar üzerine sıvı kültür yoluyla inoküle edilmiş ve 20 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmada, besiyeri sitrat-fosfat tampon ile pH 4.5'e ayarlanmış ve inkübasyon sonunda 32 µg/ml uygulanan toksinin bozucu mayalara %50-100 arasında killer aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Tez çalışmasında ise killer özelliği araştırılan 26 adet mayanın, çalışmada test edilen toplam 58 adet bozucu mayanın yaklaşık % 50 'sine karşı killer aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Goretti vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada, besiyeri bileşenleri dışında etanol, glukoz ve NaCl ilave edilmiş ve killer toksinin etki spektrumunun değişip değişmediği test edilmiştir. Çalışma sonucunda bu bileşenlerin killer toksin ile kullanıldığında etki spektrumunun arttığı rapor edilmiştir. Tez çalışmasında ise besiyerine, bileşimi dışında herhangi bir bileşen eklenmemiştir. Dolayısıyla bahsedilen çalışma şartlarındaki farklılıkların tez çalışması ve diğer çalışma sonuçlarının da farklı olmasında etkili olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, bozucu mayalar tarafından gıdaların bozulması sonucu önemli düzeyde ekonomik kayıplar oluşmaktadır. Çeşitli kaynaklardan gıdalara kontamine olan bozucu mayaların gelişimini önlemek amacıyla killer özellikteki mayaların ürettikleri killer proteinlerin kullanımı son yıllarda daha çok dikkat çekmektedir. Bu yönde yapılan çalışmalarla killer aktivite ve etki spektrumları üzerinde etkili olan parametrelerin oldukça farklı olduğu görülmektedir. pH, sıcaklık, besiyeri bileşimi, NaCl, glukoz, Malt Ekstrakt, etanol ilavesi ve toksinin ham veya saf olarak kullanımına göre yapılan çalışmalarla değişik sonuçlar elde edilmektedir.

Tez çalışması sonucunda ise laboratuar koşullarında killer özelliği araştırılan 26 maya izolatının bozucu mayalar üzerinde killer aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan literatürler incelenerek killer aktivitenin elde edildiği genel olarak sıcaklık ve pH'ının genel olarak sırasıyla 30 °C ve 4.0 olduğu görülmüştür. Dolayısıyla tez çalışmasında killer aktivite yeteneğinde olan mayaların belirlenmesi amacıyla bu sıcaklık ve pH değerinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasında killer aktivitenin belirlenmesinde katı besiyerinde agar difüzyon metodu uygulanmıştır. Sonuç olarak çeşitli gıda ürünlerinden izole edilen mayaların gıdalarda bozulmaya neden olan bozucu mayalara karşı killer toksin üretme yetenekleri yapılan bu tez çalışması ile belirlenmiştir. Killer özelliği araştırılan mayaların bozucu mayalar

üzerinde killer etki göstermesi sonucunda elde edilen killer aktivite sonuçları ilerleyen çalışmalarda değerlendirilecektir. Bununla birlikte farklı maya izolatlarının üretmiş oldukları killer toksinlerin saflaştırılması ve bu toksinlerin farklı ürünlerde kullanım olanakları sonraki aşamalarda yapılması planlanan çeşitli çalışmalarla araştırılacaktır. Ayrıca bu alanda yapılan çalışmalarda killer mayaların gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanılabilirliği üzerinde durulmaktadır. Bu şekilde killer mayaların çeşitli gıda endüstrilerinde koruyucu ajan olarak kullanımı dolayısıyla gıda endüstrisinde kullanılan kimyasal koruyucuların azaltılmasında alternatif bir uygulama imkânı sağlayacağı düşünülmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Afyoncu, A., 2012. Şarapta Yeni Öldürücü Mayaların Karakterizasyonu. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans, 91, Burdur.
- Aguigar, C., Lucas, C., Calado, S., Silva, S., 2008. Unusual properties of the halotolerant yeast *Candida nodaensis* Killer toxin, CnKT. Microbiological Research, 163, 243-251.
- Alonso, A., Belda, I., Santos, A., Navascues, E., Marquina, D., 2015. Anvances in the control of the spoilage caused by *Zygosaccharomyces* species on sweet wines and concentrated grape musts. Food Control, 51, 129-134.
- Altuntaş, E.G., Özçelik, F., 2007. Killer Özellikli Mayaların Etki Mekanizmaları ve Endüstride Yol Açıkları Sorunlar. Gıda, 32(4), 205-242.
- Antonini, S.R.C., Sanino, A., Araujo, J.C., Tosta, C.D., 2005. The killer yeasts and the Alcoholic Fermentation. Brazillian Journal of Food Technology, 5, 40-46.
- Baeza, M.E., Sanhueza, M.A., Cifuentes, V.H., 2008. Occurrence of killer yeast strains in industrial and clinical yeast isolates. Biol.Res., 41, 173-182.
- Bajaj, B.K., Raina, S., Singh, S., 2013. Killer toxin from a novel killer yeast *Pichia kudriavzevii* RY55 with idiosyncratic antibacterial activity. Journal of Basic Microbiology, 53, 645-656.
- Banjara, N., Nickerson, K.W., Suhr, M.J., Hallen-Adams, H.E., 2016. Killer toxin from several food-derived *Debaryomyces hansenii* strains effective against pathogenic *Candida* yeasts. International Journal of Food Microbiology, 222, 23-29.
- Bayraktar, V.N., 2012. Phenotypes investigation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* isolated from different grape cultivars followig fermentation. Biological Bulletin, 2225-5486.
- Benda, I., Hefen in der Kellerwirtschaft-Untersuchungen über sogenannte Killerhefen bei der Mostgarung. Dtsch.Weinbau 40, 1166-1171.
- Bevan, E.A., Makower, M., 1963, The physiological basis of the killer character in yeast. Proceeding of the 11<sup>th</sup> international conference on Genetics, 1, 203.
- Boekhout, T., Robert, V., 2003. Yeasts in food, beneficial and detrimental aspects. Behr's Verlag DE, 362-467.
- Brussow, H., Desiere, F., 2001. Comparative phage genomics and the evolation of Siphoviridae: insights from dairy phages. Molecular Microbiology, 39, 213-222.

- Bussey, H., 1972. Effects of Yeast Killer Factor on Sensitive Cells. Nature New Biology, 235, 73-75.
- Buzdar, M.A., Chi, Z., Wang, Q., Hua, M.X., Chi, Z.M., 2011. Production, purification, and characterization of a novel killer toxin from *Kluyveromyces siamensis* against a pathogenic yeast in crab. Application Microbiology Biotechnology, 91, 1571-1579.
- Buzzini, P., Corazzi, L., Turchetti, B., Buratta, M., 2004. Characterization of the in vitro antimycotic activity of a novel killer protein from *Williopsis saturnus* DBVPG 4561 against emerging pathogenic yeasts. FEMS Microbiol, 238, 359-365.
- Buzzini, P., Martini, A., 2000. Differential growth inhibition as a tool to increase the discriminating power of killer toxin sensitivity in fingerprinting of yeasts. FEMS Microbiology Letters, 193, 31-36.
- Chi, Z.M, Liu, G, Zhao, S, Li, J, Peng, Y., 2010. Marine yeasts as biocontrol agents and producers of bio-products. Application Microbiol Biotechnology, 86, 1227-1241.
- Ciani, M. and Maccarelli, F., 2004. *Kluyveromyces phaffii* killer toxin active against wine spoilage yeasts: purification and characterization. Microbiology, 150, 2535-2541.
- Comitini, F., Di Pietro, N., Zacchi, L., Mannazzu, I., 2004. *Kluyveromyces phaffii* killer toxin active against wine spoilage yeasts: purification and characterization. Microbiology, 150, 2535-2541.
- Conti, S., Magliani, W., Giovati, L., Frazzi, R., Salati, A., Ravanetti, L., Polonelli, L., 2002. Inhibition by yeast killer toxin-like antibodies of oral *Streptococci* adhesion to tooth surfaces in an ex vivo model. Mol Med, 8, 313-317.
- Çorbacı, C., 2008. Yüksek Sıcaklık ve Ekstrem pH'da *Debaryomyces hansenii* Strainlerinin Büyümesi Üzerine Sodyumun Etkisi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans, 207, İzmir.
- Çorbacı, C., Uçar, F.B., Yalçın, H.T., 2012. *Debaryomyces hansenii* Strainlerinde Killer Toksin Üretiminin Optimizasyonu. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 03-07 Eylül, İzmir, 697.
- Dabhole, M.P., Joishy, K.N., 2005. Production and effect of killer toxin by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia kluyveri* on sensitive yeasts and fungal pathogens. Indian Journal of Biotechnology, 4, 290-292.
- Doğer, E., 2004. Antik Çağda Bağ ve Şarap. İletişim Yayınları, Cağaloğlu 34122, 198, İstanbul.
- El-Banna, A.A., El-Sahn, M.A., Shehata, M.G., 2011. Yeasts Producing Killer Toxins: An Overview. Alex. J. Fd. Sci. & Technol., 8(2), 41-53.

- Erginkaya, Z., Var, I., Evliya, B., 1996. Bazı Fermente Gıdalardan Öldürücü Mayaların (Killer Yeasts) İzolasyonu ve Fermente Ürünlerde Starter Kültür Olarak Kullanma Olanaklarının Araştırılması, Tarım Orman ve Gıda Teknolojileri Araştırma Grubu, TÜBİTAK Proje No: TOGTAG-1233, 39, Adana.
- Estrada-Godina, A.R., Cruz-Guerrero, A.E., Lappe, P., Ulloa, A., Garcia-Garibay, M., Gomez-Ruiz, L., 2001. Isolation and identification of killer yeasts from *Agave sap* (aguamiel) and pulque. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 17, 557-560.
- Florentina, M., Gageanu, A., 2011. Killer profile of wine yeast strains isolated in Dealurile Bujorului vineyard. Romanian Biotechnological Letters, 16(6), 144-147.
- Garcia-Garibay, M., Gomez-Ruiz, L., Cruz-Guerrero, A.E., Lappe, P., Ulloa, M., 2009. Killer yeasts and alcoholic beverages. 13. Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, 2009, Mexico.
- Golomb, B.L., Morales, V., Jung, A., Yau, B., Boundy-Mills, K.L., Marco, M.L., 2013. Effects of pectinolytic yeast on the microbial composition and spoilage of olive fermentations. Food Microbiology, 33, 97-106.
- Golubev, W. I., 2015. Antifungal Activity of *Wickerhamomyces silvicola*. Microbiology, 84(5), 610–615.
- Goretti, M, Turchetti, B, Buratta, M, Branda, E, Corazzi, L, Martini, A.V, Buzzini, P., 2009. In vitro antimycotic activity of a *Williopsis saturnus* killer protein against food spoilage yeasts. Internationa Journal of Food Microbiology, 131, 178-182.
- Goto, K., Iwase, Y., Kichise, K., Kitano, K., Totuka, A., Obata, T. and Hara, S., 1990. Isolation and properties of a chromosome-dependent KHR killer toxin in *Saccharomyces cerevisiae*. Agriculture Biology Chemistry, 54, 505–509.
- Gulbiniene, G., Kondratiene, L., Jokantaite, T., Serviene, E., Melvydas, V., Petkuniene, G., 2004. Occurrence of Killer Yeast Strains in Fruit and Berry Wine Yeast Populations., Food Technologies Biotechnology, 42(3),159-163.
- Gunje, N., Tamaru, A., Ozawa, F., Sakaguchi, K., 1981. Isolation characterization of linear deoxiribonucleic acid plasmids from *Kluyveromyces lactis* and the plasmid-associated killer character. Journal Bacteriology, 145, 382-390.
- Guyard, C., Dehecq, E., Tissier, J.P., Polonelli, L., Dei-Cas, E., Cailliez, J.C., Menozzi, F.D., 2002. Involvement of beta-glucans in the wide-spectrum antimicrobial activity of *Williopsis saturnus* var. *mrakii*. MUCL 41968 killer toxin. Mol Med, 8, 686-694.

- Hatoum, R., Labrie, S., Fliss, I., 2012. Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications. *Frontiers in Microbiology*, 421(3), 1-12.
- Helguera O, A, Alejandro, D.L.P, Irene C., 2012. Occurrence of killer *Candida glabrata* clinical isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 880-887.
- Henriques-Normark, B., 2007. Molecular epidemiology and mechanisms for antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. In: Hakenbeck, R, Chhatwal GS (eds) Molecular biology of streptococci. Horison Press, Wymondham, Norfolk, United Kingdom, 269-290.
- Hernandez, A., Martin, A., Cordoba, M.G., Benito, M.J., Aranda, E., Nevado, F.P., 2008. Determination of killer activity in yeasts isolated from the elaboration of seasoned green table olives. *International Journal of Food Microbiology*, 121, 178-188.
- Herring, AJ, Bevan, EA., 1974. Virus-like Particles Associated with the Double-stranded RNA Species Found in Killer and Sensitive Strains of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of General Virology*, 22, 387-394.
- Hodgson, V.J., Button, D., Walker, G.M., 1995. Anti-Candida activity of a novel killer toxin from the yeast *Williopsis mirabilis*. *Microbiology*, 141, 2003-2012.
- Ingeniis, J.D., Raffaelli, N., Ciani, M., Mannazzu, I., 2009. *Pichia anomala* DBVPG 3003 Secretes a Ubiquitin-Like Protein That Has Antimicrobial Activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(4), 1129-1134.
- Izgu, F., Altınbay, D., Yüceliş, A., 1996. Identification and killer activity of a yeast contaminating starter cultures of *Saccharomyces cerevisiae* strains used in the Turkish baking industry. *Food Microbiology*, 14, 125-131.
- Izgu, F., Altınbay, D., Derinel, Y., 2004. Immunization of the industrial fermentation starter culture strain of *Saccharomyces cerevisiae* to a contaminating killer toxin producing *Candida tropicalis*. *Food Microbiology*, 21, 635-640.
- Jacobsen, G.K., 1985. Eastern grape grower and winery news. August/September, 29-31.
- Kara, G.N., Özbaş, Y., 2013. Sofralık zeytin üretiminde doğal maya florاسının önemi. *Gıda*, 38(6), 375-382.
- Kast, A., Klassen, R., Melnhardt, F., 2014. rRNA fragmentation induced by a yeast killer toxin. *Molecular Microbiology*, 91(3), 606-617.
- Kaynar, P., 2011. Ülkemiz Peynirleri Üzerine Mikrobiyolojik Araştırmalar. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti dergisi*, 41(1), 1-8.

- Kepekci, R.A., 2006. Antifungal Spectrum Determination Of The K5 Type Yeast Killer Protein On Fungi Causing Spoilage In Citrus Fruits. Middle East Technical University, Institute of Science and Technology, MSci Thesis, 118, Ankara.
- Labbani, F.Z.K, Turchetti, B, Bennamoun, L, Dakhmouche, S, Roberti, R, Corazzi, L, Meraihi, Z, Buzzini, P., 2015. A novel killer protein from *Pichia kluyveri* isolated from an Algerian soil: purification and characterization of its in vitro activity against food and beverage spoilage yeasts. Antonie van Leeuwenhoek, 107, 961–970.
- Lim, S.L., Tay, S.T., 2011. Diversity and killer activity of yeasts in Malaysian fermented food samples. Tropical Biomedicine, 28(2), 438-443.
- Lima, J.R, Gondim, D.M.F, Oliveira, J.T.A, Gonçalves, L.R.B, Viana, F.M.P., 2013. Use of killer yeast in the management of postharvest papaya anthracnose. Postharvest Biology and Technology, 83, 58–64.
- Lima, J.R.d, Goçalves, L.R.B, Brandaو, L.R., Rosa, C.A., Viana, F.M.P., 2010. Isolation, identification, and activity in vitro of killer yeasts against *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from tropical fruits. Journal of Basic Microbiology, 53, 590-599.
- Liu, S.Q., Tsao, M., 2009. Inhibition of spoilage yeasts in cheese by killer yeast *Williopsis saturnus* var. *saturnus*. International Journal of Food Microbiology, 131, 280-282.
- Llorente, P., Marquina, D., Santos, A., Peinado, J.M., Spencer-Martins, I., 1997. Effect of salt on the killer phenotype of yeasts from olive brines. Application Environmental Microbiology, 63, 1165-1167.
- Lopes, C.A, Jofre, V, Sangorrin, M.P., 2009. Spoilage yeasts in Patagonian winemaking: molecular and physiological features of *Pichia guilliermondii* indigenous isolates. Articulo Original, 41, 177-184.
- Lopes, C.A, Sangorrin, M.P., 2010. Optimization of killer assays for yeast selection protocols. Articulo Original, 42, 298-306.
- Lopez, F.A.L, Traves, L.P. Querol, A, Barrio, E., 2011. Exclusion of *Saccharomyces kudriavzevii* from a wine model system mediated by *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast, 28, 423-435.
- Magliani, W., Conti, S., Travassos, L.R., Polonelli, L., 2008. From yeast killer toxins to antibodies and beyond. FEMS Microbiol Letters, 288, 1-8.
- Manfred, J., Breinig F., 2002. The viral killer system in yeast from molecular biology to application. FEMS Microbiology Reviews, 26, 257-276.

- Maqueda, M., Zamora, E., Alvarez, M.L., Ramirez, M., 2011. Characterization, Ecological Distribution, and Population Dynamics of *Saccharomyces* Sensu Stricto Killer Yeasts in the Spontaneous Grape Must Fermentations of Southwestern Spain. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(3), 735.
- Marquina, D., Santos, A., Peinado, J.M., 2002. Biology of killer yeasts. *International Microbiology*, 5, 65-71.
- Martin, E., Bongiorno, G., Giovati, L., Montagna, M., Crotti, E., Damiani, C., Gradoni, L., Polonelli, L., Ricci, I., Favia, G., Epis, S., 2016. Isolation of a *Wickerhamomyces anomalus* yeast strain from the sandfly *Phlebotomus perniciosus*, displaying the killer phenotype. *Medical and Veterinary Entomology*, 30, 101–106.
- Maule, A.P., Thomas, A.D., 1973. Strains of Yeast Lethal to Brewery Yeasts. *Journal Inst. Brewery*, 79, 137-141.
- Meneghin, M.C., Reis, V.R., Antonini, S.R., 2010. Inhibition of bacteria contaminating alcoholic fermentations by killer yeasts. *Brazilian Archives of Biology Technology*, 53, 1043-1050.
- Mushtaq, M., Nahar, S., Hashmi, M.H., 2013. Screening of killer-sensitive parttern (KSP) for biotyping yeast strains isolated from dairy products. *Pakistan Journal Botany*, 45(3),1039-1044.
- Ochigava, J., Collier, P.J., Walker, G.M., Hakenbeck, R., 2011. *Williopsis saturnus* yeast killer toxin does not kill *Streptococcus pneumoniae*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 99, 559-566.
- Ojalvo, D.L., Rodriguez, A., Cordero, M., Bernaldez, V., Reyes-Prieto, M., Cordoba, J.J., 2015. Characterisation and detection of spoilage mould responsible for black spot in dry-cured fermented sausages. *Meat Science*, 100, 283-290.
- Oro, L., Ciani, M., Comitini, F., 2013. Antimicrobial activity of *Metschnikowia pulcherrima* on wine yeasts. *Journal of Applied Microbiology*, 116, 1209-1217.
- Özçelik, F., Türkmen, U., Ateş, S., Farklı Bölgelerden İzole Edilen Şarap Mayalarının Killer Özelliklerinin Belirlenmesi. 1996. *Turkey Journal of Biolog*, 20, 241-249.
- Palero, M.J.R., Risco, J.F., Codon, A.C., Benitez, T., Valcarcel, M.J., 2013. Selection of an autochthonous *Saccharomyces* strain starter for alcoholic fermentation of Sherry base wines. *Journal Indian Microbiol Biotechnology*, 40, 613-623.
- Paluszynski, J.P., Klassen, R., Meinhardt, F., 2007. *Pichia acaciae* iller system: genetic analysis of toxin immunity. *Application Environmental Microbiology*, 73, 4373-4378.

- Parveen, R., M., Begum, J., A., 2010. Production and effect of killer toxin by *Saccharomyces cerevisiae* on sensitive yeast and fungal pathogens. Adhiparasakthi Collage of Arts and Science, 3(1), 26.
- Peng, Y., Chi, Z., Wang, X., Li, J., 2010.  $\beta$ -1,3-Glucanase Inhibits Activity of the Killer Toxin Produced by the Marine-Derived Yeast *Williopsis saturnus* WC91-2. Marine Biotechnology, 12, 479-485.
- Penney, V., Henderson, G., Blum, C., Johnson-Green, P., 2004. The potential of phytopreservatives and nisin to control microbial spoilage of minimally processed fruit yogurts. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 5, 369-375.
- Petering, J.E., Symons, M.R., Langridge, P., Henschke, P.A, 1991. Determination of Killer Yeast Activity in Fermenting Grape Juice by Using a Marked *Saccharomyces* Wine Yeast Strain. Applied and Environmental Microbiology, 57, 3232-3236.
- Platania, C., Restuccia, C., Muccilli, S., Cirvilleri, G., 2012. Efficacy of killer yeasts in the biological control of *Penicillium digitatum* on Torocco orange fruits (*Citrus sinensis*). Food Microbiology, 30, 219-225.
- Polonelli, L., Morace, G., 1987. Production and characterization of yeast killer toxin monoclonal antibodies. J Clinical Microbiology, 25, 460-462.
- Polonelli, L., Magliani, W., Cioci-ola, T., Giovati, L., and Conti,S., 2011. From *Pichia anomala* killer toxin through killer antibodies to killer peptides for a comprehensive anti-infective strategy. Antonie Van Leeuwenhoek, 99, 35-41.
- Portes, C.D.S, Oliveira, A.V.D, Simer, P, Lunkes, A.M, Coelho, R., 2013. Role of Killer Factors in the Inhibitory Activity of Bio-control Yeasts against *Penicillium expansum* and *Aspergillus ochraceus*. Brazilian Archives of Biology Technology, 56(4), 619-627.
- Ramon-Portugal, F., Delia, M.L., Strehaino, P., Riba, J.P., 1998. Mixed culture of killer and sensitive *Saccharomyces cerevisiae* strains in batch and continuous fermentations. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 14, 83-87.
- Rodriguez-Gomez F, Bautista-Gallego J, Arroyo-Lopez F N, Romero-Gil V, Jimenez-Diaz R, Garrido-Fernandez A, Garcia-Garcia P. 2013. Table olive fermentation with multifunctional *Lactobacillus pentosus* strains. Food Control, 34, 96-105.
- Rosa, M.M., Tornisielo, S.M.T., Rampazzo, P.E., Antoninin, S.R.C., 2010. Evaluation of the biological control by the yeast *Torulaspora globosa* against *Colletotrichum sublineolum* in sorghum. World Journal Microbiol Biotechnology, 26, 1491-1502.

- Rosa-Magri, M.M., Tauk-Tornisielo, S.M., Ceccato-Antonini, S.R., 2011. Bioprospection of yeasts as biocontrol agents against phytopathogenic molds. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(1), 1516-8913.
- Russel, I., 1986. Killer yeast identification. *ASBC Journal*, 44(3), 123-125.
- Santo, D.E., Galego, L., Gonçalves, T., Quintas, C., 2012. Yeast diversity in the Mediterranean strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits' fermentations. *Food Research International*, 47, 45–50.
- Santos, A., Marquina, D., 2004. Killer toxin of *Pichia membranafaciens* and its possible use as a biocontrol agent against grey mould disease of grape wine. *Microbiology*, 150, 2527-2534.
- Schmitt, M.J., Breining, F., 2002. The viral killer system in yeast. *Molecular Biology of Application*, 26, 257-276.
- Schmitt, M.J., Breining, F., 2006. Yeast viral killer toxins: lethality and self-protection. *Nature Revival Microbiology*, 4, 212-221.
- Sertkaya, A., 2005. Investigation of cytoidal effect of K5 type yeast killer protein on sensitive microbial cells, Middle East Technical University, Institute of Science and Technology, MSci Thesis, 87, Ankara.
- Sesti, F., Shih, T.M., Nkolaeva, N., Goldstein, S.A.N., 2001. Immunity to K1 killer toxin: internal TOK1 blockade. *Cell*, 105, 637-644.
- Silva-Graca, M., Neves, L., Lucas, C., 2003. Outlines for the definition of halotolerance/halophily in yeasts: *Candida versatilis* (halophila) CBS4019 as the archetype. *FEMS Yeast Res*, 3, 347-362.
- Suzuki, C., 1999. Secretion of a protoxin post-translationally controlled by NaCl in a halotolerant yeast, *Pichia farinosa*. *Yeast*, 15, 123-131.
- Tredoux, H.G., Tracey, R.P., Tromp, A., 1986. Killer Factor in wine Yeasts and its Effect on Fermentation. Viticultural and Oenological Research Institute, Republic of South Africa.
- Türkay, Ç., 2012. Katil Maya *Lindnera saturnus*'un Bozucu Mayalara Etkisi (in vitro). Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans, 67, Tekirdağ.
- Ullivari, M. F.D, Mendoza, L.M, Raya, R.R, Farias, M.E., 2011. Killer phenotype of indigenous yeasts isolated from Argentinian wine cellars and their potential starter cultures for winemaking. *Biotechnol Letters*, 33, 2177-2183.
- Vadkertiova, R, Slavikova, E., 2007. Killer activity of yeasts isolated from natural environments against some medically important *Candida* species. *Polish Journal of Microbiology*, 56(1), 39-43.

- Van Vuuren, H.J.J., Jacobs, C.J., 1992. Killer yeasts in the wine industry. American Journal of Enology and Viticulture, 43, 119-128.
- Villalba, M.L., Saez, J.S., del Monaco, S., Lopes, C.A., Sangorrin, M.P., 2016. TdKT, a new killer toxin produced by *Torulaspora delbrueckii* effective against wine spoilage yeasts. International Journal of Food Microbiology, 217, 94-100.
- Waema, S., Maneesri, J., Masniyom, P., 2009. Isolation and identification of killer yeast from fermented vegetables. Asian Journal of Food and Agro-Industry, 2, 126-134.
- Walker, G.M., McLeod, A.H., Hodgson, V.J., 1995. Interactions between killer yeasts and pathogenic fungi. FEMS Microbiology Letters, 127, 213-222.
- Wang, X., Chi, Z.M., Yue, L., Li, J., Li, M., Wu, L., 2007a. A marine killer yeast against the pathogenic yeast strain in crab (*Portunus trituberculatus*) and an optimization of the toxin production. Microbial Res, 162, 77-85.
- Wang, X., Chi, Z.M., Yue, L., Li, J., Li, M., Wu, L., 2007b. Purification and characterization of killer toxin from a marine yeast *Pichia anomala* YF07b against a yeast strain pathogenic yeast in crab. Current Microbiology, 55, 396-401.
- Wójcik, M.,and -Wiater M.K., 2015. The occurrence of killer activity in yeasts isolated from natural habitats. ACTA-ABP, 62(4), 821-825.
- Woods, D.R., Bevan, E.A., 1968. Studies on nature of killer factor produced by *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of General Microbiology, 51, 115-126.
- Woods, D.R., Ross, J.W., Hendry, D.A., 1974. A New Killer Factor Produced by a Killer/Sensitive Yeast Strain. Journal of General Microbiology, 81, 285-289.
- Yener, B., 2006. Determination of antimicrobial spectrum of K9 type killer toxin and its cell killing activity. Middle East Technical University, Institute of Science and Technology, MSci Thesis, 99, Ankara.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Adı ve Soyadı	: Hüseyin ÖZTÜRK
Doğum Yeri ve Yılı	: Manavgat, 1991
Medeni Hali	: Bekar
Uyruğu	: T.C.
Yabancı Dili	: İngilizce
E-posta	: hsynozturk.07@gmail.com

### **Eğitim Durumu:**

Lise : Manavgat Lisesi, 2009

Lisans : Hitit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü,  
2013

### **Yayınları:**

Öztük, H., Özbent, B., Kart, A., 2016. Gıda Endüstrisinde *Candida* Maya Türlerinin Önemi, 12. Türkiye Gıda Kongresi, Edirne, 5-7 Ekim.

Öztürk, H., 2016. Tavuk Etinin Besin Değeri ve insane Sağlığı Üzerine Etkisi. 12. Türkiye Gıda Kongresi, Edirne, 5-7 Ekim.

Özbent, B., Öztürk, H., Kart, A., 2016. Mikroorganizmalar Tarafından Ekzopolisakkarit Üretilimi, 12. Türkiye Gıda Kongresi, Edirne, 5-7 Ekim.

Şevik, F., Öztürk, H., 2015. Artezyen ve Musluk Suyunun İçme ve Kullanma suyu Kalite Parametreleri Açısından Değerlendirilmesi, 5. Gıda Güvenliği Kongresi, İstanbul, 7-8 Mayıs.