Çukurova Tarım Gıda Bil. Der. *Çukurova J. Agric. Food Sci.*
35(1): 15-28, 2020
doi: 10.36846/CJAFS.2020.14

Araştırma Makalesi

Bazı Gıdalardaki Bozulma Etkeni Maya Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması

Mine ERDEM BÜYÜKKİRAZ[1*], Esra AVCI[2], Neslihan KAHRAMAN[2], Zülal KESMEN[2]

Öz

Gıdalarda bozulmaya neden olan mayaların belirlenmesi özellikle, kontaminasyon döngüsünün kırılması ve bozulma etkeni türlere özgü koruyucu önlemlerin alınması bakımından önemli görülmektedir. Bu nedenle bu çalışmada duyusal olarak tüketilebilirliğini kaybetmiş süt ürünleri, et ürünleri, taze meyve ve sebzeler, turşu ve salamura ürünler olmak üzere farklı gıda gruplarına ait örneklerin maya profilleri tespit edilmiştir. Bu amaçla yerel marketlerden, halk pazarlarından ve ev yapımı ürünlerden toplanan toplam 86 örnek analiz edilmiştir. Analiz edilen örneklerden izole edilen toplam 1032 maya izolatı tanımlanmıştır. Bunun için her bir örnekten saflaştırılan maya izolatları, tekrarlayan dizilere dayalı PCR (rep-PCR) yöntemiyle gruplandırılmıştır. Daha sonra her bir grubu temsil edecek sayıda izolat 26 S ribozomal DNA üzerindeki 665 bç'lik bölge (D1/D2 bölgesi) ve ribozomal DNA'nın transkript olan ara bölgesini (ITS) hedef alan dizi analizi yöntemi ile tanımlanmıştır. Tanımlanan izolatların dağılımı üründen ürüne değişmekle birlikte *Pichia fermentans* (% 11.60) ve *Debaryomyces hansenii* (% 11.50) tüm izolatlar içerisinde sayıca en baskın türler olarak bulunmuş ve bu türleri *Candida zeylanoides* (% 10.08) ve *Kluyveromyces marxianus* (% 8.04) takip etmiştir. Sonuçta her bir örnek grubundaki baskın maya türleri belirlenmiş ve analiz edilen gıda gruplarına özgü maya profilleri elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Gıda bozulması, maya, tanımlama, rep-PCR, dizi analizi

Identification of Spoilage Yeasts Isolated From Some Foods

Abstract

Identification of yeast species that cause food spoilage is considered to be particularly important in terms of breaking the contamination cycle and taking preventive measures specific to the spoilage species. For this reason, in this study, yeast profiles of different food groups including dairy products, meat products, fresh fruits and vegetables, pickles and brined products, which have lost their sensible consumability have been determined. Hence, a total of 86 samples collecting from local and public markets and homemade products were analyzed. A total of 1032 yeast isolates recovered from the analyzed samples were identified. For this purpose, yeast isolates purified from each sample were grouped by repetetive sequence based polymerase chain reaction (rep-PCR) method. Then, a representative number of isolates from each group were identified by sequence analysis method targeting the 665 bp region (D1/D2 region) on 26 S ribosomal DNA and the Internal Transcribed Spacer (ITS) of ribosomal DNA. Although the distribution of the identified isolates varies from product to product, *Pichia fermentans* (11.60 %) and *Debaryomyces hansenii* (11.50 %) were found to be the most dominant species among all isolates and they were followed by *Candida zeylanoides* (10.08 %) and *Kluyveromyces marxianus* (8.04 %). As a result, dominant yeast species in each sample group were determined and yeast profiles specific to the analyzed food groups were obtained.

Keywords: Food spoilage, yeast, identification, rep-PCR, sequence analysis
ORCID ID (Yazar sırasına göre)
0000-0002-8724-0466, 0000-0002-1826-1642, 0000-0002-1920-1393, 0000-0002-4505-6871

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 01.04.2020
Kabul Tarihi: 21.05.2020
[1]Kapadokya Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler YO, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Nevşehir
[2]Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 38039, Kayseri
[*] E-posta: mine.buyukkiraz@kapadokya.edu.tr

Giriş

Mayaların gıdalar üzerindeki etkisi çift yönlü olup, bir taraftan ekmek, bira, şarap ve diğer alkollü içeceklerin üretiminde arzu edilen biyokimyasal dönüşümlere neden olurken (Abbas, 2006), diğer taraftan bozulma yapan bakterilerin gelişemedikleri ortamlarda (düşük su aktivitesi, yüksek tuz/şeker konsantrasyonu, düşük pH) gelişerek arzu edilmeyen değişikliklere neden olmakta ve sonuçta bu ürünlerin değişik şekillerde bozulmalarına yol açmaktadır (Fleet, 2007; Deak, 2007). Mayalar lipolitik, proteolitik ve pektolitik aktivitelerinin yanında fermantasyon sonucu oluşturdukları alkol ve CO_2 gibi ürünler sebebiyle gıdaların tat, koku ve tekstürünü olumsuz yönde etkileyebilmektedirler (Stratford, 2006; Pitt ve Hocking, 2009; Hernández ve ark., 2018). Maya kaynaklı bozulmalar gıdayı tüketilemeyecek duruma getirerek ekonomik kayıplara neden olurken, fırsatçı mayalar ile kontamine olmuş gıdaların tüketimi, diyare veya bağışıklığı zayıflamış kişilerde alerjik tepkiler gibi sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Pfaller ve Diekema 2004; Fleet, 2011; Miceli ve ark., 2011).

Maya kaynaklı bozulmalar gıda endüstrisinde yaygın bir problemdir ve bu nedenle bozulma yapan mayaların proses kontrol ve kalite güvencesinin ayrılmaz bir parçası olarak izlenmesi, giderek artan bir önem kazanmaktadır (Kurtzman, 2015). Üründe bozulma ya da kalite düşmesine neden olan maya türlerinin doğru bir şekilde tespit edilerek bozulma etkeni türe özgü, koruyucu tedbirlerin alınması, kaliteli ve uzun raf ömrüne sahip gıdaların üretimi için gerekli görülmektedir (Li ve ark., 2010; Erdem ve ark., 2016). Ancak bugüne kadar gıdada bozulmaya neden olan maya türlerinin tespitine yönelik yapılmış çalışmalarda genellikle morfojik, fizyolojik ve biyokimyasal karakteristiklere dayanan fenotipik yöntemler kullanılmıştır. Gıdalardan izole edilen mayaların tanımlanmalarında kullanılan fenotipik yöntemlerin bazen yanlış tanımlamalara yol açtığı göz önüne alındığında, mayaların tanımlanmasında daha güncel olan DNA'ya dayalı genotipik yöntemlerin kullanılması kaçınılmaz hale gelmiştir (Stratford, 2006; Hernández ve ark., 2018). Bu amaçla gıdalardan izole edilen mayaların tanımlanması için türe spesifik primerlerin kullanıldığı PCR yöntemi (Cocolin ve ark., 2004), Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) (Corte ve ark., 2015), Çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphisms, AFLPs), tekrarlayan dizilere dayalı PCR (repetetive sequence based polymerase chain reaction, rep-PCR) (Ceugniez ve ark., 2015) ve PCR-restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (PCR-restriction fragment length polymorphisms, PCR-RFLP) (Pham ve ark., 2011) gibi birçok genotipik yöntem kullanılmıştır. Bununla birlikte 26S rRNA geni D1/D2 bölgesi (Caputo ve ark., 2012) ve transkript olan ara bölgenin (Internal Transcribed Spacer, ITS) (Pereira ve ark., 2015) dizi analizi maya türlerinin doğru bir şekilde tanımlanması amacıyla yaygın olarak kullanılan güçlü tekniklerdir. Gıdalardan elde edilen çok sayıda izolatın tanımlanmasında pratik bir çözüm olarak, izolatlar önce rep-PCR, RAPD ve PCR-RFLP gibi bir fingerprint yöntemleriyle gruplandırılmakta ardından her bir grubu temsil edecek sayıda izolat dizi analizi ile tanımlanmaktadır (Kesmen ve ark., 2018).

Gıdalarda mayaların neden olduğu bozulmalar türe hatta suşa bağımlı bir karakter sergilemektedir (Fleet ve Balia, 2006). Dolayısıyla gıdalarda maya kaynaklı bozulmaların önlenmesi için, risk oluşturan maya türlerinin belirlenmesi, kaynağının anlaşılması, rotasının izlenmesi ve kontaminasyonun engellenmesi son derece önemlidir. Bu nedenle bu çalışmada pek çok gıda ürününde bozulmaya neden olan mayaların genotipik yöntemler kullanılarak tür seviyesinde tanımlanması gerçekleştirilmiş ve farklı gıda gruplarının maya profilleri ortaya konulmuştur.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışmada et ve et ürünleri, süt ürünleri, taze meyve ve sebzeler, turşu ve salamura ürünler olmak üzere farklı gıda gruplarına ait toplam 86

örnek Kayseri'de bulunan yerel market, halk pazarları ve ev yapımı ürün satış noktalarından (2015-2016 yılında) toplanmıştır (Çizelge 1). Örneklemede rengi, kokusu ve görünüşü itibari ile duyusal olarak bozulmuş olduğu kabul edilen ürünlerin seçimine dikkat edilmiştir. Soğuk zincir ile laboratuvara taşınan bu ürünlerden maya hücre sayısı en az 10^5 kob/g olan örnekler çalışmada kullanılmıştır.

Çizelge 1. Analiz edilen örnek grupları ve izolat sayıları

Ürün grubu	Örnek türü	Örnek sayısı	Kaynak	İzolat sayısı
Süt ürünleri	Peynir	10	Halk pazarı	108
	Kaymak	5	Yerel Market	65
	Yoğurt	5	Ev yapımı	89
Fermente bitkisel ürünler	Asma yaprağı	5	Köy pazarı-ev yapımı	87
	Gilaboru	3	Köy pazarı	19
	Turşu (karşık ve hıyar)	13	Ev yapımı	146
	Sirke	4	Halk pazarı	25
	Zeytin	4	Yerel Market	55
Meyve Sebze	Meyve ve sebze	19	Köy pazarı-Halk pazarı	234
Et ve Et ürünleri	Taze et	4	Yerel Market	45
	Salam	9	Yerel Market	89
	Sosis	2	Yerel Market	12
	Sucuk	3	Yerel Market	59
TOPLAM		86		1032

Yöntem

Gıda Örneklerinden Maya Suşlarının İzolasyonu ve Saflaştırılması

Gıda örneklerinden 10 g tartılarak 90 mL Maximum Recovery Dilüent (Merck/Almanya) ile süspanse edilmiş ve steril koşullarda parçalanıp, homojenize edildikten (Retsch mm–400, Almanya) sonra 10^{-1} den 10^{-6} ya kadar seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan mayaların izolasyonu ve sayımı için Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar (Merck, Almanya) besiyerine ekim yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan yayma plak yöntemi ile DRBC agar bulunan petrilere 0.1 mL ekim yapılmış ve petriler 25 ± 2 ºC'de 3–5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda DRBC agar üzerinde gelişen koloniler sayılmış ve morfolojik olarak birbirinden farklı koloniler belirlenmiştir. Seçilen atipik koloniler DRBC agar içeren petrilere 3 faz çizilerek saflaştırılmıştır. Saflaştırılan maya izolatları, içerisinde % 20 oranında gliserol içeren Malt Extract Broth tüplerine aktarılarak -80 ºC'de muhafaza edilmiştir.

Saf Maya İzolatlarından DNA İzolasyonu

DRBC Agar üzerinde gelişen maya kültürlerinden 1–3 öze dolusu maya toplanıp 400 µL Lysis Buffer bulunan tüplere aktarılmıştır. Tüplere 20 µL proteinaz K eklenip vorteks cihazı (IKA MS 3 Basic, Almanya) ile karıştırılarak 56 ºC'de 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra tüplere 150 µL %10'luk CTAB, 150 µL 5 M'lık NaCl eklenmiş ve 65 ºC'de 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra bir kez fenol:kloroform:izoamilalkol (25:24:1) ve bir kez de kloroform: izoamilalkol (24:1) yıkama yapıldıktan sonra üst faz yeni bir tüpe aktarılmış ve üzerine 550 µL izopropanol (2-propanol), 20 µL amonyum asetat eklenerek -20 ºC'de en az 2 saat bekletilmiştir. Tüpler 20000xg hızda 20 dakika santrifüjlenip (Hettich Mikro 200R, Almanya), üst fazın tamamı dökülmüştür. Pellet %70'lik soğuk etanol ile yıkandıktan sonra 20000xg hızda 10 dakika santrifüj yapılıp üst faz dökülmüş ve tüpler oda sıcaklığında 2–3 saat kurumaya bırakılmıştır. Tüp içeriği tamamen kuruduktan sonra, 100 µL TE buffer (10 mm Tris – 1 mm EDTA) ile çözündürülmüş ve nanodrop spektrometre (ACT Gene UVS-99, Amerika) kullanılarak DNA konsantrasyonu ölçülmüştür.

Rep-PCR Fingerprint Analizi

Çalışma kapsamında gıda örneklerinden saflaştırılan tüm izolatların (GTG)5 rep-PCR yöntemi ile fingerprint analizi yapılmıştır. Bu amaçla 15 µL ticari PCR master mix (New England Biolabs, ABD), 200 ng template DNA ve 0.6 µM primerden (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3') oluşan reaksiyon karışımının toplam hacmi, distile su ile 30

µL'ye tamamlanmıştır. Termal döngü cihazında (Techne, TC-5000, ABD) 94ºC'de 5 dk ilk denatürasyonun ardından 35 döngü süresince 94ºC'de 50 sn denatürasyon, 50ºC'de 50 sn yapışma ve 72ºC'de 2 dk uzama aşamaları tekrar edilmiş ve en son 72ºC'de 10 dk son uzama yapılarak PCR ile tamamlanmıştır. PCR ürünleri 0.5 µg/mL etidyum bromür içeren % 1.5'lik agaroz jelde 50 V'da 12 saat yürütülmüş ve oluşan bant profilleri görüntülenmiştir (Gel-Doc XR, Bio-Rad Laboratories, ABD). Maya izolatlarına ait fingerprintler, BioNumerics 7.5 (Applied Maths NV, ABD) yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir.

Dizi Analizi

Rep-PCR reaksiyonlarında elde edilen fingerprintler, Bionumerics 7.5 programı ile analiz edilerek gruplandırılmış ve her grubu temsil eden en az 5 izolat seçilerek dizi analizi yapılmıştır. Bu amaçla 26 S rDNA üzerinde bulunan 665 bç'lik D1/D2 bölgesi ve yaklaşık 600 bç uzunluğundaki ITS (Internal Transcribed Spacer) bölgesi hedef alınmıştır. D1/D2 bölgesi ileri primer NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') ve geri primer NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'), ITS bölgesi ise ileri primer ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') ve geri primer ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC -3') kullanılarak amplifiye edilmiştir. Hedef bölgelerin amplifikasyonu için 25 µL ticari PCR master mix, 20 µM ileri primer, 20 µM geri primer ve 100 ng kalıp DNA kullanılmış ve reaksiyon hacmi saf su ile 50 µL'ye tamamlanmıştır. PCR amplifikasyonları; 94ºC'de 10 ilk denatürasyonun ardından, 94ºC'de 40 sn denatürasyon, 55ºC'de 40 sn yapışma ve 72ºC'de 1 dk uzama aşamaları 35 kez tekrar edilerek gerçekleştirilmiştir. Agaroz jelde yürütülerek kontrol edilen PCR ürünleri, dizi analizi için Medsantek laboratuvarına (Medsantek, İstanbul) gönderilmiş ve sonuçlar BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) programı kullanılarak analiz edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada farklı gıda gruplarına ait toplam 86 örnek analiz edilmiştir. Her bir örnekten DRBC Agar besiyerine ekim yapılmış ve inkübasyon süresi sonunda gelişen maya kolonileri sayılmıştır. Analiz edilen gıda örneklerinden maya sayısının 10^5-10^7 kob/g veya mL arasında değiştiği tespit edilmiştir.

(GTG)5 primeri kullanılarak gerçekleştirilen rep-PCR fingerprint analizi ile toplamda 1032 izolat analiz edilmiştir. Rep-PCR analizine göre gruplandırılan maya izolatlarından her grubu temsil eden sayıda izolat seçilmiş ve seçilen izolatların tanımlanması amacıyla dizi analizi yapılmıştır. Bu amaçla yaklaşık 600 bç uzunluğundaki ITS bölgesi ile 26S rRNA geni üzerinde yaklaşık 650 bç uzunluğundaki D1/D2 bölgesi hedef alınmıştır. Tanımlanan maya izolatlarının örneklere göre dağılımı Çizelge 2'de verilmiştir.

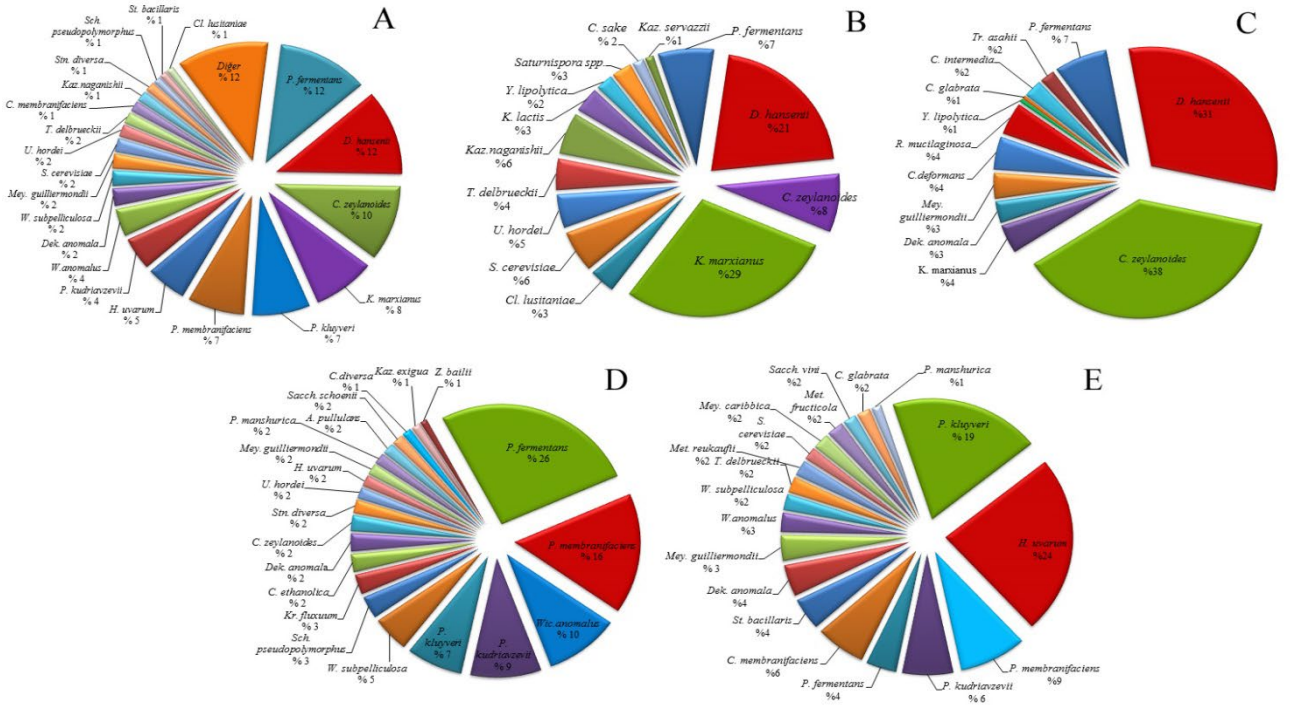
Gıda örneklerinden izole edilerek tanımlanan toplam 1032 izolatın 43 farklı maya türüne ait olduğu tespit edilmiştir. *Pichia* cinsine ait 5 tür toplam izolatların % 30.88'ni (332 izolat) oluşturmuştur. Tanımlanan maya türleri içerisinde en sık izole edilen tür *P. fermentans* olmuştur. Toplam izolatların % 12'sini oluşturan *P. fermentans*, zeytin, kaymak, yoğurt, turşu, taze et, gilaboru ve meyve örneklerinden izole edilmiştir. Bu türü takip eden 3 maya türünün sırasıyla; *D. hansenii, C. zeylanoides* ve *K. marxianus* olduğu bulunmuştur.

Farklı gıda örneklerinden izole edilerek tanımlanan izolatların % 14.41'ni *Candida* cinsine ait 8 tür oluşturmuştur. Bunlar içerisinde en sık izole edilen *Candida* türü *C. zeylanoides* tüm izolatların % 9.70'ini oluştururken bunu *C. membranifaciens* izlemiştir. Diğer *Candida* türlerinin oranları ise %1'in altında kalmıştır.

Çizelge 2. Tanımlanan maya izolatlarının örneklere göre dağılımı

TÜR	Süt Ürünleri			Et ve Et Ürünleri				Fermente Bitkisel Ürünler					Meyve ve Sebze	TOPLAM
	Peynir	Yoğurt	Kaymak	Taze et	Salam	Sosis	Sucuk	Sirke	Turşu	Zeytin	Asma	Gilaboru		
Pichia fermentans		5	14	14					76	6		5	9	120
Debaryomyces hansenii	37		18	5	35	3	21							119
Candida zeylanoides	20			10	32	6	29		6			1		104
Kluyveromyces marxianus	6	64	5	5	3									83
Pichia kluyveri									5	19			52	76
Pichia membranifaciens									44		5	5	20	74
Hanseniaspora uvarum											5		49	54
Pichia kudriavzevii										15	15		15	45
Wickerhamomyces anomalus									5	15	12		6	38
Dekkera anomala				6				8					10	24
Wickerhamomyces subpelliculosa											16		5	21
Meyerozyma guilliermondii					6		1				5		8	20
Saccharomyces cerevisiae		15											4	19
Ustilago hordei			12						5					17
Torulaspora delbrueckii	11												5	16
Candida membranifaciens													15	15
Kazachstania naganishii	15													15
Clavispora lusitaniae		5	5											10
Schwanniomyces pseudopolymorphus											10			10
Starmerella bacillaris													10	10
Candida deformans					6	3								9
Rhodotorula mucilaginosa					3		6							9
Kluyveromyces lactis	4		5											9
Kregervanrija fluxuum								9						9
Pichia manshurica											5		3	8
Candida ethanolica								8						8
Yarrowia lipolytica			6				1							7
Saturnispora spp.	7													7
Saturnispora diversa											6			6
Candida glabrata							1						5	6
Aureobasidium pullulans									5					5
Candida intermedia				5										5
Metschnikowia reukaufii													5	5
Meyerozyma caribbica													5	5
Saccharomycopsis schoenii												5		5

Candida sake	4													4
Candida diversa											4			4
Kazachstania exigua											4			4
Metschnikowia fructicola													4	4
Saccharomycopsis vini													4	4
Trichosporon asahii					4									4
Kazachstania servazzii	3													3
Zygosaccharomyces bailii												3		3
TOPLAM	108	89	65	45	89	12	59	25	146	55	87	19	234	1032



Şekil 1. Tanımlanan maya izolatlarının ürün gruplarına göre dağılımını gösteren pasta grafikleri, A) Tüm izolatlar, B) Süt ürünleri, C) Et ve et ürünleri, D) Fermente bitkisel ürünler, E) Meyve ve sebze

Kluyveromyces cinsine ait 2 tür tüm izolatların % 8.56'sını oluşturmuştur. Bu cinse giren türlerin % 90.20'sini oluşturan *K. marxianus* süt ürünlerinin yanında sosis ve taze et örneklerinden de izole edilmiştir. Peynir, kaymak, taze et, salam, sosis ve sucuk örneklerinden izole edilen *D. hansenii*, tüm izolatların % 11.07'sini, ağırlıklı olarak meyve örneklerinden izole edilen *Hanseniaspora uvarum* ise % 5.02'sini oluşturmuştur. Toplamda 19 izolat *Saccharomyces cerevisiae* olarak tanımlanmış ve yalnızca yoğurt ve meyve örneklerinden izole edilmiştir. Çalışma kapsamında analiz edilen 86 gıda örneğinden izole edilerek tanımlanan 43 maya türünden 25 tanesinin toplam izolatlar içerisindeki oranı % 1'in altında bulunmuştur. Tanımlanan tüm türler içerisinde en düşük sayıda izolat *Kaz. servazii* (3 izolat) ve *Zygosaccharomyces bailii* (3 izolat) türlerinde tespit edilmiştir (Şekil 1A).

Süt ürünleri grubundan peynir, yoğurt ve kaymak örneklerinden elde edilen toplam 262 izolat analiz edilmiştir. Analiz edilen peynir ve kaymak örneklerinde en sık izole edilen tür *D. hansenii,* yoğurt örneklerinde ise *K. marxianus* olarak bulunmuştur. Bunların dışında *C. zeylanoides*'in bu gruptaki izolatların sırasıyla % 8'ini, *P. fermentans*'ın ise % 7'sini oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca bu grup örneklerden diğer örnek gruplarında rastlanmayan *Kazachstania naganishii* (15 izolat), *K. lactis* (9 izolat), *Saturnispora spp.* (7 izolat), *C. sake* (4 izolat) ve *Kaz. servazzii* (3 izolat) türleri izole edilmiştir. Bu çalışmada peynirden izole edilen toplam 108 izolat tanımlanmıştır. Bunlardan *D. hansenii* (37 izolat) baskın tür olarak bulunmuş ve bunu *C. zeylanoides* (21 izolat) takip etmiştir. Kaymak örneklerinde ise peynirlerden farklı olarak en sık izole 2. tür *P. fermentans* olarak belirlenmiştir (Şekil 1B).

Mayalar genellikle çiğ sütte bulunur ve nihai ürüne kadar tüm süt üretim hattı boyunca görülebilir. Ancak normal olarak pastörizasyonla elimine edildiğinden pastörize süt ve pastörize sütten yapılan süt ürünlerindeki varlıkları, üretim sırasındaki kontaminasyondan kaynaklanır (Hernández ve ark., 2018). Farklı hayvan türlerine ait sütlerin maya çeşitliliğinin incelendiği bir çalışmada, *Geotrichum candidum, D. hansenii, K. lactis* veya *K. marxianus* gibi süt ürünlerinde teknolojik öneme sahip türler dışında, *Candida, Cryptococcus, Debaryomyces, Geotrichum, Kluyveromyces, Malassezia, Pichia, Rhodotorula ve Trichosporon* cinslerine ait türlerin de olduğu gösterilmiştir (Delavenne ve ark., 2011).

Yapılan bir çalışmada, Türk beyaz peynirlerinden izole edilen en baskın türler *D. hansenii* (% 32.6), *K. marxianus* (% 18.5), ve *Yarrowia lipolytica* (% 17.4) olarak bildirilmiştir (Yalçın ve Uçar, 2009). Šuranská ve ark (2016) ise, salamura beyaz peynirlerde baskın türleri *D. hansenii, K. lactis* ve *C. zeylanoides* olarak tespit etmişlerdir.

Süt ürünlerinde gelişen mayalar, laktozun fermantasyonu veya asimilasyonu, yüksek proteolitik veya lipolitik aktivite, laktik veya sitrik asitlerin kullanımı, düşük sıcaklıklarda gelişme ve yüksek tuz konsantrasyonlarına tolerans gibi bir dizi fizyolojik ve biyokimyasal özelliklere sahiptirler. Çiğ sütten yapılan peynirlerde tespit edilen maya türleri ile üretimde kullanılan çiğ sütün maya popülasyonu arasında güçlü bir ilişki vardır. Mayalar, bazı peynir türlerinin olgunlaşması sırasında laktik asidi metabolize edip pH'yı yükselterek, proteolitik bakterilerin faaliyetini mümkün kılmak suretiyle peynirlerin olgunlaştırılması sırasında tat ve aroma oluşumuna katkıda bulunduğu bilinmektedir. Ancak mayaların depolama sırasında aşırı çoğalması gaz üretimi, istenmeyen aroma ve kokunun yanında yumuşamaya yol açarak peynirlerin bozulmasına neden olabilmektedir. Bununla birlikte zayıf hijyenik koşullar altında, peynirde, fırsatçı patojenik bir maya türü olan *C. albicans* da gelişebilmektedir (Deak, 2007). Mayalar olgunlaşmış peynirlerde özellikle yüzeyde nem oranı yüksek ise sümüksü tabaka oluşumuna neden olabilir. Peynirlerin olgunlaştırılması sırasında mayalara bağlı şişme çoğunlukla *K. marxianus* ve *Dek. anomala*'nın fermentatif etkisi ile ilişkilendirilmiştir (Fadda ve ark., 2001; Fleet, 1992). Peynirlerde *K. lactis*

ve *Meyerozyma guilliermondii* suşlarının yoğun proteolitik aktivitesinin sütün peptonizasyonuna neden olarak verimi azaltabileceği bildirilmiştir (Atanassova ve ark., 2016). Ayrıca istenmeyen pigment üretimi, *Y. lipolytica, D. hansenii* ve *C. catenulat*a gibi çeşitli maya türleri ile ilişkilendirilmiştir (Tofalo ve ark., 2014). Diğer taraftan birçok peynirde baskın tür olarak tespit edilen *D. hansenii* düşük sıcaklık ve yüksek tuz konsantrasyonlarına dirençli olması nedeniyle peynirlerde starter kültür olarak da kullanılabileceği bildirilmiştir (Viljoen, 2001).

Fermentatif mayalar, yoğurt ve diğer ekşi süt ürünlerinde gelişerek bu ürünlerin bozulmasına neden olmaktadır (Jakobsen ve Narvhus, 1996) Yalnızca laktoz fermantasyonu yapan *K. marxianus* ve *K. lactis* türleri değil aynı zamanda *Hansenula spp., S. cerevisiae, P. membranifaciens, Mey. guilliermondii* ve *G. candidum* türleri de yoğurtların bozulmasında rol oynamaktadır (Engel, 1992) Bozulma yapan bazı mayalar, *Hansenula spp.* ve *S. cerevisiae*, laktik asit bakterileri tarafından laktozun hidrolizi yoluyla üretilen galaktozu fermente edebilmektedir (Guidici ve ark., 1996). Karbonhidratların fermantasyonu sonucu ile üretilen karbondioksit ambalajlarda şişmeye neden olmaktadır. Mayalar yoğurtlarda meyvemsi, acımsı ve mayamsı tatlar gibi tatlar oluşturarak da bozulma yapabilmektedirler (Fleet, 1992).

Krema ve tereyağında potansiyel bozulma etkeni olarak tanımlanan mayalar, krema üretiminde kalan laktozu fermente etmekle birlikte yağın hidrolizinden de sorumludurlar (Fleet, 1990; Deak, 2007). Mayalar tarafından bozulan kremada tipik olarak, köpüklü bir görünüş ve istenmeyen bir koku meydana gelmektedir (Walker ve Ayres 1970; Thomas, 1970). Avustralya'nın Sidney kentinde piyasadan satın alınan pastörize krema numunelerinin incelendiği bir çalışmada izole edilen başlıca maya türleri *C. famata, R. glutinis, C. diffluens*, *Cryp. laurentii* ve *R. rubra* olarak bildirilmiş ve tespit edilen bu türlerin beklenildiği gibi güçlü lipolitik aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (Fleet ve Mian, 1987).

Bu çalışmada et ve et ürünleri grubundan toplam 205 izolat analiz edilmiş ve 12 farklı maya türü tanımlanmıştır. Bu grup içerisinde en baskın türün *C. zeylanoides* (77 izolat) olduğu bulunmuş ve bunu *D. hansenii* (64 izolat) takip etmiştir. Diğer taraftan *P. fermentans* (14 izolat) taze ette en baskın tür olduğu halde et ürünlerinde tespit edilmemiştir. *C. deformans* (9 izolat), *R. mucilaginosa* (9 izolat), *C. intermedia* (5 izolat) ve *Tr. asahii* (4 izolat) türleri ise yalnızca et ve et ürünlerinde tanımlamıştır (Şekil 1C).

Mayalar etin doğal mikrobiyotasının küçük bir bölümünü oluşturur. Bazı mayaların düşük sıcaklıkta, yüksek tuz konsantrasyonunda ve düşük oksijen stresi altında gelişme yeteneği, soğukta muhafaza edilen, kürlenmiş ve vakumlu paketlenmiş et ve et ürünlerinde çoğalmalarını mümkün kılar. Mayaların et ürünlerinin bozulmasında önemli bir rol oynamadığı düşünülse de bakterilerin gelişmesini engelleyen işleme ve depolama koşulları, mayaların baskın mikroflora haline gelmesine yol açarak bozulmasını sağlayabilir (Nielsen ve ark., 2008). Taze ette genellikle *Candida, Rhodotorula, Debaryomyces* ve *Trichosporon* spp türleri tespit edilmektedir (; Osei Abunyewa ve ark., 2000; Samelis ve Sofos; 2003). Vakumlu paketlenmiş sığır etlerinde *Kaz. psychrophila* gibi psikrotolerant mayaların rengin açılması ve istenmeyen koku yanında gaz oluşturarak paketin şişmesine neden olduğu bildirilmiştir (Kabisch ve ark., 2016).

Fermente sosis gibi tuzlu, kuru ve yarı kuru ürünlerin maya popülasyonunda, esas olarak tuza toleranslı *D. hansenii* baskın olmakla birlikte, *Y. lipolytica, C. zeylanoides, T. ovoides, T. beigelii, Crypt. albidus* ve *R. mucilaginosa* türlerinin de bulunduğu tespit edilmiştir (Encinas ve ark., 2000; Osei Abunyewa ve ark., 2000).

Diğer taraftan domuz pastırmasının NaCl içeriğinin maya profilini güçlü bir şekilde etkilediği bildirilmiştir. Öyle ki NaCl içeriği % 4 veya daha fazla ürünlerde *D. hansenii* hakim maya türü olduğu halde NaCl içeriği % 4'ün

altında olan pastırmalarda *C. tropicalis* ve *Issatchenkia orientalis* (anamorf *C. krusei*) baskın bulunmuştur (Gardner, 1971).

Et ürünlerinde *D. hansenii ve C. utilis*'in aroma oluşumunu olumlu etkilediği ve fermente sosislerin kırmızı rengini stabilize ettikleri bildirilmiştir (Dura ve ark., 2004; Lücke ve Hechelman, 1987; Olesen ve Stahnke, 2000). Ancak maya gelişimi, paketlenmiş et ürünlerinde gaz oluşumuna bağlı şişme, sosislerin yüzeylerinde sümüksü tabaka oluşumu, renk değişikliği ve lezzet bozukluğu gibi çeşitli şekillerde bozulmalara neden olabildiğinden bu ürünlerinde çoğunlukla istenmeyen bir durumdur (Fleet, 1992). Ayrıca, mayalar, sodyum nitrit ve organik asitleri metabolize ederek patojenik bakterilerin hayatta kalmasına ve gelişmesine yol açarak gıda güvenliği açısından da risk oluşturabilirler (Samelis ve Sofos, 2003).

Bu çalışmada salamura ve turşu grubundan toplam 332 izolat tanımlanmıştır. Zeytin örneklerine ait toplam 55 izolat içerisinde *P. kluyveri*'nin (19 izolat) baskın olduğu ve bunu *P. kudravzevii* (15 izolat) ve *Wickerhamomyces anomalus*'un (15 izolat) takip ettiği tespit edilmiştir. Salamura asma yaprağı örneklerinde ise *W. subpelliculosa* (16 izolat) ve *P. kudravzevii* (15 izolat) baskın türler olarak belirlenmiş ve bunları *W. anomalus* (12 izolat) takip etmiştir. Turşu örneklerinde zeytin ve salamura örneklerinden farklı bir dağılım gözlenmiş *P. fermentans*'ın (87 izolat) en baskın tür olduğu tespit edilmiş ve bunu *P. membranifaciens* (54 izolat) takip etmiştir. Sirke örneklerinde çeşitlilik fazla olmamakla birlikte diğer tüm örnek gruplarında tespit edilmeyen *Kregervanrija fluxuum* (9 izolat) ve *C. ethanolica* (8 izolat) türleri yalnızca bu grup örneklerde tanımlanmıştır (Şekil 1D).

Fermente zeytinlerde mikrobiyotanın önemli bir bölümünü oluşturan mayalar, laktik asit bakterileri ile birlikte son ürünün organoleptik özelliklerinin oluşumuna etki ederler (Arroyo-López ve ark., 2008). Ancak, fermantatif maya türlerinin aşırı gelişimi, zeytin dokusunda yumuşama, gaz ceplerinin oluşumu, salamuranın bulanıklaşması ve istenmeyen tat ve koku oluşumu gibi çeşitli sorunlara neden olabilmektedir (Tofalo ve ark., 2012). Maya çeşitliği zeytin tipi ve işleme şekline bağlı olarak değişebilmektedir (Corsetti ve ark., 2012). Pereira ve ark. (2015) ham zeytin pulplarında ve fermantasyon sırasında tespit edilen *S. cerevisiae, C. tropicalis* ve *D. hansenii*'nin kaynağının zeytin meyveleri olduğunu bulmuşlar, yalnızca fermantasyon sürecinde tespit edilen *P. membranifaciens, C. boidinii, P. manshurica* ve *Galactomyces reessii*'nin ise fermantasyon kaplarından ve diğer ekipmanlardan bulaşmış olabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca hammaddede tespit edildiği halde fermantasyon sürecine dahil olmayan *C. norvegica, R. graminis, Mey. guilliermondii* ve *R. glutinis*'in muhtemelen fermantasyon koşullarından olumsuz etkilendiklerini ve gelişmelerinin sınırlandığını ileri sürmüşlerdir.

Fermente sebze ürünlerinde, fermantasyon aşamasında gelişen maya popülasyonunun bozulma ile ilişki olduğu bildirilmiştir (Franco ve Pérez-Díaz, 2012a, 2012b; Franco ve ark., 2012). Salatalık turşularında fermantasyon tanklarında gelişen *P. manshurica* ve *I. occidentalis* (*P. kudriavzevii*) türlerinin, laktik asiti kullanarak pH'da bir yükselmeye neden olduğu ve bu durumun istenmeyen değişiklere neden olan bakterilerin gelişimini tetiklediği bulunmuştur (Franco ve Pérez - Díaz 2012b). Ayrıca Kore'nin geleneksel fermente bir ürünü olan kimchi'de tespit edilen *P. kudriavzevii* (*I. occidentalis*) suşlarının hücre dışı poligalaktronaz aktivitesine bağlı olarak sebze dokusunda yumuşama, kötü koku ve yüzeyde film oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir (Moon ve ark., 2014).

Bu çalışma kapsamında meyve-sebze grubuna ait toplam 240 izolat analiz edilmiş ve 20 farklı maya türü tanımlanmıştır. Bu grup örneklerde *H. uvarum*'un (56 izolat) baskın tür olduğu ve bunu *P. kluyveri*'nin (45 izolat) takip ettiği belirlenmiştir. Diğer örnek gruplarında tespit edilmeyen birçok tür *Metschnikowia reukaufii* (5 izolat), *Mey. caribbica* (5 izolat), *C. membranifaciens* (15 izolat), *St. bacillaris* (10

izolat), *Met. fructicola* (4 izolat) ve *Saccharomycopsis vini* (4 izolat) yalnızca meyve sebze grubuna ait örneklerden izole edilmiştir (Şekil 1E).

Mayalar meyve ve sebzelerin doğal mikrobiyotalarının bir parçasını oluşturur. Ascomycetous türlerinden *Candida, Debaryomyces, Hanseniaspora, Pichia* ve *Metschnikowia* cinsilerinin meyvelerdeki hakim maya topluluğunu oluşturduğu bulunmuştur (Lachance ve ark., 2001; Vadkertiová ve ark., 2012; Kesmen ve ark., 2018). Bununla birlikte maya çeşitliliğinin, meyvelerin yetiştirildiği coğrafi bölgeye ve iklim koşullarına, çeşitlerine, bahçecilik tekniklerine ve olgunlaşma aşamasına bağlı olarak farklılık gösterebileceği bildirilmiştir (Deak, 2007). Meyvelerde doğal koruyucu bariyerler çeşitli nedenlerle hasar gördüğünde, hücresel sıvılardan salınan şekerler mikrobiyal aktiviteyi uyarmakta ve iç dokunun mayalarla kontaminasyonu dekompozisyonu hızlandırmaktadır (Mishra ve Gamage, 2007). Sebzelerin meyvelere kıyasla biraz daha yüksek pH'sı (domates hariç), onları mayalardan daha çok bakteri gelişimine karşı duyarlı hale getirmektedir. Meyvelerde ascomycetous mayalar daha baskınken, sebzelerde basidiomycetous mayaların daha fazla izole edildiği bildirilmiştir. Zayıf veya fermentatif olmayan *P. fermentans, Crypt. albidus* ve *T. cutaneum* gibi türler sıkla sebzelerden izole edilen türler arasındadır (Deak, 2007). Mayalar sebzelerden sıklıkla izole edilmelerine rağmen, genellikle bakteri ve küflerle iyi rekabet edemedikleri için sebzelerin bozulmasında nadiren doğrudan bozulma nedeni olarak belirtilmişlerdir (Johnson ve ark., 1988).

Sonuç

Bozulma yapan maya türlerini tanımlamak ve kaynak ve rotasını anlamak, üretim süreçlerinin daha etkin bir şekilde kontrol edilmesine ve her bir endüstriyel alana spesifik tehlike analiz sistemlerinin oluşturulmasına ve kritik kontrol noktalarının belirlenmesine katkıda bulunabilecektir.

Son yıllarda gıdalardan izole edilen mayaların doğru ve kesin olarak tanımlanmasında geleneksel biyokimyasal yöntemler tek başına yeterli bulunmamakta moleküler tekniklerle desteklenmesi önerilmektedir. Bu amaçla ribozomal RNA (rRNA) genlerinin ve bunlar arasında kalan bölgelerin (ITS) dizi analizi genellikle güvenilir sonuçlar üretmektedir. Bu çalışmada da farklı gıda gruplarına ait ürünlerin maya profilleri moleküler yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla duyusal özellikleri itibari ile bozulmuş olduğu kabul edilen örneklerden (toplam maya sayısı $>10^5$ kob/g) izole edilen maya suşları tür seviyesinde tanımlanmış ve her bir örnek grubunun maya profili belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarının üretim süreçlerinde gıdalarda risk oluşturan maya türlerine özgü koruyucu tedbirlerin alınması ve böylece maya kaynaklı bozulmaların önlenmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ancak her bir üründe gelişen mayaların hangi bozulma tipinden sorumlu olduğunun belirlenmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Biriminin "FDA-2015-5677" kodlu projesi ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

Abbas, C.A. (2006) Production of antioxidants, aromas, colours, flavours, and vitamins by yeasts: *Yeasts in food and beverages*. A Querol, G Fleet (eds), 285–334, Springer, Berlin, .

Arroyo-López, F. N., Querol, A., Bautista-Gallego, J., Garrido-Fernández, A. (2008) Role of yeasts in table olive production. *International Journal of Food Microbiology* 128: 189-196.

Atanassova, M.R., Fernández-Otero, C., Rodríguez-Alonso, P., Fernández-No, I.C., Garabal, J.I., Centeno, J.A. (2016) Characterization of yeasts isolated from artisanal short-ripened cows' cheeses produced in Galicia (NW Spain). *Food Microbioliology* 53:172–181.

Caputo, L., Quintieri, L., Baruzzi, F., Borcakli, M., Morea, M. (2012) Molecular and phenotypic characterization of Pichia fermentans strains found among Boza yeasts. *Food Research International*, 48(2), 755-762.

Ceugniez, A., Drider, D., Jacques, P., Coucheney, F. (2015) Yeast diversity in a traditional French cheese "Tomme d'orchies" reveals infrequent and frequent species with associated benefits. *Food microbiology*, 52: 177-184.

Cocolin, L., Rantsiou, K., Iacumin, L., Zironi, R., Comi, G. (2004) Molecular detection and identification of *Brettanomyces/Dekkera bruxellensis* and *Brettanomyces/Dekkera anomalus* in spoiled wines. *Applied Environmental Microbiology* 70: 1347-1355.

Corsetti, A., Perpetuini, G., Schirone, M., Tofalo, R., Suzzi G. (2012) Application of starter cultures to table olive fermentation: an overview on the experimental studies. *Frontiers in Microbiology* 3: 1-6

Corte, L., di Cagno, R., Groenewald, M., Roscini, L., Colabella, C., Gobbetti, M., Cardinali, G. (2015) Phenotypic and molecular diversity of *Meyerozyma guilliermondii* strains isolated from food and other environmental niches, hints for an incipient speciation. *Food Microbiology* 48:206–215.

Deak, T. (2007). Handbook of food spoilage yeasts. CRC Press, Boca Raton, 37–58.

Delavenne, E., Mounier, J., Asmani, K., Jany, J.L., Barbier, G., Le Blay, G. (2011) Fungal diversity in cow, goat and ewe milk. *International Journal of Food Microbiology* 151: 247–251.

Dura, M. A., Flores, M., Toldra, F. (2004) Effect of *Debaryomyces* spp. on the proteolysis of dry-fermented sausages.*Meat Science* 68: 319–328.

Encinas, J.P., Lopez-Diaz, T.M., Garcia-Lopez, M.L., Otero, A., Moreno, B. (2000) Yeast populations on Spanish fermented sausages. *Meat Science* 54:203–208.

Engel, G. (1992) Schnellnachweis von Hefen in Quark. *Milchwissenschaft* 47:435-437.

Erdem, M., Kesmen, Z., Özbekar, E., Çetin, B. (2016) Application of high-resolution melting analysis for differentiation of spoilage yeasts. *J Microbiol* 54:618–625.

Fadda, M. E., Cosentino, S., Deplano, M., & Palmas, F. (2001) Yeast populations in Sardinian feta cheese. *International Journal Of Food Microbiology*, 69:153-156.

Fleet, G.H., Mian, M.A. (1987) The occurrence and growth of yeasts in dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 4: 145-155.

Fleet, G.H. (2007) Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety. *Current Opinion in Biotechnology,*18:170–175.

Fleet, G.H . (2011) Yeast spoilage of foods and beverages. *The yeasts: a taxonomic study*. C.P. Kurtzman, J. Fell, T. Boekhout (eds), 5th edn., 53–63, Elsevier, Amsterdam.

Fleet, G. H. (1990). Yeasts in dairy products. *Journal of applied bacteriology*, 68: 199-211.

Fleet, G. H. (1992). Spoilage yeasts. *Critical Reviews in Biotechnology*, 12: 1–44.

Fleet, G.H. Balia, R. (2006) The public health and probiotic significance of yeast in foods and beverages. *Yeast in food and beverages.* A. Querol, G. Fleet, (eds.) 381–397, Berlin, Springer

Franco, W., Pérez-Díaz, I.M., (2012a) Development of a model system for the study of spoilage associated secondary cucumber fermentation during long-term storage. *Journal of Food Science,* 77: 586 - 592.

Franco, W., Pérez-Díaz, I.M. (2012b) Role of selected oxidative yeasts and bacteria in cucumber secondary fermentation associated with spoilage of the fermented fruit. *Food Microbiology,* 32: 338–344.

Franco, W., Pérez-Díaz, I.M., Johanningsmeier, S.D., McFeeters, R.F. (2012) Characteristics of spoilage-associated secondary cucumber fermentation. *Applied and Environmental Microbiology,*78: 1273–1284.

Gardner, G. A. (1971) Microbiological and chemical changes in lean Wiltshire bacon during aerobic storage. *Journal of Applied Bacteriology* 34:645–654.

Guidici P., Masini G., Caggia C. (1996) The role of galactose fermenting yeast in plain yogurt spoilage. *Ann Microbiol Enzimol* 46:11-19.

Hernández, A., Pérez-Nevado, F., Ruiz-Moyano, S., Serradilla, M. J., Villalobos, M. C., Martín, A., Córdoba, M. G. (2018) Spoilage yeasts: What are the sources of contamination of foods and beverages?. *International journal of food microbiology*, 286: 98-110.

Jakobsen, M., Narvhus, J. (1996) Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. *International Dairy Journal,* 6:755-768.

Johnson, D. A., Rogers, I. D., and Regner, K. M. (1988) Asoft rot of onion caused by the yeast *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus*. *Plant Disease* 72:359–361.

Kabisch, J., Erl-Höning, C., Wenning, M., Böhnlein, C., Gareis, M., Pichner, R. (2016) Spoilage of vacuum-packed beef by the yeast *Kazachstania psychrophila*. *Food Microbiology,* 53: 15–23.

Kurtzman, C.P. (2015) Identification of food and beverage spoilage yeasts from DNA sequence analyses. *International Journal of Food Microbiology,* 213: 71–78.

Kesmen, Z., Özbekar, E., Büyükkiraz, M. E. (2018) Multifragment melting analysis of yeast species isolated from spoiled fruits. *Journal of applied microbiology* 124: 522-534.

Lachance, M.A., Starmer, W.T., Rosa, C.A., Bowles, J.M. et al. (2001) Biogeography of the yeasts of ephemeral flowers and their insects. *FEMS Yeast Research,* 1:1-8.

Li, S.S., Cheng, C., Li, Z., Chen, J.Y. (2010) Yeast species associated with wine grapes in China. *Int J Food Microbiol* 138:85–90.

Lücke, F. K., Hechelman, H. (1987) Starter cultures for dry sausages and raw ham; composition and effect. *Fleischwirtschaft* 67: 307–314.

Miceli, M.H., Díaz, J.A., Lee, S.A. (2011) Emerging opportunistic yeast infections. *The Lancet Infectious Diseases,* 11:142–151

Mishra, V. K., Gamage, T. V. (2007) Postharvest physiology of fruit and vegetables. *Handbook of food preservation* 37-66, CRC press.

Moon, S.H., Chang, M., Kim, H.Y., Chang, H.C. (2014). *Pichia kudriavzevii* is the major yeast involved in film-formation, off-odor production, and texture-softening in overripened Kimchi. *Food Science and Biotechnology,* 23:489–497.

Nielsen, D. S., Jacobsen, T., Jespersen, L., Koch, A. G., Arneborg, N. (2008) Occurrence and growth of yeasts in processed meat products–Implications for potential spoilage. *Meat science* 80: 919-926.

Olesen, P. T., Stahnke, L. H. (2000) The influence of *Debaryomyces hansenii* and *Candida utilison* the aroma formation in garlic spiced fermented sausages andmodel minces. *Meat Science* 56: 357–368.

Osei Abunyewa, A. A., Laing, E., Hugo, A., Viljoen, B. C. (2000) The population change of yeasts in commercial salami. *Food Microbiology* 17: 429–438.

Pereira, E. L., Ramalhosa, E., Borges, A., Pereira, J. A., Baptista, P. (2015) Yeast dynamics during the natural fermentation process of table olives (Negrinha de Freixo cv.). *Food Microbiology,* 46, 582-586.

Pfaller, M.A., Diekema, D.J. (2004) Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Clinical Microbiology,* 42:4419–4431.

Pham, T., Wimalasena, T., Box, W. G., Koivuranta, K., Storgårds, E., Smart, K. A., Gibson, B. R. (2011) Evaluation of ITS PCR and RFLP for differentiation and identification of brewing yeast and brewery 'wild' yeast contaminants. *Journal of the Institute of Brewing*, 117:556-568.

Pitt, J.I., Hocking, A.D., (2009). Fungi and Food Spoilage. Vol. 519 Springer, New York

Samelis, J., Sofos, J. N. (2003) Yeasts in meat and meat products. *Yeasts in food. Beneficial and detrimental aspects.* T. Boekhout, V. Robert (Eds.), 239–265. Hamburg: Behr's Verlag GmbH.

Stratford, M. (2006) Food and beverage spoilage yeasts. *Yeasts in food and beverages*. A. Querol, G. Fleet, (ed.), Springer Berlin Heidelberg

Šuranská, H., Raspor, P., Uroić, K., Golić, N., Kos, B., Mihajlović, S., ... & Čadež, N. (2016) Characterisation of the yeast and mould biota in traditional white pickled cheeses by culture-dependent and independent molecular techniques. *Folia Microbiologica* 61: 455-463.

Thomas, B. (1970) Psychrotrophic microorganisms in market cream-a review Part I. *Dairy Industry* 35, 79-84.

Tofalo, R., Fasoli, G., Schirone, M., Perpetuini, G., Pepe, A., Corsetti, A., Suzzi, G., (2014) The predominance, biodiversity and biotechnological properties of *Kluyveromyces marxianus* in the production of Pecorino di Farindola cheese. *International Journal of Food Microbiology* 187: 41–49.

Tofalo, R., Schirone, M., Perpetuini, G., Angelozzi, G., Suzzi, G., Corsetti, A. (2012) Microbiological and chemical profiles of naturally fermented table olives and brines from different Italian cultivars. *Antonie Van Leeuwenhoek* 102: 121-131.

Vadkertiová, R., Molnárová, J., Vránová, D., Sláviková, E. (2012) Yeasts and yeast-like organisms associated with fruits and blossoms of different fruit trees. *Canadian Journal of Microbiology,* 58: 1344–1352.

Viljoen, B. C. (2001). The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *International Journal of Food Microbiology*, *69*(1-2), 37-44.

Walker H, .W., Ayres J,. C. (1970) Yeasts as spoilage organisms. *The Yeasts, Vol. 3, Yeast Technology.* A.H. Rose, J.S. Harrison, (ed.) pp. 46-527, London, Academic Press.

Yalçın, H. T., Uçar F. B. (2009) Isolation and characterization of cheese spoiler yeast isolated from Turkish white cheeses. *Annals of Microbiology*, 59: 477-483.