

**Modifiye CMY40S Besiyerinin Gıdalardan
Kserotolerant Maya İzolasyonu için Önerilen Klasik
Besiyerleri ile Karşılaştırılması Üzerine bir Araştırma**

Şule Şenses Ergül, Z. Yeşim Özbaş*

Hacettepe Üniv., Mühendislik Fakültesi, Gıda Müh. Bölümü, Beytepe, Ankara

* yesim@hacettepe.edu.tr

Özet

Bu çalışmada, şeker içeren çeşitli gıdalardan oluşan toplam 129 adet gıda örneği kserotolerant maya florası açısından incelemeye alınmışlardır. Çalışma sırasında literatürde kserotolerant mayalar için izolasyon besiyeri olarak önerilen Dichloran %18 Glycerol (DG18) agar, Tryptone Glucose Yeast extract Chloramphenicol (TGY) agar ve Malt extract Yeast extract %50 Glucose (MY50G) agar besiyerlerinin yanısıra tarafımızca modifiye edilen Chloramphenicol Malt extract Yeast extract %40 Sucrose (CMY40S) agar besiyeri de kullanılmıştır. Sonuç olarak; toplam 50 örnekte maya florası saptanmıştır. CMY40S besiyeri diğer üç izolasyon besiyerine yakın sonuçlar vermiştir. MY50G besiyerinde maya gelişimi, diğer besiyerlerine oranla daha güç ve uzun sürede gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Kserotolerant, maya, besiyeri, izolasyon

Giriş

Kserotolerant mayalar, bal, reçel, kurutulmuş meyveler, meyve suyu konsantreleri gibi yüksek şeker içerikleri ve düşük su aktivitesi (a_w) değerleri ile karakterize edilen gıdalarda bozulmaya neden olabilen mikroorganizmalardır. Mayaların bu tür gıdalarda nadiren tek başlarına bulunmaları nedeniyle izolasyonları sırasında özel besiyerlerinin kullanılması gerektiği belirtilmektedir. Bu amaçla bakteri ve küf gelişimini engellerken, maya gelişimini teşvik edecek besiyerlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Düşük pH ve a_w değerleri ile antibiyotik kullanımının, besiyerlerine kserotolerant mayalar için seçicilik kazandırdığı belirtilmektedir. Literatürde gıdalardan kserotolerant maya izolasyonu ve sayımı amacı ile kullanılan DG18 agar, MY50G agar gibi bazı besiyerlerinin bulunduğu görülmektedir. Ancak bu amaçla geliştirilmiş besiyerlerinin çoğunda küflerin de izole edildiği ve bunların mayalara özgü bir seçicilik taşımadıkları belirtilmektedir (1). Bu çalışmada tarafımızca modifiye edilen CMY40S besiyerinin, gıdalardan kserotolerant maya izolasyonu amacı ile kullanılan üç klasik besiyeri; DG18, TGY ve MY50G ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Gıda örnekleri: Araştırmada, yüksek şeker içeriğine sahip 129 gıda örneği kserotolerant maya florası açısından incelemeye alınmıştır. Bu gıdalar arasında 4 adet meyve aromalı taze peynir (quark), 50 adet meyveli yoğurt, 31 adet kuru meyve, 10 adet petekli bal ve 34 adet çeşitli şekerlilik ürünleri yer almaktadır.

Besiyerleri: Çalışmada izolasyon besiyeri olarak DG18 agar (10.0 g glukoz, 5.0 g pepton, 1.0 g KH_2PO_4 , 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 220 g gliserin, 15.0 g agar, 0.002 g dikloran, 0.1 g kloramfenikol, 800 mL damıtık su), TGY agar (100.0 g glukoz, 5.0 g tripton, 5.0 g maya özütü, 0.1 g kloramfenikol, 15.0 g agar, 1 L damıtık su), MY50G agar (10.0 g malt özütü, 2.5 g maya özütü, 500 g glukoz, 10 g agar, 500 g damıtık su) besiyerleri ile tarafımızca modifiye edilen CMY40S agar (20.0 g malt özütü, 5.0 g maya özütü, 400.0 g sakkaroz, 0.1 g kloramfenikol, 20.0 g agar, 600 g damıtık su) besiyeri kullanılmıştır. Modifiye CMY40S besiyeri, Beuchat (2) tarafından önerilen MY50S besiyerinin bileşimindeki sakkaroz miktarı %50 (w/w)'den %40'a düşürülerek ve bileşimine %0.01 (w/v) oranında kloramfenikol eklenerek modifiye edilmiştir (3). Çalışmada, zenginleştirme ortamı olarak kloramfenikol içermeyen TGY broth, dilüsyon sıvısı olarak ise; %30 (w/v) gliserin çözeltisi kullanılmıştır.

Maya izolasyonu ve kserotolerant karakterin belirlenmesi: Gıda örnekleri uygun bir ön hazırlıktan geçirildikten sonra zenginleştirme amacıyla TGY broth ortamına aktarılarak 30 °C'de 24 saat bekletilmişlerdir. Daha sonra örneklerin seri dilüsyonları hazırlanarak, izolasyon besiyerlerine yüzeye sürme yöntemi ile ekimleri gerçekleştirilmiş ve 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Elde edilen maya izolatlarının kserotolerant özellik taşıyıp taşımadıkları, MY50G ve MY60G besiyerlerindeki gelişmeleri incelenerek belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Araştırma sonucunda incelenen 129 gıda örneğinden 50 tanesinde (%39) maya florası saptanmıştır. Çizelge 1'de maya varlığı belirlenen gıdaların, izolasyon besiyerlerine göre dağılımları gösterilmektedir.

Araştırma sırasında meyveli yoğurtlar için TGY besiyeri ile en yüksek, MY50G besiyeri ile ise en düşük sayıda örneğin maya florası belirlenmiştir. Bu gıda grubu için CMY40S, kserotolerant maya izolasyonu için önerilen klasik DG18 ve MY50G besiyerlerinden daha yüksek bir izolasyon etkinliği sağlamıştır. Meyve aromalı taze peynir örnekleri dikkate alındığında ise; bu örneklerdeki maya varlığı sadece DG18 ve MY50G besiyerleri ile saptanabilmektedir. Bu durumun örneğin özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. İzolasyon besiyerlerinin etkinlikleri kuru meyve örnekleri

açısından değerlendirildiğinde; TGY besiyerinin en iyi sonucu verdiği bulunmuştur. Denenen bütün bal örneklerindeki maya varlığı ise, diğer besiyerleri gibi CMY40S besiyeri ile de belirlenebilmiştir. Balın, özellikle kserotolerant maya florasının oldukça sık rastlandığı bir gıda grubu olduğu bilinmektedir (4). Bal örneklerinin florasının CMY40S besiyeri ile de saptanabilmiş olması, bu besiyerinin de kserotolerant mayalar için yüksek izolasyon etkinliğine sahip olduğunu düşündürmektedir. İncelenen çeşitli şekerlik ürünlerinde maya taşıyan 5 örneğin tümü TGY besiyeri ile saptanabilmiştir. Bu örneklerde de CMY40S besiyerinin DG18 ve TGY besiyerleri ile yakın, MY50G'den daha yüksek oranda örneğin maya florasını belirleyebilmiş olması, kserotolerant maya izolasyonu amacı ile kullanılabileceğini göstermektedir. Çalışmada elde edilen tüm maya izolatları, modifiye CMY40S'e ekilerek gelişimleri incelenmiştir. Farklı izolasyon besiyerlerinden alınmış olsalar da, tüm maya izolatlarının CMY40S besiyerinde gelişebildikleri gözlenmiştir. Elde edilen 67 adet maya izolatu MY50G ve MY60G besiyerlerine ekildiklerinde; toplam 47 tanesinin (%70) bu besiyerlerinde gelişebildikleri ve dolayısıyla kserotolerant özellik taşıdıkları belirlenmiştir.

Çizelge 1. Gıdaların maya florasının belirlenebildiği izolasyon besiyerlerine göre dağılımları

Gıda	Oran*	İzolasyon besiyerleri tarafından maya florası belirlenebilen örnek sayısı			
		DG18 (a _w :0.96)	TGY (a _w :0.98)	MY50G (a _w :0.89)	CMY40S (a _w :0.95)
Meyveli yoğurt	9/50	4	7	2	5
Taze peynir	4/4	4	0	4	0
Kuru meyve	24/31	17	21	10	15
Bal	8/10	8	8	6	8
Şekerlik ürünleri	5/34	4	5	3	4
TOPLAM	50/129	37	41	25	32

*: Maya varlığı belirlenen örnek sayısı / Toplam örnek sayısı

Çalışmada besiyerlerinin izolasyon etkinliklerinin değerlendirilmesi sırasında dikkate alınan diğer faktör de özel değerlendirmeler olmuştur. Bu aşamada besiyerleri koloni gözlem kolaylığı ve inkübasyon süresi açısından karşılaştırılmışlardır. Düşük a_w değerine (0.89) sahip olması nedeni ile MY50G besiyerinin kserotolerant mayalar için yüksek seçiciliğe sahip olduğu bilinmektedir (2). Ancak başarılı bir izolasyon çalışması için besiyerlerinin

inkübasyon süreleri de önem taşımaktadır. Çalışmada, MY50G besiyerinde maya gelişimi, diğer besiyerlerine oranla daha güç ve uzun sürede gerçekleşmiştir. Çalışma boyunca TGY ve CMY40S besiyerlerinin maya florasının yanısıra örnekteki küf florasının gelişimine de izin verdikleri, DG18 besiyerinin ise, bileşiminde bulunan dikloran sayesinde küf kolonilerinin yayılmasını engelleyerek maya izolasyonunu kolaylaştırdığı görülmüştür.

Sonuç

Genel olarak değerlendirildiğinde, çalışmada kserotolerant maya izolasyonu amacı ile kullanılan dört besiyerinin çeşitli avantaj ve dezavantajlara sahip oldukları görülmüştür. Tarafımızca modifiye edilen CMY40S diğer üç izolasyon besiyerine yakın sonuçlar vermiştir. Bununla birlikte, her bir maya türünün farklı metabolik gereksinimleri olması nedeni ile, gıdalardan maya izolasyonu sırasında birden fazla besiyerinin kullanılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle gıda florasında bulunabilecek kserotolerant özelliğe sahip farklı maya türlerinin izole edilebilmesi için modifiye CMY40S besiyeri ile birlikte, TGY'ye göre daha düşük a_w 'ye sahip olan DG18 besiyerinin kullanılması tarafımızca önerilmektedir.

Teşekkür

Bu projenin yürütülmesi için parasal destek sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne (Proje No.0101602003) teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Beuchat, L.R., 2003. Media for detecting and enumerating yeasts and moulds. In *Handbook of Culture Media for Food Microbiology*, J.E.L. Corry, G.D.W. Curtis, R.M. Baird (eds), pp. 369-385, Elsevier, Netherlands.
2. Beuchat, L.R., 1998. Progress in conventional methods for detection and enumeration of foodborne yeasts, *Food Tech. Biotech.* 36 (4): 267-272.
3. Şenses, Ş. 2003. Kserotolerant mayalar için besiyeri optimizasyonu ve bu mayaların yüksek şeker içerikli bazı gıdalardan izolasyonu ve tanımlanması. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 134 s., Ankara.
4. ICMSF, 1998. Sugar, Syrups and Honey. In *Microorganisms in Foods*, T.A. Roberts, J.I. Pitt, J. Farkas, F.H. Grau (eds), pp. 418-436, Blackie Academic and Professional, London.