

EGE ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA  
PROJE KESİN RAPORU  
EGE UNIVERSITY SCIENTIFIC  
RESEARCH PROJECT REPORT

**PROJE NO: 2005 – ZRF – 050**  
(Yüksek Lisans)  
**İTHAL YOĞURT KÜLTÜRLERİNİN**  
**TEKNOLOJİK VE MİKROBİYOLOJİK**  
**ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**PROJE YÖNETİCİSİ**  
Prof. Dr. Sevda KILIÇ  
**ARAŞTIRICI**  
Zir. Müh. Bülent KOSKA

**Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü**  
Faculty of Agriculture  
Department of Dairy Technology

**Bornova-İZMİR**  
**2007**

## ÖNSÖZ

Günümüzde tüm işletmeler ithal yoluyla getirilen kültürleri kullanmaktadır. Farklı firmalar tarafından üretilen bu kültürlerin bir çoğunun kullanım kılavuzu olmadığından içerikleri bilinmemektedir. Yalnızca, süt işletmelerinin ürettikleri ürünlerde istedikleri özelliklere uygun olduğu bildirilerek siparişler karşılanmaktadır. Kültür temininde işletmelerin başkaca alternatifi bulunmadığı için önerilen bu kültürlerin kullanılmaları sonucunda; çoğu zaman uzun inkübasyon süresi, beklenenden farklı yapı ve tatta yoğurt elde edilmektedir. Ayrıca kültürlerin son kullanma tarihlerinin bulunmaması da kullanılan kültürlere güvenin azalmasına neden olmaktadır. Aslında elde edilen yoğurtlar özellikle tat ve aroma bakımından halkın isteklerine cevap vermemektedir. En önemlisi de zaman zaman işletmelerde inkübasyon süresinin uzaması veya yoğurt oluşmaması, istenilen yapının elde edilememesi gibi sorunlar nedeniyle siparişlerin gününde karşılanamamasıdır. Bu durum işletmenin zarara uğraması kadar itibarının da düşmesine neden olmaktadır. Bu nedenlerle ithalatçı firmalar tarafından Türkiye'ye getirilen yoğurt kültürlerinin teknolojik ve mikrobiyolojik özelliklerinin bilinmesinde yarar vardır. Bu kontrol sayesinde çok büyük miktarlarda dövizin gereksiz yere yurt dışına çıkması da engellenebilir. Böylelikle daha kontrollü bir üretim yapma olanağı doğar kanısındayız.

Bu proje ile; Türkiye'ye farklı ülkelerden ithal yolla girmekte olan yoğurt kültürlerinin teknolojik ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi sağlanacaktır. Dolayısıyla proje tamamlandığında, ülkemizdeki süt işletmelerinde kullanılmakta olan bu kültürlerin saflık dereceleri, aktiviteleri, canlı mikroorganizma sayıları belirlenmiş olacaktır. Bu bilgiler doğrultusunda aktivitesi en yüksek kültürün hangisi olduğu ve aynı zamanda panelistler tarafından yapılacak olan duyuşal değerlendirmeler sonucunda Türk halkının damak zevkine hitap eden yoğurdun hangi kültür ile elde edildiği ortaya çıkacaktır. Sonuç olarak, ülkemiz insanının beğendiği bir yoğurdun üretilmesi ve aynı zamanda işletmelerin en az sorun ile en iyi kalitede yoğurdu üretebilmesi için kültür seçimine ışık tutacak bir çalışma ortaya çıkacaktır. Tüm bunların sonucunda da, işletmelerin kendi bünyelerinde sorunsuz bir üretim prosesini oluşturmalarına yardımcı olacak bir çalışma gerçekleştirilmiş olunacaktır.

Proje tamamlandığında; ortaya çıkacak olan sonuçlar ile, ülkemizdeki süt işletmeleri için en uygun kültürün hangisi olduğunun belirlenerek, işletmelerde zaman zaman kültür kullanımından kaynaklanan problemlerin ortadan kalkması sağlanacağı düşünülmektedir. Bu durum ise, işletmelerde çalışan teknik personelin kültür seçiminde daha bilinçli bir karar almasını sağlayacaktır. Böylece yoğurt üretiminde; her zaman aynı kalitede, halkın damak zevkine uygun, raf ömrü uzun ve daha da önemlisi sağlıklı ürünler elde edilmiş olacaktır. Bu sayede işletme açısından gereksiz yere zaman, kalite, itibar ve dolayısıyla da ekonomik kayıplar ortadan kalkacağı umulmaktadır.

Bununla birlikte, önümüzdeki yıllarda ülkemizde de kültür üretimi gerçekleştirileceği taktirde, projede geçecek olan istatistiksel ve rakamsal bilgiler uygun kültür üretimine ışık tutacağına inanıyoruz.

Bu projenin gerçekleştirilmesi ve tamamlanmasında maddi yönden desteğini esirgemeyen "Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu"na teşekkürü bir borç biliriz.

## ÖZET

### İthal Yoğurt Kültürlerinin Teknolojik ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada, yoğurt üretiminde kullanılmak üzere ülkemize ithal edilen kültürlerin teknolojik ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bunun için ithal edilen 10 adet yoğurt kültürünün titrasyon asitliği, pH değeri, proteolitik aktivitesi, aroma maddeleri oluşturma özellikleri, antibakteriyel etkinlikler gibi teknolojik özellikleri ile; saflık, canlı yoğurt bakteri sayısı ve oranları ile bakteriyofaj varlığı belirlenmeye çalışılmıştır. İncelenen 10 adet kültür örneğinde titrasyon asitliği değerleri birbirine yakın bulunurken; proteolitik aktivite, aroma maddeleri oluşturma özellikleri ile antimikrobiyal etkinlikleri bakımından önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre, kültür örnekleri arasında tat ve kıvam özellikleri bakımından farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Yoğurt kültürü, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, Teknolojik özellikler, Mikrobiyolojik özellikler.

## ABSTRACT

### Determination of Technological and Microbiological Properties of Imported Yoghurt Cultures

The purpose of this study is to determine the technological and microbiological characteristics of the cultures imported into Turkey to be used in yoghurt production. Thus, technological characteristics such as titration acidity, pH value, proteolytic activity, flavour compound formation characteristics, and antibacterial activities; as well as, purity, number and percentage of viable yoghurt bacteria and existence of bacteriophage was investigated in 10 yoghurt cultures that were imported. In the 10 culture samples that were investigated, while their titration acidity values were determined to be approximate, significant dissimilarities in their proteolytic activity, aromatic compound formation characteristics, and anti-microbial activity were found. According to the results obtained from sensory analyses, the diversity in flavor and consistency characteristics between the culture samples was determined to be significant.

**Key words:** Yoghurt culture, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, technological properties, microbiological properties.

## TEŞEKKÜR

Bu araştırma süresince beni yönlendiren, kıymetli görüşlerinden yararlandığım ve yakın ilgisini esirgemeyen değerli danışmanım, Sayın Prof. Dr. Sevda KILIÇ' a en içten saygılarımla teşekkür ederim.

Araştırmam süresince katkıları nedeniyle değerli arkadaşlarım Zir. Yük. Müh. Ziba GÜLEY ve Zir. Müh. Derya YILMAZ' a, duyu analizlerin gerçekleşmesindeki katkıları

nedeniyle Süt Teknolojisi Bölümü Öğretim Üyeleri ve Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmalarım sırasında hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve bana destek olan, şuan halen çalışmakta olduğum ÖZSÜT Özgür Süt Ürünleri San. Tic. Ltd. Şti., Manisa Genel Müdürü Sayın Alpaslan GÜL ve Gıda Teknikeri Sayın Sertan LİMANLAR' a tüm kalbimle teşekkür ederim.

Ayrıca bu aşamaya gelmemde manevi desteğini esirgemeyen çok değerli anneme teşekkürü bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	V
<b>ABSTRACT</b> .....	VI
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	VII
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	VIII
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	X
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	XI
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	XII
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. LİTERATÜR ÖZETİ</b> .....	3
2.1. Yoğurt Hakkında Genel Bilgi .....	3
2.2. Yoğurt Kültüründe Bulunan Bakteriler ve Özellikleri.....	7
2.3. Yoğurt Bakterilerinin Ortak Yaşamı .....	14
2.4. Yoğurt Üretiminde Saf Kültür Kullanımının Yararları.....	21
2.5. Kültürlerde Kalite Kontrolü .....	25
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	27
3.1. Materyal .....	27
3.2. Yöntem .....	27
3.2.1. Teknolojik Özellikler.....	27
3.2.1.1. Aktivite Testi.....	27
3.2.1.1.1. Titrasyon Asitliği.....	27
3.2.1.1.2. pH Değeri .....	27
3.2.1.2. Proteoliz .....	28
3.2.1.3. Aroma Maddeleri .....	29
3.2.1.4. Antibakteriyel Etkinlik.....	9
3.2.2. Mikrobiyolojik Özellikler.....	30
3.2.2.1. Kültür Bakterilerinin Sayısı ve Birbirine Oranı .....	30
3.2.2.1.1. Katı Besiyerinde Sayım .....	30
3.2.2.1.2. Kültür Bakterilerinin Oranının Belirlenmesi .....	31
3.2.2.2. Kültürdeki Yabancı Mikroorganizmaların Belirlenmesi.....	31
3.2.2.2.1. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayımı .....	31

## İÇİNDEKİLER (Devam)

	<u>Sayfa</u>
3.2.2.2.2. Koliform bakteriler .....	31
3.2.2.2.3. Maya-Küf.....	31
3.2.2.3. Faj Kontrolü .....	32
3.2.3. Duyusal Kontrol .....	33
3.2.4. İstatistik Analiz.....	34
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>36</b>
4.1.Kültürlerde Tespit Edilen Titrasyon Asitliği (SH) Değeri .....	36
4.2. Kültürlerde Belirlenen pH Değeri .....	37
4.3. Kültürlerde Belirlenen Proteoliz Değerleri .....	37
4.4. Kültürlerde Belirlenen Aroma Maddeleri .....	39
4.5. Kültürlerde Antibakteriyel Etkinlik .....	41
4.6. Kültürlerin Mikrobiyolojik Özellikleri.....	44
4.6.1. <i>Lb. bulgaricus</i> ve <i>Str. thermophilus</i> Bakterilerinin Canlılığı ve Sayımı.....	44
4.6.2. Kültür Bakterilerinin Birbirine Oranı.....	46
4.6.3. Kültürdeki Yabancı Mikroorganizmaların Belirlenmesi.....	48
4.6.3.1. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayımı.....	48
4.6.3.2. Koliform Bakteri Sayımı .....	48
4.6.3.3. Maya-Küf Mikroorganizma Sayımı .....	48
4.7. Kültürlerde Faj Kontrolü.....	48
4.8. Kültürlerden Elde Edilen Yoğurtların Duyusal Değerlendirilmesi.....	51
4.8.1. Dış Görünüş.....	52
4.8.2. Kıvam (Kaşıқта) .....	52
4.8.3. Kıvam (Ağızda).....	52
4.8.4. Koku .....	53
4.8.5. Lezzet .....	53
<b>5. SONUÇ.....</b>	<b>54</b>
<b>6. EK - Kültürlerin Geliştirilmesi ve Kontrolünde Yararlanılan Besiyerleri.....</b>	<b>57</b>
<b>KAYNAKLAR DİZİNİ.....</b>	<b>59</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>66</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> bakterileri ile ekim yapılmış sütlerde inkübasyon süresince saptanan ortalama asitlik ve pH değişimi.....	10
Şekil 2. İnkübasyon süresince <i>Streptococcus thermophilus</i> kültürlerinde asitlik ve pH değişimi .....	13
Şekil 3. <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> ve <i>Streptococcus thermophilus</i> bakterilerinin aynı koşullarda tek tek ve müştereken (simbiyoz) oluşturdukları asitlik ve pH.....	15
Şekil 4. <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> ve <i>Streptococcus thermophilus</i> 'un sütte müşterek faaliyetleri.....	17
Şekil 5. Tirozin değerlerinin hesaplanmasında kullanılan regresyon denklemi ve eğrisi .....	39



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1. Yoğurt Bakterilerinin Besin İstekleri.....	18
Çizelge 2. Saf Kültür Üreten Önemli Laboratuvarlar ve Enstitüler.....	24
Çizelge 3. Yoğurtların Duyusal Muayene Değerlendirme Puanları .....	34
Çizelge 4. Kültür Örneklerine Ait pH ve SH Değerleri .....	36
Çizelge 5. Kültür Örneklerine Ait Tirozin ve Aroma Maddeleri Miktarları .....	38
Çizelge 6. Yoğurt Kültürlerinin Bazı Patojen Test Bakterilerine Karşı Oluşturdukları Antibakteriyel Etkinlikler .....	42
Çizelge 7. Yoğurt Bakterilerinin Sayısı .....	45
Çizelge 8. Kültürlerde Faj Kontrolü .....	50
Çizelge 9. Yoğurt Kültürlerinde Duyusal Değerlendirme .....	52

## RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Resim 1.</b> <i>Lb. bulgaricus</i> ve <i>Str. thermophilus</i> bakterilerinin elektron-mikroskobu altındaki görüntüleri.....	12
<b>Resim 2.</b> Gaz kromatografisinde aroma maddelerinin oluşturduğu pikler .....	41
<b>Resim 3.</b> Kültürlerin Antibakteriyel Etkinliği .....	43
<b>Resim 4.</b> <i>Lb. bulgaricus</i> ve <i>Str. thermophilus</i> Kolonilerinin Besiyerinde Gelişimi ..	46
<b>Resim 5.</b> Besiyerinden alınan <i>Lb. bulgaricus</i> ' a ait koloninin mikroskop altındaki görüntüsü .....	47
<b>Resim 6.</b> Yoğurt bakterilerinin mikroskop altındaki görüntüsü .....	48

## 1. Giriş

Saf kültür; fermente süt ürünleri, çeşitli peynirler ve tereyağı üretiminde kullanılan, onlara beğenilen tat, aroma, görünüş ve kendilerine has yapı oluşumunu sağlamak amacıyla söz konusu ürünlerin üretimleri aşamasında kullanılan mikroorganizma kültürleridir. Genel olarak bu mikroorganizmalar belirli özelliklere sahip tür ve suşlardır. Standart kalitede bir süt ürünü yapımında kültür kullanımının önemi yadsınmaz. Süt endüstrisinde kültür kullanımının tarihi oldukça yenidir ve başta peynir çeşitleri olmak üzere yoğurt ve tereyağı üretiminde kullanılmaktadır.

Bu ürünlerden yoğurt çok eskiden beri Türkler tarafından yapılan, tüketilen önemli bir fermente süt ürünüdür. Daha önceleri işletmelerde ve evlerde bir gün önceden yapılan yoğurtlar maya (bugünkü anlamda kültür) olarak sütün aşılmasında kullanılırdı. Günümüzde ise, yoğurt üretiminde kültürün öneminin benimsenmesinden sonra, maya diye bilinen ve bir gün önce yapılmış yoğurt kullanılmamaktadır. Son elli yıldan beri birçok yabancı ülkede kurulan kültür üretim laboratuvarlarında hazırlanan liyofilize ve dondurulmuş kültürler kullanılmaktadır.

Yoğurt kültürü yalnızca *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*) ve *Streptococcus thermophilus* (*Str. thermophilus*) bakterilerini içeren kültürdür. Bu bakterilerin dışında hiçbir mikroorganizma bulunmaz. Aksi halde yoğurtta asitlik artar, ekşime ve tat değişimi ile birlikte yoğurdun görünüşü ve yapısı bozulur. Hâlbuki bu iki bakteriyi içeren kültürle yapılan yoğurtların daha az su saldığı, viskozitenin daha iyi olduğu belirlenmiştir (Kılıç, 1986; Yaygın, 1999). Kısaca kültür kullanımıyla daha uzun raf ömrü olan, yabancı tat ve aroma içermeyen, muhafaza sırasında tat ve aroma değişimi olmayan, daha viskoz bir yoğurt elde edilir. Ülkemizde yoğurt üretiminin en önemli sorunlarından birisi kültür sorunudur. Standart tat ve aromada, uzun dayanma süresinde özelliklerini yitirmeyen bir yoğurt üretimi için işletmelerde kültür kullanımı zorunlu hale gelmiştir. Ancak Türkiye’de halen ticari kültür üretimi yapılmadığı için ihtiyaç duyulan kültür ithal yolla temin edilmektedir. Bu yüzden farklı ülkelerden oldukça yüksek miktarlarda kültürün ülkemize girdiği bilinmektedir. Bu kültürler gerekli yasal düzenlemeler bulunmasına rağmen, yetkili müesseselerce yeterli düzeyde gümrük kontrolüne tabi tutulmamaktadır. Kültürlerin yoğurt işletmelerine dağıtımı ne yazık ki kültür konusunda yeterli düzeyde bilgi sahibi olmayan firmalarca yapılmaktadır. Türkiye’de henüz kültür üretimi

gerçekleştirilmediğinden süt endüstrisi ihtiyaç duyduğu kültürü tamamen ithalatçı firmaların aracılığıyla temin etmektedir. Ancak mevcut kültürlerin Türk halkının damak zevkine hitap eden ürünlerin elde edilmesine pek de uygun olmadığı yine yapılan anket çalışmalarından anlaşılmıştır. Bu durum süt endüstrisinde söz sahibi olan üretici firma yetkilileri tarafından da zaman zaman dile getirilmektedir (Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Paneli, İzmir, 11.02.2005). Bunun dışında süt işletmelerinde sözü edilen kültürlerin kullanımı sırasında önemli sorunlarla da karşılaşmaktadır. Bunların en önemlisi, aynı parti kültür kullanıldığında bile yoğurt oluşum sürelerinin farklılık göstermesi sonucu farklı kalitede yoğurt elde edilmesidir. İkinci önemli nokta; kültür kullanım şeklinin pazarlama firmaları tarafından gereği şekilde anlatılamamasıdır. Bu durum, hangi tip kültürün ne tür ürünler için uygulanması gerektiği konusunda açıkça belirtilmediğinden istenilen kalitede yoğurt üretimi için farklı firma kültürlerinin karıştırılarak kullanılmasına sebep olmaktadır. Üçüncü önemli nokta ise; bazı kültür ambalajları üzerinde içerik ve miktar bilgilerinin bulunmamasıdır. Bu yüzden kaliteli yoğurt üretimi mümkün olmamaktadır (Yaygın, Şatır-Toklu, 2000). Hâlbuki firmaların, gıda kodeksine göre ambalaj üzerinde bilgilendirme formunu bulundurmaları gerekmektedir. Bu suretle kültürün teknolojik ve mikrobiyal özellikleri hakkında kullanıcı firma bilgi sahibi olabilir. Bazı firmalar bu tür bilgileri kapsayan ön bilgi formlarını ancak istenildiği zaman göndermektedir. Bununla birlikte olması gereken bilgiler elde edilemediği için yoğurt üreticileri kendi bilgi ve tecrübeleri doğrultusunda kültürleri kullanmaktadırlar. Kültür temininde işletmelerin başkaca alternatifi bulunmadığı için önerilen bu kültürlerin kullanılmaları sonucunda çoğu zaman uzun inkübasyon sürecinde, beklenenden farklı yapı ve tatta yoğurt elde edilmektedir. Ayrıca bazı kültürlerin ambalajları üzerinde son kullanma tarihlerinin bulunmayışı da kullanılan kültürlere güvenin azalmasına neden olmaktadır. Aslında elde edilen yoğurtlar özellikle tat ve aroma bakımından ülke halkının isteklerine cevap verememektedir. En önemlisi de zaman zaman işletmelerde inkübasyon süresinin uzaması veya yoğurt oluşmaması, istenilen yapının elde edilememesi gibi sorunlar nedeniyle siparişlerin gününde karşılanamamasıdır. Bu durum işletmenin zarara uğraması kadar itibarının da düşmesine neden olmaktadır (Tunail, Demirtaş ve Durlu-Özkaya, 2000). Bu nedenlerle ithalatçı firmalar tarafından Türkiye'ye getirilen yoğurt kültürlerinin teknolojik ve mikrobiyolojik özelliklerinin bilinmesinde yarar vardır. Bu

kontrol sayesinde çok büyük miktarlarda döviz harcanarak ithal edilen kültürlerin daha dikkatli kullanılmaları sağlanabilir. Böylece daha kontrollü bir üretim yapma olanağı doğar kanısındayız.

Yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı, bu tür olumsuzlukların işletmelerde yaratacağı zararların nedenlerini ortaya koymak amacıyla planlanan bu çalışmada, ithal yoğurt kültürlerinin teknolojik ve mikrobiyolojik özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır.

## 2. Literatür Özeti

### 2.1. Yoğurt Hakkında Genel Bilgi

TS 4806 sayılı “Süt Mamulleri Terimleri Standardı” nda yoğurdun tanımı şöyle yapılmıştır; “Yoğurt, sütün yoğurt mayası (eşit oranda *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterileri bulunduran kültür) ile laktik asit fermantasyonuna uğratılması sonucu meydana gelen bir mamuldür (Anonymous, 1986).

TS 1330 yoğurt standardında ise; “Yoğurt, TS 1018 ve/veya TS 1019 standardına uygun, tercihen homojenize edilmiş sütlerin *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus*’ un etkisi ile laktik asit fermantasyonu sonucunda elde edilen ve yoğurt kültürünü canlı olarak ihtiva eden fermente süt ürünü” şeklinde tanımlanmaktadır (Anonymous, 2000).

Gıda Maddeleri Tüzüğü’ müzde; “Yoğurt; en az 90°C’ de ısıtılıp, mayalama derecesine soğutulmuş sütü, yoğurt mayası katılarak laktik asit mayalanmasına tabi tutulmasıyla elde edilen özel kıvamda bir süt ürünüdür” diye tanımlanmıştır (Göktürk ve ark., 1982).

Türk Gıda Kodeksi, Fermente Sütler Tebliği’ nde de “Yoğurt; *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterilerinin laktik asit fermentasyonu ile meydana gelen koagüle süt ürünü” şeklinde ifade edilmiştir (Anonymous, 2000).

FAO / WHO tarafından yapılan tanıma göre ise yoğurt, içine süt ürünleri (süttozu, yağsız süttozu, peynir suyu tozu vs.) ilave edilmiş veya edilmemiş sütün *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterilerinin etkisiyle süt asidi fermantasyonu sonucu elde edilmiş pıhtılaşmış süt ürünüdür. Ayrıca yoğurtta canlı ve çok sayıda bakterinin bulunması gerektiği de bildirilmiştir (Rasic ve Kurmann, 1978).

Yoğurt kendine has özel bir kıvam, tat ve aromaya sahiptir. Beslenme ve sağlık açısından etkinliği; yapımında kullanılan *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* adlı iki bakterinin uyumlu olmasına, eşit sayılarda canlı ve aktif olarak bulunmasına, raf ömrü

boyunca söz konusu bakterilerin  $10^7$  adet/ml' den az olmamasına bağılı olduğu bilinmektedir. Bunun için sütün tizlikle seçilmesi, uygun bir ısısal işlem uygulandıktan sonra yoğurt kültürü ile aşılması gerekir. Kültürün söz konusu iki bakteriyi yeterli miktarda ve aktif olarak içermesi gerekir. Sıvı kültür % 2-3 oranında süte aşılandığında, 42-44°C' de 2,5-3 saatlik sürede yoğurdun oluşması gerekir. Ayrıca liyofilize veya dondurulmuş kültürler için önerilen oranların kullanılması gerekir (Kılıç, 1986; Radke-Mitchell ve Sandine, 1986).

Rasic ve Kurmann (1978), Tamime ve Robinson (1985), kaliteli bir yoğurt üretimi için yoğurt kültüründe yalnızca *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus*' un eşit miktarlarda bulunması gerektiğini bildirmişlerdir. Buna ek olarak, bakterilerin birbirine uyumlu olmasının da önemini açıklamışlardır. Aksi halde simbiyotik faaliyetlerini sürdüremeyerek yoğurt yapımında sorunların ortaya çıkabileceğini bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalar *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterilerinin sütte simbiyoz halinde yaşadıklarını ortaya koymuştur (Pette ve Lollkema, 1950; Bouillanne ve Desmazeaud, 1983; Kılıç, 1986). İnkübasyon sırasında önce *Str. thermophilus* gelişir, formik asit oluşturarak *Lb. bulgaricus*' un gelişmesini stimüle eder. *Lb. bulgaricus*' un açığa çıkardığı aminoasitler (valin, lizin, lösin, histidin, sistein) *Str. thermophilus*' un çoğalmalarını hızlandırır ve ortamdaki bakteri sayısını artırmaktadır. Sonuçta, *Str. thermophilus* inkübasyonun ilk zamanlarında hızla gelişmekte ve ilk saatlerde sayı bakımından *Lactobacillus bulgaricus*' tan 3 veya 4 kat fazla olmaktadır. Daha sonra oluşan süt asidinin etkisi ile bunların faaliyeti yavaşlayıp *Lb. bulgaricus*' un sayısı artmaktadır. Zira *Lb. bulgaricus*' un gelişmesi için ortamın asit olması gerekmektedir. *Str. thermophilus*' un aside karşı dayanıklılığının simbiyoz halinde iken arttığı, daha yüksek asitli ortamda gelişmesini devam ettirdiği belirlenmiştir. Teknolojik açıdan söz konusu bakterilerin yeterli düzeyde asitlik, aroma maddeleri oluşturmaları, orta düzeyde proteoliz güçlerinin olması, antimikrobiyal etkinliklerinin yüksek olması gerektiği de birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir (Rasic ve Kurmann, 1978; Radke-Mitchell ve Sandine, 1986; Kılıç, 1986).

Yoğurdun ilk kez nasıl ve nerede yapıldığı kesin olarak bilinmemekle birlikte, tarihsel kayıtlar bunun bir Türk buluşu olduğunu ve binlerce yıldan beri Türkler ve Türk kültürü altında kalan ülkelerde yapıldığını, diğer ülkelerde ise genellikle 20. yüzyıl içinde tanındığını ortaya çıkarmıştır (Yaygın, 1999).

Yaygın (1999), Ögel (1985)' e atfen yoğurdun; çok eski çağlardan beri Orta Asya kavimleri ile daha Batı'daki İskitler'in yiyecekleri arasında yer aldığını bildirmiştir. Yunanlı tarihçi Hipokrat (M.Ö. 460-370), İskit kavimlerinin yaptıkları yoğurt ve yoğurda benzer yiyeceklerden sık sık söz etmiştir. İskitler, Altay kültürünün Batı bölümünü oluşturan, hayvancılıkla uğraşan kavimler olduğunu bildirmişlerdir. Yine literatürden edinilen bilgilere göre yoğurt, eski Türkler arasında yayılmış Buda dininde dünyanın dört yönünü koruyan kuvvetlere ve gezegenlere adak olarak sunulmuştur (Yaygın, 1999).

Yoğurdun ilk yapılışı ile ilgili olarak Tamime ve Robinson (1985) şöyle bir görüş ileri sürmüşlerdir; yoğurt, sıcak ülkelerde kendiliğinden oluşan pıhtı orijinli bir üründür. Bu ürün ilk kez Orta Doğu'da hayvancılıkla uğraşan, göçebe olarak yaşayan toplumlar tarafından yapılmıştır. Sıcak aylarda sağımdan sonra süt içindeki mikroorganizmaların etkisiyle kendiliğinden oluşan pıhtı "ekşimiş süt", daha sonra da zamanla "yoğurt" şekline dönüşmüştür (Yaygın, 1999).

Yaygın (1999), yoğurdun kendiliğinden oluşan pıhtı orijinli olma olasılığının kuvvetli olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı yoğurt bakterilerinin sütün bulunduğu her yerde bulunabildiğini fakat bunun ilk kez Orta Doğu'da değil Orta Asya'da yaşayan Türkler tarafından yapılmış olmasının daha doğru olduğuna dikkat çekmiştir.

Yoğurt her yerde kolaylıkla yapılabilen dayanıklı bir süt ürünüdür. Türk toplumu asırlardır sütün dayanıklılığını arttırmak için ürettiği sütü yoğurda işlemiştir. Hatta bugün bile birçok ürünün hazırlanmasında hammadde olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda bazı rahatsızlıkların iyileştirilmesinde ilaç olarak kullanılmaktadır (Yaygın, 1999).

Rus bilgini Prof. Metchinkoff yoğurt üzerinde ilk bilimsel araştırmayı yapan ve yoğurdun insan ömrünü uzattığını bilimsel olarak açıklayan ünlü bir bilim adamıdır. Prof. Metchinkoff'un yoğurt üzerinde yaptığı bu çalışma kendisine 1908 yılında "Nobel Ödülü" kazandırmıştır. Prof. Metchinkoff kendisine ödül kazandıran yoğurtla ilgili bilimsel çalışmalarına 1904 yılında başlamıştır (Yaygın, 1999). Yoğurdun çok eski bir tarihi olmasına rağmen tüm ülkelerde tanınması ancak 20. yüzyıl içinde gerçekleşmiştir. Bu çeşitlilik yoğurt tüketiminin son yıllarda tüm ülkelerde hızla artmasının en önemli nedenidir.

Yoğurt diğer ülkelerde genellikle son 50 yıl içinde tanınmış ve tüketimi hızla artan bir süt ürünü olmuştur. Özellikle insan ömrünü uzattığı ve bazı hastalıkları iyileştirdiği bilimsel olarak açıklanmasını takip eden yıllarda yoğurda olan ilgi artmıştır. Süt endüstrisinin gelişmesiyle, tüketicinin beğenisini kazanan standart set tip yoğurt yanında meyveli, aromalı, dayanıklı yoğurtların üretilmesi mümkün olmuştur. Yoğurda bu çeşitliliği kazandıran faktörler yoğurt kültürünü oluşturan bakteri tür ve suşlarının farklı oluşu ve bunlardan farklı özellikte kültürlerin üretilmesi ile saf kültür üretim laboratuvarlarının kurulmaya başlaması olarak açıklanabilir (Rasic ve Kurmann, 1978; Kılıç, 1986; Yaygın, 1999). Kültürde sözü edilen bakterilerin bulunması kadar sayı ve aktivitelerinin de yeterli olması gerektiği bildirilmiştir. Fransa ve İspanya’da; yoğurdun raf ömrü boyunca kalitesini koruyabilmesi için gerekli minimum laktik asit bakterisi sayısının  $5 \cdot 10^8$  cfu/ml olması gerektiğini saptamışlardır. Diğer ülkelerde ise örneğin; İsviçre ve İtalya’da bu sayı  $10^6$  cfu/ml, Japonya’da  $10^7$  cfu/g ve Portekiz’de de  $10^8$  cfu/g olarak saptanmıştır (IDF, 1988a). Arjantin’de yeni yayınlanan yasa kapsamında (Mercosur: Fermente süt ürünlerinin teknik şartlarının ve kalitesinin tanımlanması), (Pagano, 1998) Nisan 1988’den beri zorunlu olarak uygulanan sistemde laktik asit bakterilerinin sayısı raf ömrü boyunca  $10^7$  cfu/g olması gerektiği bildirilmiştir. (Biorollo, Reinheimer, Vinderola, 2000). Bu sayının yoğurt kültüründe daha yüksek olması gerektiği, aksi halde yoğurt yapımında birçok sakıncaların ortaya çıkabileceğine dikkat çekilmiştir (Rasic ve Kurmann, 1978; Boullane ve Desmazeaud, 1981).

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada laktik asit bakterilerinin fermente süt ürünlerinde, özellikle yoğurtta oldukça yüksek miktarda bulunduğunu belirtmişler ve yoğurdun tüketici sağlığı üzerinde önemli yararları olduğu ortaya konmuştur. Biorollo, Reinheimer, Vinderola, (2000)’ ya göre yoğurdun yararları şu şekilde sıralanmıştır: laktoza karşı yüksek tolerans özelliğinin, intestinal mikroflora dengesine yarar sağlaması, antimikrobiyal aktivitesinin, immun sistemi uyaran ve teşvik edici özellikte olması, anti-tümör ve anti-kolesterol bulunmasıdır. Yaygın ve Kılıç (1993), 1960’lı yıllardan beri, fermente süt ürünlerinin endüstriyel üretiminde, özellikle de yoğurt üretiminde dünya çapında bir gelişme ve fark edilir bir artış söz konusu olduğunu bildirmişlerdir. Bu artışı birçok araştırmacı yoğurdun doğal görüntüsü ve şekli, organoleptik ve karakteristik özellikleri, (taze ve asidik tat, karakteristik lezzet), besleyici özelliği, hastalıklara karşı koruyucu ve tedavi edici özellikleri ile fiyatının



normal düzeyde olmasına bağlamaktadır. Araştırmacılar yoğurda besleyici özelliklerinin yanısıra terapötik ve profilaktik gibi önemli özellikleri kazandıran unsurun onun yapımında kullanılan ve iki termofil karakterde olan laktik asit bakterisinden oluşan yoğurt kültüründen ileri geldiğini bildirmişlerdir. Bunlar bağırsağın mikroflorasında ancak düzenli olarak tüketilmeleri durumunda bulunabildiğini bu nedenle yoğurt kültürünü oluşturan bakterilerin devamlı olarak alınmasının gerekliliğine değinmişlerdir (Pette, 1964; Rasic ve Kurmann, 1978).

Yoğurt tüketiminin oldukça yüksek olduğu ülkemizde hala yoğurt üretiminde en önemli dar boğaz olan kültür üretim işletmeleri kurulamamıştır. Gereksinim duyulan kültürler diğer süt ürünleri için de olduğu gibi yurt dışından temin edilmektedir. Oldukça geniş bir alanda çok farklı mikroorganizma zenginliğine sahip olan ülkemizde kendi damak zevkimize uygun olan kültürlerin elde edilememesi Türkiye’de üretilmekte olan fermente sütlerin ve peynir kaliteleri bakımından önemli eksikliklere sebep olmaktadır. Belki bunlardan da önemlisi, elde edilmiş şekilleri belli olmayan ve her fırsatta şüpheyle karşılaşılan GDO (Genetiği Değiştirilmiş Organizma)’ ların ülkeye girişiyle mikroflora ve faunada kontrol edilemeyen değişimlerin ortaya çıkabilmesidir. Hâlbuki Türk halkı tarafından yoğurdun sevilerek tüketilmesinde en önemli neden evlerde, yoğurt mayası tabir edilen yoğurt kültürünü değiştirerek istekleri doğrultusunda kolaylıkla, farklı tat ve aromada ürün yapabilmeleridir. Bu durum yoğurdun kalitesi ile kültürün ilişkili olduğunun toplum ve üreticiler tarafından bilindiğinin bir göstergesidir (Kılıç, 1986).

## 2.2. Yoğurt Kültüründe (Yoğurt Mayası) Bulunan Bakteriler ve Özellikleri

Peynir, yoğurt, tereyağı ve diğer fermente süt ürünlerinin kendilerine özgü yapıları ile beğenilen tat ve aromalarının oluşmasını sağlamak amacıyla bu ürünlerin yapımında kullanılan, istenilen özelliklere sahip, seçilmiş saf mikroorganizma kültürlerine “saf kültür” veya “starter kültür” denir.

Yoğurt yapımında saf kültür kullanımına, başlangıçta Atatürk Orman Çiftliği Süt Fabrikası, daha sonraki yıllarda Türkiye Süt Endüstrisi Kurumu’na ait İstanbul, İzmir ve Adana pastörize süt ve mamulleri işletmelerinde başlanmıştır. Bunları takiben kurulan özel sektöre ait fabrikalarda da kültür kullanılmaya başlanmıştır. İlk olarak Atatürk Orman Çiftliği Süt Fabrikası yoğurt yapımında kullanılmak üzere yurt dışından sıvı

kültürler getirtmiş, aynı şekilde Türkiye Süt Endüstrisi Kurumu'na ait fabrikalarda kullanılmak amacıyla 1970'li yıllarda düzenli olarak sıvı haldeki yoğurt, peynir ve tereyağı kültürleri ithal edilmiştir (Yaygın ve Kılıç, 1990).

19. yüzyılda Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde gerek araştırmacıların gerekse süt işletmesi sahiplerinin birbirlerini destekler yöndeki çalışmaları sonucunda süt ürünlerinin yapımında kullanılabilir olan kültürlerin üretimine başlanmıştır. İlk kültür üretim laboratuvarı Danimarka' da Chr. Hansen tarafından kurulmuştur. (Rasic ve Kurmann, 1978; Yaygın ve Kılıç, 1980; Kılıç, 2001). Çeşitli kaynaklardan izole edilen bakterilerle hazırlanan saf kültürler, süt fabrikalarında yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde ise birçok laboratuvarında, yoğurt yapımı için liyofilize ve dondurulmuş saf kültür üretilip pazarlanmaktadır (Rasic ve Kurmann,1978; Yaygın ve Kılıç, 1993).

Yoğurdun oluşumunda, tat ve aromasının meydana gelmesinde rol oynayan, onun dayanıklılığını sağlayan ve raf ömrü boyunca yoğurt kitlesinde canlı ve aktif olarak bulunan mikroorganizmalar yoğurdun mikroflorasını oluşturur. Rasic ve Kurmann (1978), yoğurt bakterileri ile ilgili yapılan ilk çalışmanın Metchnikoff'a ait olduğunu ve adı geçen araştırmacının Bulgar yoğurdunda *Lb. bulgaricus* ile kok ve maya belirlediğini açıklamıştır. Yoğurt mikroflorası üzerindeki çalışmalara Türkiye'de de önem verilmiştir. Ülkemiz bilim adamlarından olan Refik Bey'in yaptığı çalışma Dünya literatüründe yer almıştır. Refik Bey, Türk yoğurt mikroflorasını incelemiş ve yoğurtta 3 farklı basil, bir diplokok ve bir maya saptamıştır (Güran ve Ergin, 1961). Yaygın (1999) birçok araştırmacının yoğurdu incelediğini bildirmiştir; İzmen (1935), ülkemizde üretilen yoğurtlarda *Lb. bulgaricus*, *Lactobacillus jugurti* *Str. thermophilus* bakterileri ile bir maya izole ettiğini; Aygün (1939), 7 farklı mikroorganizma belirlediğini; Gürsel ve Fişek (1953), *Lb. bulgaricus*, *Str. thermophilus* ve bir maya saptadıklarını açıklamışlardır. Yöney (1979), iyi bir yoğurt mayasının (kültür) sahip olması gereken özellikleri şu şekilde sıralamıştır;

- ✓ Yoğurt mayası bulaşık olmamalı, istenilen yoğurt mikroflorasından başka zararlı diğer mikroorganizmaları içermemelidir.
- ✓ Kaliteli, aroma bakımından zengin ve raf ömrü açısından dayanıklı yoğurt elde etmek için yoğurt bakterilerinin birbirine oranı ve ortamdaki konsantrasyonunun yeterli olması gerekir.

- ✓ Yoğurt bakterilerinin aktif ve ortama hızla uyum sağlayabilme kabiliyetinde olması gerekir.
- ✓ Kültürün yeterli miktarda kullanılması gerekir.

Araştırmacı, süte % 2-3 oranında maya ilave edilmesiyle normal şartlarda sütün 2-3 saat içerisinde pıhtılaşp yoğurt haline geleceğini bildirmiştir.

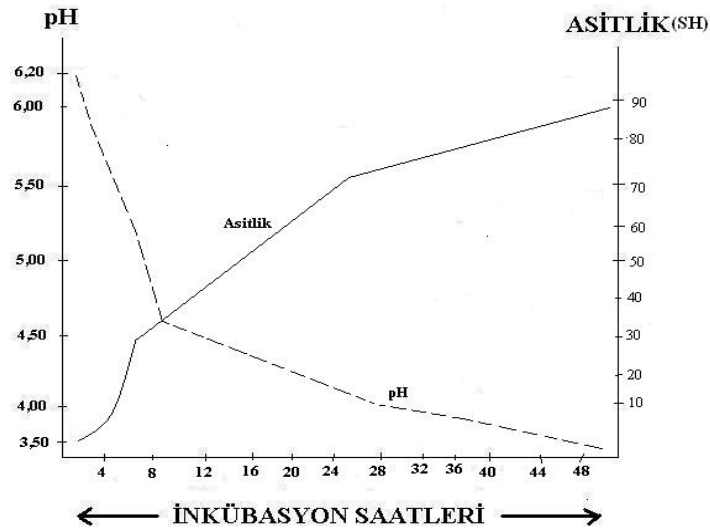
Yoğurt bakterileri ile ilgili çalışmalar arasında Orla Jensen'in araştırmaları çok önemlidir. Adı geçen araştırmacı, 1943 yılında yayınladığı çalışmasında yoğurtta bulunan laktobasillerin sınıflandırılmasını yapmış, identifikasyonu hakkında geniş bilgiler vermiş, bakterilerin tüm özelliklerini açıklamıştır (Rasic ve Kurmann, 1978, Yaygın, 1999). Araştırma sonuçları, yoğurt yapımında sadece *Lb. bulgaricus* ile *Str. thermophilus* bakterilerinin gerekli olduğunu, diğer mikroorganizmaların yoğurdun tat, aroma, yapı ve görünüşünü bozduklarını, kısa zamanda ekşimesine neden olduklarını, raf ömrünü kısalttıklarını göstermiştir (Anonymous, 1991; Radke-Mitchell ve Sandine, 1986). Bu yüzden birçok ülkede yoğurtlarda bu iki bakteri dışında mikroorganizma bulunması yasaklanmıştır. TS 1330 sayılı "Yoğurt Standardı"nda da, ülkemiz yoğurtlarında bu iki bakteri dışında başka canlı mikroorganizma bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (Anonymous, 1991). Tamime ve Robinson (1985), yoğurtlarda *Lb. bulgaricus*, *Lactobacillus jugurti*, *Lactobacillus helveticus*, *Str. thermophilus* bakterileri yanında kontaminant olarak *Candida krusei*, *Candida mycoderma*, *Candida pseudotropicalis*, *Geotrichum candidum*, ve *Saccharomyces* grubuna giren mayaların bulunabileceğini de açıklamıştır.

*Lb. bulgaricus* literatürde ilk kez 1904 yılında yer almıştır. Önceleri bu bakteriye *Bacterium bulgaricum*, *Bacillus bulgaricus*, *Thermobacterium bulgaricum*, *Lb. bulgaricus* isimleri verilmiştir. Türk yoğurtları üzerinde araştırmalar yapan Türk bilim adamı Refik Bey'in, yoğurtlardan izole ettiği bu bakteriyi *Türk yoğurt basili* (*Bacille du yo-urt turc*) adını verdiği bildirilmiştir ve araştırmacının bu çalışmasının 1925 yılında Fransa'da çıkan bir dergide yayınlandığına dikkat çekilmiştir (Güran ve Ergin, 1961). Ancak bu bakteri son isimlendirme ile *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* olarak değiştirilmiştir (Yaygın, 1999).

*Lb. bulgaricus*; 10 – 30 mikron uzunluğunda, 0,7 – 2 mikron kalınlığında, çubuk şeklinde, gram pozitif bir bakteridir. Tek tek veya zincir şeklinde bulunur (Resim 1). Genç bakteriler genellikle zincir oluşturmazlar. Bunlarda volütün granülleri bulunmaz.

Yaşlı bakterilerde (besiyerinde 20 – 24 saat sonra) hücreler uzar ve volütün granülleri görünür. Bakteriler 22 - 52,5°C' ler arasında, bazıları 60°C'de; optimum olarak 42-45°C'de faaliyet gösterirler. 63°C' de 30 dakika ısıtmaya dayanıklı olan bakteri, 70°C' nin üzerindeki ısısal işlemlerde ortadan kalkar ve 15°C' nin altında gelişmez. Optimum koşullarda geliştirildiğinde % 1,7' ye kadar laktik asit oluşturabilir. Şekil 1'de *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*' un zamana bağlı olarak ürettiği asitlik miktarı ve oluşturduğu pH değeri görülmektedir.

Oluşturduğu süt asidi bakımından bakteri suşları arasında çok önemli farklılıklar vardır. Yaygın (1999), çeşitli yoğurtlardan izole ettiği 25 adet *Lb. bulgaricus* suşunun, aynı koşullarda oluşturdukları asitliğin 51,4 SH ile 116,2 SH; pH'nın da 6,45 - 5,80 arasında değiştiğini saptamıştır. Bakterilerin ayrıca asetaldehit, aseton, çok az etanol, butanone-2, iz halinde asetoin ürettiklerini de belirlemiştir. Bu maddelerin miktarının suşlara göre değiştiğini bildirmiştir. Aynı çalışmada, çeşitli yoğurtlardan izole edilen 25 adet *Lb. bulgaricus* suşunun, oluşturdukları asetaldehit miktarının 4 - 77,5 ppm arasında değiştiğini saptamıştır (Robinson, Tamime, Chubb, 1977; Rasic ve Kurmann, 1978; Yaygın, 1979). Rasic ve Kurmann (1978), yoğurdun temel aroma maddesinin asetaldehit olduğunu, asitlik artışıyla asetaldehit arasında pozitif yönlü bir ilişkinin var olduğunu bildirmiştir. Ancak yoğurt pH' sının 4,00 olduğunda asetaldehitin parçalanmaya başladığını tespit etmiştir.

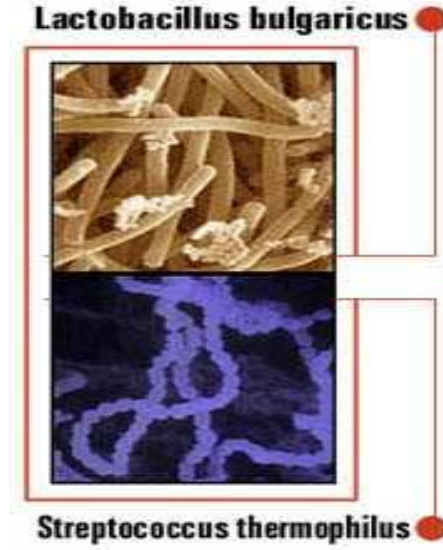


Şekil 1. *Lb. bulgaricus* bakterileri ile ekim yapılmış sütlerde inkübasyon süresince saptanan ortalama asitlik ve pH değişimi (Yaygın, 1999).

Kılıç (1986); *Lb. bulgaricus* suşlarının proteolitik aktiviteleri ilgili olarak; genelinde yüksek asitlik oluşturabilen *Lb. bulgaricus* suşlarının yüksek proteolitik aktivite gösterdiklerini saptamıştır. Ancak bu durum bütün bakteri suşları için geçerli olmadığını bildirmiştir. Araştırmacı denemelerinde, ortalama olarak 0,158 mg trosin/ml olan proteolitik aktivite değerlerinin 0,105 - 0,215 mg trosin/ml sınırları arasında değiştiğini tespit etmiştir. Renz ve Puhan (1975), *Lb. bulgaricus*'un belirli suşları yüksek proteolitik aktivite nedeniyle acı bir tat üretebileceğini bildirmişlerdir.

Kılıç (1986); disk difüzyon yöntemi kullanarak 20 adet *Lb. bulgaricus* suşunun, 5 adet test mikroorganizması üzerindeki antibakteriyel aktivitelerini belirlemiştir. Yapılan araştırma sonucunda, her suşun test mikroorganizması üzerindeki etki derecesinin farklı olduğu görülmüş ve 19 adet *Lb. bulgaricus* suşunun 5 adet test mikroorganizması üzerinde inhibitör etki gösterdiği tesbit edilmiştir. Arslan ve Kılıç (2003), doğal ortamından identifiye edilen yoğurt bakterilerinin pek çoğunun *Staphylococcus aureus*, *Clostridium diffiule*, *Helicobacter pylori*, *E. coli O157:H7* patojenleri üzerinde antibakteriyel aktiviteye sahip olduklarını ve bu aktivitenin de bakteriyosinlerden kaynaklandığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar inceledikleri örnekler arasında önceden tanımlanmış ve isimlendirilmiş bakteriyosinlerin yanında henüz isimlendirilmemiş bakteriyosin benzeri proteinlerin de olduğunu öne sürmüşlerdir. Ayrıca söz konusu bakteriyosinlerin test mikroorganizmaları üzerindeki aktivite spektrumlarının da oldukça geniş olduğunu bildirmişlerdir. Birçok araştırmacı yoğurdun antimikrobiyal, anti-kanserojen, anti-tümör etkisinin onun yapımında kullanılan yoğurt kültürünü oluşturan bakterilerden kaynaklandığını bildirmişlerdir (Pamir, 1965; Yazıcıoğlu, Yılmaz, 1966; Shahani, Vakıl, Kilara, 1976; Shahani, Friend, Bailey, 1983).

*Lb. bulgaricus* ortam koşulları, besin gereksiniminin yeterliliği ile suşlara bağlı olarak eksopolisakkaritler oluşturur. Bu durum Cerning (1990); Bouillanne, Desmanzeaud, Landon, (1981); Kılıç ve Karagözlü, (1996) tarafından belirlenmiştir. Kılıç ve Karagözlü (1996), yaptıkları bir çalışmada *Lb. bulgaricus*' un (2772) 262 mg EPS/L, *Lb. bulgaricus*' un (1489) 186 mg EPS/L düzeyinde eksopolisakkarit oluşturduklarını belirlemişlerdir. Bu teknolojik özellik bazı yoğurt çeşitlerinin üretiminde viskoziteyi artırma bakımından önemli olmaktadır. Ancak set yoğurt yapımında istenmeyen bir özelliktir ( Rasic ve Kurmann,1978).



**Resim 1.** *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterilerinin elektron-mikroskobu altındaki görüntüleri (<http://www.insanvebilim.com/morganizma1.htm>).

*Str. thermophilus*; gram pozitif, 0,7 - 0,9 mikron çapında yuvarlak veya oval bir bakteridir. Bakterilerin morfolojik görünüşü suşlara, ortam koşullarına, gelişme sıcaklıklarına göre değişmektedir. Örneğin 45°C’ de kısa zincirler, 30°C’ de diplokok şeklinde oldukları halde, asitliği artmış kültürlerde uzun zincirler halinde bulunur. Resim 1’ de *Str. thermophilus*’ un morfolojik görüntüsü verilmiştir.

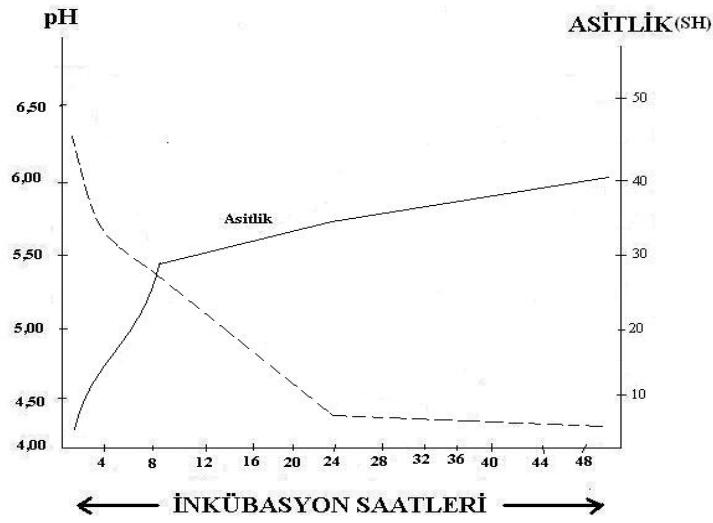
Antibiyotik ve gelişmeyi etkileyici maddeler bulunan sütlerde geliştirildiklerinde hücrelerin kalınlaştığı ve uzun zincirler meydana getirdiği saptanmıştır. *Str. thermophilus* genelde antibiyotiklere, özellikle penisiline karşı çok duyarlı bir bakteridir. Bu nedenle antibiyotikli sütlerden yoğurt yapmak zordur. Dozuna bağlı olarak imkânsız da olabilir. *Str. thermophilus*’ un bu duyarlılığından yararlanılmakta ve sütte penisilin ile diğer bazı antibiyotiklerin aranmasında test mikroorganizması olarak kullanılmaktadır; 0,01 I.U./ml penisilin ve 12,5 mikrogram/ml streptomisin, bakterinin gelişmesini inhibe ettiği belirlenmiştir.

*Str. thermophilus* homofermantatif bir bakteridir ve sütte en fazla % 1 civarında L (+) laktik asit üretir. Oluşturulan süt asidinin miktarı bakımından suşlar arasında büyük farklılıklar bulunmaktadır. Yaygın (1979) yoğurtlardan izole ettiği 25 adet *Str. thermophilus* suşunun aynı koşullarda elde edilen kültürlerinde, asitliğin 31,1 - 59,7 SH arasında değiştiğini saptamıştır (Şekil 2).

Çok az proteolitik bir etkiye sahiptir. Kılıç (1986); *Str. thermophilus* suşlarına ait proteolitik aktivite değerlerinin 0,008 – 0,070 mg tirozin/ml arasında değiştiğini

bildirmiştir. Çalışmada kullanılan bütün suşların proteolitik aktivite değerlerinin ortalaması da 0,043 olarak hesaplanmıştır.

Kılıç (1986); disk difüzyon yöntemi kullanarak 20 adet *Str. thermophilus* suşunun, 5 adet patojen test mikroorganizması üzerindeki antibakteriyel aktivitelerini belirlemiştir. Yapılan çalışma sonucunda, 3 adet *Str. thermophilus* suşunun test mikroorganizmaları üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen değerlerin *Lb. bulgaricus* suşlarının antimikrobiyal etkinliklerinden daha az olduğunu göstermektedir



Şekil 2. İnkübasyon süresince *Str. thermophilus* kültürlerinde asitlik ve pH değişimi (Yaygın, 1999).

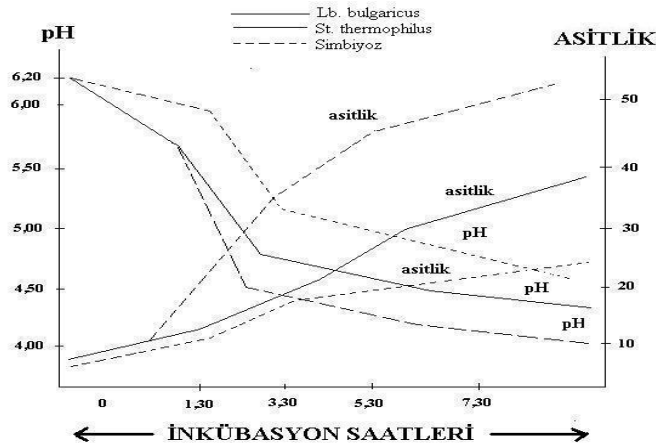
*Str. thermophilus*'un bazı suşlarının eksopolisakkarit oluşturduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Bakterinin uygun sıcaklık, gerekli besin maddesi olmayan koşullarda geliştirilmeye zorlandığında veya yaşaması için gerekli koşullar bozulduğunda dejenere olduğu ve eksopolisakkarit madde meydana getirdiği bildirilmiştir (Cerning, 1990; Bouillanne ve Desmazeaud, 1983; Kılıç ve Karagözlü, 1997). Kılıç, Karagözoğlu ve Akbulut (2000), inceledikleri *Str. thermophilus* (8859) suşunun 374 mg EPS/L ve (573) suşunun 324 mg EPS/L eksopolisakkarit ürettiklerini saptamışlardır. Yoğurt bakterilerinin birlikte bulunmaları durumunda daha fazla miktarda EPS oluşturdukları da tespit edilmiştir.

Laktik asit fermantasyonu sırasında diasetil, asetaldehit, etanol, aseton, butanone-2 gibi uçucu aroma maddeleri ile formik asit, propiyonik asit, bütirik asit meydana getirir. Oluşturulan bu maddelerin miktarları da suşlara göre farklılık gösterir. Yapılan bir çalışmada Yaygın (1979), aynı koşullarda geliştirilen 25 adet *Str. thermophilus* suşu kültüründe 1,2 - 13,5 ppm arasında asetaldehit, 2,4 - 4 ppm arasında diasetil ile 17 suşun aseton, 11 suşun da etanol oluşturduğunu ve bu maddelerin miktarının suşlara göre değiştiğini belirlemiştir. Rasic ve Kurmann (1978), diasetil ve asetoin üretiminde *Str. thermophilus* suşlarının daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

### 2.3. Yoğurt Bakterilerinin Ortak Yaşamı (Simbiyoz Yaşam veya Protokooperasyon)

Yapılan çalışmalar, *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterilerinin sütte simbiyoz halinde yaşadıklarını, yani birbirlerinin gelişmesi için gerekli bazı maddeler meydana getirdiklerini, böyle bir ortamda beraberce daha hızlı çoğaldıklarını ortaya çıkarmıştır (Şekil 3). Bu yaşam şekli bazı literatürlerde “protocooperation”, “protosimbioz” olarak yer almıştır (Tamime, Robinson, 1985). Yoğurt bakterilerinin ortak yaşamı konusundaki ilk bilgiyi Orla-Jensen vermiştir. Pette-Lollkema (1950), Pette (1964)’nin kültürlerdeki bakterilerin ayrı ayrı süte aşılandıklarında oluşturdukları asitliğin, müşterek olarak aşılandıklarında oluşturdukları asitlikten daha düşük olduğunu; *Str. thermophilus*’ un müşterek kültürlerde sayı bakımından da ayrı ayrı gelişmeye göre çok fazla bulunduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, *Str. thermophilus*’ un oluşturduğu süt asidi ile *Lb. bulgaricus*’ un gelişmesini teşvik ettiğini *Lb. bulgaricus*’ un da proteinlerden kazeini parçalayarak *Str. thermophilus*’ un faaliyeti için çok önemli olan “valin”i açığa çıkardığını; açıklamışlardır (Davis, 1975; Shankar ve Davies, 1977; Yöney, 1979; Wegner, 1981; Klupsch, 1984; Yaygın, 1999).





**Şekil 3.** *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterilerinin aynı koşullarda tek tek ve müştereken (simbiyoz) oluşturdukları asitlik ve pH (Yaygın, 1999).

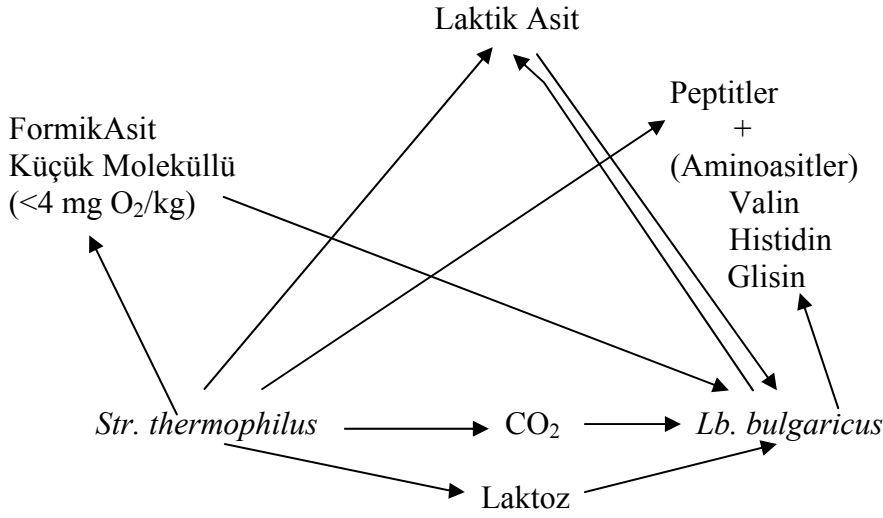
Yoğurt mikroflorası olarak bilinen bu iki bakteri türü birlikte bulduklarında sütte yalnız başına aşılma hızlarına göre daha iyi gelişirler. Başlangıçta, önce *Str. thermophilus* süt ortamında gelişmeye başlar ve sayıca artar. Bu arada ortamın oksijenini kullanır ve formik asit oluşturur. Ayrıca az miktarda ortamı asitlendirir. Böylece *Lb. bulgaricus*' un gelişmesi için anaerob bir ortam, gelişmesini teşvik edici formik asit ile düşük düzeyde laktik asit meydana getirir. *Lb. bulgaricus*' un optimum gelişme pH' ı 5,2 ile 5,5 olduğundan kolaylıkla gelişme gösterir ve ortama hakim olur. Bu sırada süt proteinlerini parçalar. Açığa çıkardığı valin ve diğer aminoasitler sayesinde birlikte bulunduğu *Str. thermophilus* için daha elverişli bir ortam oluşturur. *Str. thermophilus* bu stimülasyonun devamında sayıca çok hızlı artar. Ortamın asitliği gittikçe arttığında, yüksek asitliğe dayanamayan bu bakterinin çoğalması engellenir ve nihayet durur. *Lb. bulgaricus* başlangıçta daha yavaş çoğalır. Ancak çok daha yüksek bir asitliğe katlanabilir. Bu durumda *Str. thermophilus* sayısı giderek azalır. Eğer kültür inkübasyon sonlandıktan sonra istenen şekilde soğutulmazsa *Lb. bulgaricus* sayısı oldukça yüksek değere ulaşır. Normalde bir yoğurt kültüründe iki bakteri arasındaki oran 1 : 1 olması gerekir. Ancak pratikte bu pek de mümkün olmaz. Çünkü kullanılan kültürün özellikleri, inkübasyon sıcaklığı ve aşılama oranına bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Pette, 1964). Yoğurt bakterileri bu arada albuminleri uzun zincirli peptitler ve serbest aminoasitlere kadar parçalarlar. Bu proteolitik aktiviteleri fizyolojik açıdan çok ilginçtir, çünkü yoğurdun sindirimini hızlandırır ve kolaylaştırır. Serbest aminoasitlerden özellikle prolin yoğurdun depolanması sırasında artar ve

konsantrasyonu başlangıca göre üç katına ulaşır. Simbiyoz yaşamlarını sürdürebilmeleri için ortam sıcaklığının 42 – 44°C arasında olması gereklidir (Rasic ve Kurmann, 1978; Yöney, 1979; Yaygın, 1999). Yoğurt kültürünün kullanılmasıyla elde edilen yoğurtlarda pH değeri 4,00 – 4,20 arasında olduğundan böyle asitli ortamlarda patojen mikroorganizmanın da bulunması veya yaşaması mümkün değildir (Tamime ve Deeth, 1980; Radke-Mitchell, 1986; Kılıç, 1986; Kılıç, 2001). Bu bakterilerin faaliyetleri sonucunda yalnızca yoğurt üretimi yapılmadığı aynı zamanda bu ürünlerin içerdiği laktik asit ve diğer metabolitler sayesinde insan sağlığını da koruduğu ortaya konmuştur (Tamime ve Deeth, 1980; Radke-Mitchell, 1986).

Ayrıca *Lb. bulgaricus*' un bu amino asitler yanında, diğer bazı amino asitlerle küçük peptitler, pürin, pirimidin, denatüre peynir suyu proteinleri, kısmen hidrolize kazein meydana getirdiği ve bu maddelerin *Str. thermophilus*' un gelişmesini teşvik ettiği belirlenmiştir (Robinson ve Tamime, 1981; Klupsch, 1984).

*Lb. bulgaricus*' un açığa çıkardığı aminoasitler *Str. thermophilus*' ların çoğalmalarını hızlandırmakta ve ortamdaki bakteri sayısını artırmaktadır. Sonuç olarak, *Str. thermophilus* inkübasyonun ilk zamanlarında kısa sürede gelişmekte ve ilk saatlerde sayı bakımından *Lb. bulgaricus*' lardan 3 veya 4 kat daha fazla olmaktadır. Daha sonra oluşan süt asidinin etkisi ile bunların faaliyeti yavaşlayıp *Lb. bulgaricus*' un sayısı artmaktadır. Zira *Lb. bulgaricus*' ların gelişmesi için ortamın asit karakterde olması gerekmektedir. *Str. thermophilus*' un aside karşı dayanıklılığının simbiyoz halinde iken arttığı, daha yüksek asitli ortamda gelişmesini devam ettirdiği belirlenmiştir (Tramer, 1973; Rasic ve Kurmann, 1978; Tamime ve Deeth, 1980). Her iki bakterinin bir arada bulunması durumunda sütün fermantasyonu sırasında oluşan metabolitler ile bu metabolitlerin bakterilerin gelişimini nasıl teşvik ettiklerini Driessen (1981), Şekil 4'te görüldüğü üzere açıklamıştır.

Rasic ve Kurmann (1978)'ın bildirdiklerine göre; yoğurt bakterileri genelde zengin besiyerlerinde iyi gelişirler. Besin madde gereksinimleri fazla olup, faaliyetleri için ihtiyaç duydukları besin elementlerini yeterli miktarda sütten temin ederler.



**Şekil 4.** *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus*'un sütte müşterek faaliyetleri (Driessen, 1981).

İnkübasyon sırasında önce *Str. thermophilus*, sonra *Lb. bulgaricus* süt asidi oluşturmaktadır. Son yıllardaki çalışmalar, *Str. thermophilus*' un formik asit oluşturarak *Lb. bulgaricus*' un gelişmesini stimüle ettiğini göstermiştir. Yüksek sıcaklık derecelerinde uzun süre ısıtma, örneğin 90°C' de 30 dakika, sütte önemli miktarda formik asit oluşmasına yardım etmektedir. Yoğurt yapımında ısıtma düşük derecelerde yapıldığı zaman, sütte yeterli miktarda formik asit oluşmamaktadır. Ayrıca inkübasyon sırası anaerobik koşullarda, *Str. thermophilus*' un gelişmesi sırasında bir miktar formik asit meydana gelmektedir (Yaygın, 1999).

Rasic ve Kurmann (1978), yoğurt bakterilerinin besin isteklerini Çizelge 1'de topluca vermişlerdir.

Saf kültürde yer alacak suşların seçiminde bakterilerin süt asidi, tat, aroma ve yapışkan maddeler (mukoz) oluşturma özellikleri, proteolitik ve antibakteriyel aktiviteleri dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir (Rasic ve Kurmann, 1978; Yaygın ve Kılıç, 1993; Yaygın, 1999; Kılıç, 2001).

**Çizelge 1.** Yoğurt bakterilerinin besin istekleri (Rasic ve Kurmann, 1978).

<b>İstek</b>	<b>Besinler</b>
1- Enerji kaynağı	Laktoz veya diğer fermente olabilen karbonhidratlar.
2- Karbon kaynağı	Laktoz veya diğer fermente olabilen karbonhidratlar.
3- Azot kaynağı	Süt proteini, peptitleri ve birçok amino asit.
4- Vitaminler	Biotin, niasin, pantotenik asit, süt asidi bakterileri tarafından istenir. Riboflavin, tiamin, pridoksin, folik asit, vitamin B <sub>12</sub> birçok bakteri türü tarafından istenir. <i>Lb. bulgaricus</i> riboflavin; <i>Str. thermophilus</i> 'un buna ilaveten lizin, lösin, histidin, valin, sistein, aspartik asit, glutamik asit, isolösin, glisin, tirozin istemi vardır. <i>Lb. jugurti</i> folik asit ister.
5- Diğerleri	Orotik asit <i>Lb. bulgaricus</i> tarafından istenir. Fakat bunu stimüle eden formik asittir. Karbondioksit yoğurt bakterilerinin gelişmesini destekler. Sistein gibi kükürt içeren amino asitleri ısıtma ile oluşan sülfidril grupları Eh'yi (Eh=Potansiyel redox=okside redüksiyon) azaltarak <i>Lb. bulgaricus</i> 'un gelişmesine olumlu etki yapar.

İnkübasyon döneminde oluşan asitlik yanında, inkübasyondan sonra yoğurtta meydana gelen asitlik, yoğurt işletmeleri için çok önemlidir. Bunun için seçilen bakterilerin, belirli koşullarda kültürlerde oluşturdukları titrasyon asitliği ve pH belirlenir. Seçilen bakterilerin müşterek kültürü ile yağsız sterilize süte % 2 ekim yapılır ve 42°C' de 3 saat inkübasyondan sonra elde edilen kültürde asitliğin 38 – 40 SH olması gerekmektedir. Daha fazla asitlik oluşturan kültürler, yoğurdun soğuması ve depolanması sırasında çok fazla asitlik artışına neden olabilecekleri için tercih edilmezler (Rasic ve Kurmann, 1978; Wegner, 1981; Klupsch, 1984; Yaygın ve Kılıç, 1993; Yaygın, 1999; Kılıç, 2001). Kültürlerin fazla aktif olması durumunda inkübasyon sonrası soğutma sırasında da asit oluşturmaya devam etmeleri ve tüketim anında istenmeyecek kadar fazla asitlik meydana gelmesi nedeniyle normal aktivitedeki kültürlerin kullanılması önerilmiştir (Moquot ve Hurel, 1970; Tamime ve Deeth, 1980). Bu nedenle Yaygın (1999), asitlik oluşumunda inkübasyon koşulları ile yoğurdun soğutulması arasındaki ilişkiyi şu şekilde açıklamıştır; yoğurdun inkübasyon sonunda sıcaklığının 42°C' den 19 – 20°C' ye düştüğünde, bakterilerin enzimatik aktivitesinin devam ettiğini ve asit oluşumunun sürdüğünü bildirmiştir. Asitlik aktivitesi, sıcaklık düştükçe yavaşlar. Ancak bakterilerin enzimatik faaliyeti saklama sıcaklığında bile devam eder. Bu nedenle araştırmacı pH' ya bağlı olarak, 0 – 7°C arasında çok az miktarda

süt asidinin oluşabileceğini bildirmiştir. Yoğurdun soğutulmasının önemini vurgulayan Yaygın (1999), inkübasyondan sonra yoğurdun soğuması ve soğuk odada beklemesi sırasında asit oluşumunun mümkün olduğu kadar az olmasının raf ömrü sürecinde yoğurt kalitesinin bozulmaması yönünden önemli olduğuna işaret etmiştir. Kültür hazırlarken bakterilerin seçiminde bu durumun göz önünde bulundurulması ve postasidifikasyonu düşük olan suşların seçimine özen gösterilmesi gerektiği birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Rasic ve Kurmann, 1978; Driessen, 1981; Yaygın, 1999; Kılıç, 2001). Konuyla ilgili olarak Birollo, Reinheimer, Vinderola (2000); yoğurt örneklerini 6°C ve 12°C’ de muhafaza ederek, raf ömrü boyunca yoğurtlardaki *Lb. bulgaricus* ile *Str. thermophilus* sayılarının değişiklik gösterdiğini, en iyi soğukta saklama derecesinin de 6°C ve altındaki sıcaklıklar olduğunu belirlemişlerdir.

Yoğurt bakterileri, diğer süt asidi bakterilerine göre daha az proteolitik aktivite gösterirler. Kazeinin parçalanması sonucu ortaya çıkan bazı aminoasitler, özellikle de *Str. thermophilus*’ un gelişmesi için çok önemlidir (Shankar ve Davies, 1978). Asperger (1973), aminoasitlerden tirozinin yoğurdun aroma maddesi olduğunu ve yoğurtta tirozinin 0,05 – 0,1 mg/ml arasında olması gerektiğini, 0,125 mg/ml’den fazla tirozinin acı tat oluşturduğunu bildirmiştir. Bundan dolayı Asperger (1973), Renz ve Puhan (1975), yoğurt kültürünün elde edilmesi sırasında düşük proteolitik aktivite gösteren *Lb. bulgaricus* suşlarının seçilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Khanna ve Sing (1978), *Lb. bulgaricus*’ un tek başına faaliyeti sonucu ortamda daha fazla aminoasit meydana gelmesine rağmen her iki bakterinin birlikte aşılması durumunda bu miktarın daha düşük düzeyde kaldığını saptamışlardır (Kılıç, 1986). Rasic ve Kurmann (1978); proteoliz olayının bakteri tür ve suşuna göre değiştiğini belirtmişler ve orta derecede proteolitik aktif suş veya türlerin seçiminin önemine değinmişlerdir. Fakat bakteriler ve bakteri suşları arasında, bu özellikler bakımından farklılıklar bulunmaktadır. *Lb. bulgaricus*, *Str. thermophilus*’ tan daha fazla proteolitik aktiviteye sahiptir. Bakterilerin proteolitik aktivitesi tirozin değeri ile ifade edilmektedir. Kılıç (1991) yaptığı bir çalışmada, 20 adet *Lb. bulgaricus* suşunun proteolitik aktivitesini 0,105 – 0,217 mg/ml tirozin; 20 adet *Str. thermophilus* suşunun proteolitik aktivitesini ise 0,050 – 0,070 mg/ml tirozin olarak saptamıştır. Yoğurt bakterilerinin proteolitik aktivitesinin orta düzeyde olduğu ancak bu miktarın bile iki mikroorganizmanın simbiyotik gelişimini

yönlendirmesi ve aroma bileşenlerinin oluşturulmasında önemli olduğu bildirilmiştir (Yaygın, 1999). Kültür bakterilerinin etkinlikleri sonucu protein bir taraftan aminoasitlere kadar parçalanırken diğer taraftan onların gelişme ve çoğalmalarını teşvik eden bir takım ara ürünlere parçalanmaktadır (Davis, 1975; Moon ve Reinbold, 1976; Shankar ve Davies, 1977). Tamime ve Deeth, (1980)'e göre, proteoliz bakterilerin enzimatik etkinlikleri sonucu proteinlerin bir dizi ara kademededen sonra aminoasitlere kadar parçalanması durumudur.

Bakterilerin, yoğurdun tat ve aromasını oluşturan asetaldehit, diasetil, aseton gibi uçucu aroma maddelerini üretme yeteneklerinin, suşlara göre çok değiştiğini, bu nedenle saf kültürü oluşturan bakterilerin seçiminde, aroma maddelerini üretme yeteneklerinin dikkate alınmasının gereği üzerinde durulmuştur (Rasic ve Kurmann, 1978; Yaygın, 1999). Farklı orijinli 6 adet kültürde asetaldehiti ortalama olarak 28 ppm olarak belirleyen Kılıç (1986) asetaldehit miktarının suş ve türe, kültürdeki oranlarına göre değiştiğini bildirmiştir. Robinson ve ark. (1977), en iyi yoğurt aromasının kültürün 27,6 ppm asetaldehit oluşturmasıyla algılandığını bildirmişlerdir.

Bazı yoğurt çeşitlerinin hazırlanmasında eksopolisakkarit oluşturan bakteri suşlarının yoğurt kültüründe belli miktarda bulunmasının meyveli veya aromalı yoğurtların kalitesi üzerinde olumlu etki yaptığı bildirilmiştir. Aynı özelliğin ayran üretiminde su fazının ayrılmasının önlenmesi için yararlanıldığı yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Rasic ve Kurmann, 1978; Yaygın, 1999).

Yoğurt bakterileri, inkübasyon sırasında süt şekerini fermente ederek süt asidi yanında bazı metabolizma ürünleri de oluştururlar. Bu maddelerin bir kısmı antibakteriyel özellik gösterir. Yapılan çalışmalar, *Lb. bulgaricus*' un "bulgarican" adı verilen bir antibiyotik meydana getirdiğini göstermiştir (Mel'nikova ve Koroleva, 1975; Reddy, Shahani ve Friend, 1983). Bu maddeler patojen ve saprofit birçok mikroorganizmanın faaliyetini engellemekte veya inhibe etmektedirler. Birçok araştırmacı, saf kültürlerde yer alacak bakterilerin seçiminde bu özelliğin önemli bir kriter olarak göz önünde bulundurulması gerektiğini bildirmiştir (Yaygın, 1999, Kılıç, 2001).

Yoğurt kültürlerinin hazırlanması sırasında *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterilerinin suşlarının uygun kombinasyonlarının seçilmesi gerekir. Çünkü başarılı bir yoğurt üretimi için yalnızca bu iki bakterinin kullanılması yeterli değildir. Ayrıca her ülke hatta aynı ülkenin farklı bölgelerinde tüketici kitlesinin damak zevki değişik

olabilir. Kimi bölgelerde tatlı yoğurt arzu edilirken, kimi yerlerde daha ekşi yoğurt aranır. İşte bu isteklere cevap vermek için uygun bakteri kombinasyonları ile oluşturulan kültürler hazırlanmalıdır. Ayrıca kültürdeki her iki bakterinin oranlarının da önemi büyüktür. Genel olarak *Lb. bulgaricus* : *Str. thermophilus*' a oranla 40:60, 45:55 veya 1:3, 3:2 olması durumunda kaliteli yoğurtlar yapılabileceği araştırmalar sonucu ortaya konmuştur (Puhan, Banhegyi, 1974; Kılıç, 1990; Kılıç 2001).

Rasic ve Kurmann (1978), yoğurt bakterilerinin seçiminde dikkate alınması gereken teknolojik kriterleri aşağıdaki şekilde bildirmişlerdir:

- Asit Oluşturma
- Aroma Maddeleri Üretimi
- Proteolitik Aktivite
- Antimikrobiyal Aktivite

#### 2.4. Yoğurt Üretiminde Saf Kültür Kullanımının Yararları

Saf yoğurt kültürü, sadece *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterilerini içeren kültürdür. Bu bakterilerin dışındaki mikroorganizmalar, yani maya, küf ve diğer bakteriler, yoğurtta istenmeyen kalite hataları oluşturmaktadırlar. 10°C' nin altındaki soğuk depolarda bırakılmaları sırasında saf kültür ile yapılan yoğurtlarda tat ve aroma değişmez, asitlik artmaz. Bu nedenle bu yoğurtlar uzun süre saklanabilir. Oysa içinde maya veya diğer süt asidi bakterileri bulunan yoğurtlarda, soğuk odada saklama sırasında bile bu mikroorganizmaların faaliyeti devam eder. Bunun sonucu olarak yoğurtta asitlik artar, ekşime ve tat değişimi görülür.

Saf kültürle yoğurt yapılması, standart tat ve aromada yoğurt üretimi olanağını sağlar. Saf kültürle yapılan yoğurtların, içinde yoğurt bakterileri yanında diğer mikroorganizmaların bulunduğu, mayayla yapılan yoğurtlara göre daha az su saldıkları, viskozitesinin daha iyi olduğu saptanmıştır (Yaygın ve Kılıç, 1980; Yaygın, 1999).

Özet olarak saf kültürle yapılan yoğurtlarda;

- ✓ Soğuk odada saklanması sırasında tat ve aroma değişimi olmaz,
- ✓ Yabancı tat ve aroma oluşmaz,
- ✓ Raf ömrü uzar,
- ✓ Viskozite daha iyidir, serum ayrılması daha azdır.

Standart tat ve aromada, saklama sırasında özelliğini değiştirmeyen bir yoğurt üretimi için, şletmelerde saf kültür kullanımı zorunludur.

Yoğurt için değişik özelliklerde kültürler hazırlanmaktadır. Laboratuvarlar genellikle, bakterilerin yoğurtta oluşturacakları asitlik ve asetaldehit miktarlarına göre:

- ✓ Kuvvetli,
- ✓ Orta,
- ✓ Hafif,
- ✓ Çok hafif, aromalı kültürler hazırlamaktadır (Yaygın, 1999).

Son yıllarda yoğurt ve benzeri ürünlerin hazırlanmasında yararlanılan kültürlere ek olarak, probiyotik özelliği bulunan *Lactobacillus acidophilus* ve bazı Bifidobakter türü kültürler katılmaktadır. Bu kültürlere kısaca AB kültürleri denilmektedir. *Lb. acidophilus* ince bağırsakta, Bifidobakterler kalın bağırsakta kolonize olurlar. Bu bakteriler bağırsaklarda bakteri florasını düzeltirler, zararlı mikroorganizmaların faaliyetini önleyerek çeşitli bağırsak rahatsızlıklarının oluşumuna engel olurlar veya bazı rahatsızlıkları iyileştirirler. Bu bakterilerin çeşitli şekillerde vücuda alınması amacıyla, son yıllarda meyveli yoğurt, içilen yoğurt ve diğer fermente süt ürünleri ile taze tüketilen peynirlerin yapımında kullanılan kültürlere AB kültürleri katılmakta, AB kültürleri ile yeni fermente süt ürünleri üretilmektedir. Ticari olarak sıvı, liyofilize ve dondurulmuş kültür üretimi yapılmaktadır (Yaygın, 1999; Kılıç, 2001).

Piyasada üretilmekte olan ticari kültür tipleri liyofilize kültürler başta olmak üzere dondurulmuş kültür tipleridir. Daha önceleri sıvı kültürler üretilmekteydi ancak gerek kullanım süresinin kısa oluşu, gerekse uzak mesafelere taşınma zorluğu nedeniyle artık satışı yapılmamaktadır. Daha çok liyofilize kültürler satılmaktadır. 1940'lı yıllarda liyofilize kültür üretimine başlanmış olmasına rağmen ancak 1980 yılından sonra talebin artması üzerine birçok laboratuvar liyofilize kültür üretimine ağırlık vermiştir.

Standart liyofilize kültür, sıvı kültürün liyofilize edilmiş şeklidir. Kültür aseptik koşullarda özel ambalajlara konur. Paketlemeden önce ambalajın havası alınır, içine inert gaz verilir. Böylece hava ile teması kesilen bakteriler, canlılıklarını uzun süre muhafaza ederler. Normal liyofilize kültürlerde canlı bakteri sayısı  $10^8 - 10^9$  adet/g' dır. şletmelerde, satın alınan kültür laboratuvarında ana kültür, ara kültür ve şletme kültürü şeklinde aktifleştirilerek çoğaltılırlar. Konsantre liyofilize kültür, ultra santrifüjlerde canlı bakteri sayısı arttırılmış olan sıvı kültürün liyofilize edilmesi ile elde edilir. Bu



kültür, normal liyofilize kültür gibi özel paketlere aseptik koşullarda ambalajlanır. Kültürdeki canlı bakteri sayısı en az  $10^{11}$  -  $10^{12}$  adet/g' dır. Liyofilize kültürler uzak mesafelere kolayca gönderilir, buzdolabında 6 ay kadar canlı sayısında önemli bir değişiklik olmadan saklanabilirler. Çok fazla canlı bakteri içermesi nedeniyle konsantre liyofilize kültür ya işletme kültürü hazırlanmasında veya direkt olarak yoğurt yapılacak süte katılır. Konsantre liyofilize kültür laboratuvarında çoğaltılmadığı için *Lb. bulgaricus* ile *Str. thermophilus* arasındaki oran değişmez. Yabancı mikroorganizma ve bakteriyofaj bulaşma riski minimuma indirilmiştir. Ayrıca bu kültürü kullanmak için süt fabrikasında özel laboratuvar ve teknik elemana gereksinim duyulmaz. Bu özelliklerinden dolayı, son yıllarda konsantre liyofilize kültür kullanımı çok artmıştır (Halkman, 1983; Yaygın, 1999).

Dondurulmuş saf kültür üretimi sıvı kültürlerin  $-30^{\circ}\text{C}$  ile  $-40^{\circ}\text{C}$ ' de dondurulması ile elde edilir. Veya dondurma işlemi  $-196^{\circ}\text{C}$ ' de, sıvı azot içinde gerçekleştirilir. Halen ticari olarak standart (normal) ve konsantre dondurulmuş kültürler hazırlanıp pazarlanmaktadır.

Konsantre dondurulmuş kültür, konsantre liyofilize kültür için belirtilen avantajlara sahiptir. Bu nedenle, son yıllarda konsantre dondurulmuş kültür kullanımı çok artmıştır. Ancak bu tip kültürlerin saklanmasından daha çok soğuk zincirin kırılmadan ve üretildikleri sıcaklıklarda taşınmaları çok önemlidir (Yaygın ve Kılıç, 1993; Yaygın, 1999).

Yoğurt yapımı için süte katılacak kültüre (mayaya), işletme kültürü adı verilir. İşletmeye gelen standart liyofilize ve dondurulmuş stok kültürlerin miktarı az ve içerdikleri mikroorganizma sayıları ve aktiviteleri yetersiz bulunduğundan; işletme kültürü olarak çoğaltılırlar. Konsantre liyofilize ve konsantre dondurulmuş kültürlerde canlı mikroorganizma sayısı  $10^{11}$  adet/g' ın üzerinde bulunduğundan, bunlar doğrudan doğruya yoğurt yapılacak süte de eklenebilirler (Yaygın, 1999).

Süt endüstrisi gelişmiş ülkelerde genel olarak, saf kültür kullanılmadan fermente süt ürünleri ve peynir çeşitleri yapılmadığından, saf kültüre talep çok fazladır. Bazı ülkelerde uluslararası pazarlama yapan saf kültür üretim laboratuvarları mevcuttur. Değişik özellikte saf kültür üreten laboratuvarlar Çizelge 3'te verilmiştir (Yaygın, 1999).

**Çizelge 2.** Saf kültür üreten önemli laboratuvarlar ve enstitüler

1- Özel Laboratuvarlar

<b>Laboratuvarlar</b>	<b>Ülke Adı</b>
Centro Sperimentale del Latte	İtalya
Chr. Hansen Laboratuvarı	Danimarka, Fransa, A.B.D.
Eurozyme	Fransa
Flora Danika	Danimarka
Actolabo	Fransa
Mauri Foods	Avustralya, İngiltere
Microlife Technic	A.B.D
Miles / Mars Hall	A.B.D., Fransa
Scandinavian Dairy Associations	İsveç, Norveç, Finlandiya
Wiesby	Almanya
LB Bulgaricum	Bulgaristan
Sacco	İtalya
Danisco	Fransa, Danimarka

2- Sütçülük Araştırma Enstitüleri

<b>Enstitüler</b>	<b>Ülke Adı</b>
CSIRO	Avustralya
Jouy-en-Josas	Fransa
Liebefeld	İsviçre
New Zeland Dairy Research Inst.	Yeni Zelanda
NIZO	Hollanda

Kültür kullanılan işletmelerde bilgili ve yetenekli teknik elemanın bulundurulması gerekir. Böylelikle hem daha sağlıklı üretim için kültürler bilinçli olarak kullanılır, hem de kültürlerden uzun süre yararlanmak mümkün olur (Yaygın, 1999). Saf kültür kullanımında başarılı olmak kültürdeki bakterilerin sayıca yeterli ve aktif olmalarına bağlıdır. Yoğurt üretiminde kültür, süte katıldığı zaman, bakteriler mümkün olduğu kadar ortama uyum sağlamalı ve çabuk süt şekerini fermente ederek sütte çoğalmalıdır. Süt şekerinin fermantasyonu sırasında bakteri sayısı hızla artar ve sütün pH' sını 5,00' in altına 4,70' e düşürür. Bu süre yoğurt için yaklaşık 2,5 - 3 saattir. Bu aşamadan sonra özellikle *Str. thermophilus* sayısında ortamda oluşan laktik asidin miktarına bağlı olarak azalmalar meydana gelir. 4,00 pH değerinin altında her iki bakteri sayısında da azalmalar, kısaca hücre ölümleri gözlenir. Bu nedenle yapı ve tat ile aroma bakımından

sevilen bir ürün yapımı ve tüketimi için yoğurt bakterilerinin simbiyotik faaliyetini ve yoğurt oluşum devresini iyi bilmek gerekir (Üçüncü, 1996).

### 2.5. Kültürlerde Kalite Kontrolü

Kültürlerde bazı nedenlerden dolayı hatalar meydana gelmektedir. Örneğin asitlik gelişiminin yetersiz oluşu ki bunun sebepleri; kültür üretim koşullarının uygun olmaması (aşılama oranı, inkübasyon sıcaklığı ve süresi, vb.), sütte antibiyotik madde bulunması, bakteriyofaj, temizlik ve dezenfektan madde kalıntıları gibi. Bunun dışında; tat oluşumunda yetersizlikler, sert ve topaklaşmış pıhtı, su salma, yapışkan pıhtı, gaz oluşumu, acılık, metalik veya buruk tat oluşumu gibi hatalar da kültürlerde meydana gelebilecek hatalardandır. Özellikle bakteriyofaj kültürlerde asitlik oluşumunu önemli oranda etkileyen bir faktördür. Fajla bulaşık bir kültürde çoğalma, ilk saatlerde hızlı olmakta fakat ileri saatlerde yavaşlamakta, inkübasyonun devam etmesi halinde kültürün aktivitesinin azaldığı gözlenmektedir. (Yaygın ve Kılıç, 1993). Bunun için araştırmacılar kültürlerde uygulanan analizlerin onların kullanım sürecinde istenen özellikleri içerip içermediğini belirlemek açısından önemli olduğunu vurgulamışlardır (Wegner, 1981; Klupsch, 1984; Yaygın ve Kılıç, 1993; Üçüncü, 1996; Kılıç, 2001).

Saf kültürler için en önemli sorun, çoğaltım sırasında bunlara yabancı mikroorganizma bulaşmasıdır. Kültürden hazırlanan preparatın mikroskopta incelenmesi ile kültürde yabancı mikroorganizma aranır. Özellikle mayalar hemen belirlenir. Ayrıca mikroskopla yapılan kontrolde, bakterilerin birbirlerine oranı morfolojik durumları kontrol edilir. Eğer *Lb. bulgaricus* : *Str. thermophilus* arasındaki oran çok değişmiş ve bakterilerin görünüşünde dikkati çeken bir farklılık mevcut ise, böyle kültürlerin kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir (Wegner, 1981; Yaygın ve Kılıç, 1993).

Kültürlerde saflık kontrolünde; koliform bakteriler, maya ve küf sayısı ile toplam mezofil aerob bakteri sayısının tespiti gerektiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Rasic ve Kurmann, 1978; Klupsch, 1984; Yaygın ve Kılıç, 1993).

Laboratuardan alınan kültürlerin işletmede başarılı olarak kullanılabilmesi için aktivite testinin yapılması gerekir. Burada söz konusu aktivite glikolitik aktivite, bakterilerin süt şekerini parçalayıp süt asidi oluşturma durumudur. Aktivite testi

sonunda kùltùrlerde saptanan asitliğin 34 – 36 SH, maksimum 40 SH olması gerekir (Wegner, 1981; Klupsch, 1984; Yaygın ve Kılıç, 1993; Yaygın, 1999).

İşletmelerde üretilen kùltùrlerin düzenli olarak belirli aralıklarla duysal özellikleri belirlenmelidir. Kùltürün kendine özgü tat, aroma ve kokusunda herhangi bir değişim belirlenirse bu değişikliğin yabancı mikroorganizma bulaşmasından ileri geldiği düşünülür (Rasic ve Kurmann, 1978; Yaygın ve Kılıç, 1993; Üçüncü, 1996).

Süt işletmelerinde kùltür kullanımında başarılı sonuçlar elde edebilmek için üretim sütünde üzerinde durulması gereken önemli noktalar şöyle özetlenmiştir:

- a) Kùltür üretiminde kullanılan süt kaliteli, sağlıklı ve uygun bileşimde olmalıdır,
- b) Sütün bileşiminde antibiyotik ve benzeri ilaç kalıntıları, koruyucu madde, deterjan ve dezenfektan kalıntılarının bulunmaması gerekir,
- c) Sütün somatik hücre sayısının çok düşük olması, maya ve küf gibi proteolitik ve lipolitik aktif mikroorganizmaların sayılarının çok düşük olması,
- d) Sütteki bakteriyofaj içeriğinin mümkün olduğunca en düşük seviyede bulunması,
- e) Amaca uygun kùltür kullanılması,

Ayrıca kùltür üretiminde görev alan personelin yeterince eğitilmiş, bilgilendirilmiş kısaca yetişmiş olması gerektiği bildirilmiştir (Wegner, 1981; Üçüncü, 1996; Yaygın, 1999; Kılıç, 2001).

### 3. Materyal ve Yöntem

#### 3.1. Materyal:

- Farklı firmalar tarafından ithal edilen ve satışı yapılmakta olan; Danisco, Chr. Hansen, LB Bulgaricum, Sacco ve DSM markalarına ait liyofilize yoğurt kültürleri kullanılmıştır.
- Kültürün aktifleştirilmesi ve geliştirilmesinde Pınar marka, (püskürtme yöntemiyle elde edilmiş) kolay eriyebilen süttozu kullanılmıştır.
- Duyusal kontrol için kullanılan yoğurtlar taze inek sütünden üretilmiştir.

#### 3.2. Yöntem:

##### 3.2.1. Teknolojik Özellikler

###### 3.2.1.1. Aktivite Testi (Asitlik Oluşturma)

%12 kurumaddeli (süttozundan hazırlanmış) 100 ml süt, 90°C’ de 45 dakika süreyle ısıtılarak ısıtıldıktan sonra geliştirilen kültürle %3 oranında aşılanmış ve 43°C’de 3 saatlik inkübasyon süresi sonunda titrasyon asitliği (SH) ve pH değeri belirlenmiştir.

###### 3.2.1.1.1. Titrasyon Asitliği (Oysun, 1996).

Titrasyon yöntemi (SH Değeri olarak) ile belirlenmiştir. Analiz şu şekilde uygulanmıştır:

- ⇒ 10 gr örnek tartılmıştır.
- ⇒ Üzerine 90 ml, 40°C’de saf su ilave edilerek iyice karıştırılmış,
- ⇒ Üzerine %1’lik fenolftalein çözeltisinden 0,5 ml ilave edildikten sonra
- ⇒ N/4’lük NaOH ile çözelti hafif pembe renge dönüşüncüye kadar titre edilmiştir.

###### 3.2.1.1.2. pH değeri

Süt Teknolojisi Bölüm laboratuvarında bulunan SS Zeromatic pH metre ile ölçümler yapılmıştır.

### 3.2.1.2. Proteoliz (Citti, Sandine, Elliker, 1965)

Bu özelliğin belirlenmesinde Spektrofotometre (722 Grating Spectrophotometer marka) kullanılarak HULL yönteminden yararlanılmış ve sonuçlar tirozin ekivalenti olarak verilmiştir. Bunun için yapılan işlemler sırasıyla şöyledir:

#### a) Gerekli Çözeltilerin Hazırlanması:

*Triklor asetik asit (TCA)*= 0,72 normalitede iyi kaliteli asitten hazırlanmıştır.

*Na<sub>4</sub>CO<sub>3</sub> + Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> Çözeltisi*= 75 gr Na<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>, 10 gr Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> tartılmış ve 500 ml' ye saf suyla tamamlanmıştır.

*Fenol Ayıracı*= 1 kısım Folin cioucoltose (BDH), 2 kısım saf su ile karıştırılarak elde edilmiştir. Çözelti kullanılmadan hemen önce hazırlanmıştır.

#### b) Tirozin Standart Çözeltisi:

Uygun aralıkta Tirozin standart çözeltileri hazırlanarak spektrofotometrede absorbans değerleri okunmuştur.

#### c) Proteolitik aktiviteyi saptamak için yoğurt kültürlerinin hazırlanması:

Bunun için yoğurt kültürleri önce %12 yağsız süttozundan hazırlanmış, 100 ml steril süte 1 gr oranında aşılansmış ve 42 – 43 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Süre sonunda elde edilen yoğurtlar 100 ml süte %3 oranında tekrar aşılansmış ve 42 – 43 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Aşılansan kültür bu şekilde 2 pasaj yapılarak aktifleştirilmiştir.

#### d) Analizin yapılışı:

⇒ 1 gram örnek alınmıştır

⇒ 4 ml destile su ilave edilmiştir.

⇒ 10 ml 0,72 N TCA (Triklor asetik asit) ilave edildikten sonra

⇒ Homojenize edilmiştir.

⇒ Daha sonra SS 595 no' lu filtre kâğıdından süzölmüş ve

⇒ Süzöntüden 5 ml alınmıştır.

⇒ 10 ml Na<sub>4</sub>CO<sub>3</sub> + Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> çözeltisinden ilave edilerek

⇒ İyice karıştırılmıştır.

⇒ 3 ml folin çözeltisi (Folin cioucoltose) ilave edildikten sonra

⇒ 4500 devir/dakika'da 20 dakika santrifüj edilmiştir.

⇒ Spektrofotometrede transmittans "100" ve absorbans "0" ayarları yapılmıştır.

- ⇒ 650 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır.
- ⇒ Uygun aralıktaki tirozin standartları hazırlanmış ve regresyon denklemi yardımı ile tirozin miktarları ppm cinsinden hesaplanmıştır.

### 3.2.1.3. Aroma Maddeleri (Görner ve ark., 1968; Yaygın, 1979)

Gaz Kromatografisi (Carlo Erba Strumentazione, Series:2350, Dolgulu kolon tip)'nde Head Space Yöntemi ile aroma maddeleri belirlenmiştir. Analiz şu şekilde uygulanmıştır:

- ⇒ Yağsız süttozundan hazırlanan ve %12 kurumadde içeren steril sütlere her kültürden 1'er gr aşılansmış,
- ⇒ Uygun sıcaklıkta 16 saat inkübe edildikten sonra buzdolabına alınmışlardır.
- ⇒ Soğuyan kültürlerin her birinden, cam bilye ile hacimleri eşitlenen 25 ml'lik erlenmayerler içerisine 5'er gr tartılmıştır.
- ⇒ Susuz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'tan 6'şar gr katıldıktan sonra ağızları 4 kat parafilm ile kapatılmış ve 60°C' deki su banyosuna konmuştur.
- ⇒ 15 dakika süre ile ara sıra karıştırılarak aroma maddelerinin buharlaşması sağlanmıştır.
- ⇒ Daha sonra erlenmayerlerden enjektör ile 5 ml gaz alınmış ve gaz kromatografina enjekte edilerek değerler elde edilmiştir.
- ⇒ 5, 10, 15, 25, 50, 100, 200 ppm' lik standart çözeltiler kullanılarak pikler ve alan değerleri okunmuştur.
- ⇒ Daha sonra bunlardan yararlanılarak en küçük kareler yöntemine göre çizilen eğri yardımıyla, her kültürün meydana getirdiği aroma maddeleri (asetaldehit, etil alkol, diasetil) ppm olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.1.4. Antibakteriyel Etkinlik (Yazıcıoğlu ve Yılmaz, 1966; Shahani, Vakil, Kilara, 1976; Kılıç, 1986; Arslan ve Kılıç, 2003).

Disk-Diffüzyon yöntemi kullanılmıştır. Analiz şu şekilde uygulanmıştır:

- ⇒ Patojen test mikroorganizmaları 5x10<sup>8</sup> cfu / ml oluncaya kadar aktifleştirilmiştir. Bunun için test mikroorganizmalarının her biri %1 oranında sterilize edilmiş Triphose Soy Broth'ta geliştirilmiştir.
- ⇒ Aktifleştirilen her bir kültür analiz için steril süte % 3 oranında aşılansmış, 3 saat inkübasyon sonunda (yaklaşık pH değeri 4,70 olduğunda) soğukta bir gece

- bekletilmiştir (Kültürlerdeki hücre sayısının da en az test bakteri sayıları kadar olması gerekmektedir).
- ⇒ Sterilize edilmiş cam petri kabına steril pipetle 1 ml test mikroorganizması (patojen) alınmış ve
- ⇒ Üzerine Triptoz Yeast Extract Agar (TYEA) döküldükten sonra 37°C' ye ayarlanmış olan etüvde 1 saat süre ile inkübe edilmiştir.
- ⇒ Daha sonra petrilere etüvden çıkarılmış ve steril koşullarda, daha önceden sterilize edilmiş 6,25 mm çaplı her bir filtre kağıdı kültür sıvısına daldırılmış,
- ⇒ Fazla sıvı alındıktan sonra her bir test mikroorganizması ile aşılama besiyerinin yüzeyine bu diskler yerleştirilmiştir.
- ⇒ Bu işlem 8 test mikroorganizması üzerinde, 10 kültür örneğinin her biri için ayrı ayrı yapılmıştır.
- ⇒ Aşılama petri kapları daha sonra 37°C' de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.
- ⇒ İnkübasyon süresi sonunda oluşan zonlar kontrol edilmiştir.

#### *Değerlendirme:*

Disklerin çevresinde oluşan saydam inhibisyon zonları ölçülmüştür. Buna göre; saydam zon çapı: 25–20 mm ise (++++) çok kuvvetli inhibisyon, 18–15 mm ise (++++) kuvvetli, 15–12 mm ise (++) orta inhibisyon, 11–9 mm ise (+) zayıf inhibisyon olarak değerlendirilmiştir.

### *3.2.2. Mikrobiyolojik Özellikler*

#### *3.2.2.1. Kültür Bakterilerinin Sayısı ve Birbirine Oranı*

*3.2.2.1.1. Katı Besiyerinde Sayım (Lee, Vedamuthu, Vahsam, Reinbold, 1975; Atlas, 1995).*

- 65,3 gr LS Differential Medium besiyeri (*Fluka / 17153*) tartılmıştır. Üzerine 890 ml saf su ilave edilerek karıştırılmış ve 65°C' lik su banyosunda eritilmiştir.
- Karışıma, 10 ml içerisinde 0,2 gr tartılarak filtre ile sterilize edilmiş olan T.T.C. (2,3,5 triphenyl tetrazolium chlorur) çözeltisi ilave edilmiştir.
- Daha sonra 10 gr yağsız süttozu tartılarak 90 ml saf su içerisinde eritilmiş ve 121°C' de 10 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir.



Hazırlanan a,b,c çözeltileri karıştırılmış ve pH'sı  $7,00 \pm 0,2$ 'ye ( $25^{\circ}\text{C}$ ) ayarlandıktan sonra  $121^{\circ}\text{C}$ ' de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Daha sonra kültürler  $10^{-8}$ 'e kadar ringer çözeltisi ile seyreltilerek  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ' lik seyreltme sıvılarından petri kaplarına paralel ekim yapılmıştır. Petri kutuları  $42^{\circ}\text{C}$ ' de 3 gün süreyle inkübasyonda bırakılmış ve daha sonra sayım yapılmıştır.

#### 3.2.2.1.2. Kültür Bakterilerinin Oranının Belirlenmesi

Kültürlerden hazırlanan preparatlar ışık-mikroskopunda direkt mikroskopik sayım yapılarak ve petri kutularında gelişen koloniler sayılarak bakteriler arasındaki oran belirlenmiştir (Halkman, 1983; Kılıç, 1986).

#### 3.2.2.2. Kültürdeki Yabancı Mikroorganizmaların Belirlenmesi

##### 3.2.2.2.1. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayımı

22,5 gr PCA besiyeri (Merck / 05463) tartılarak 1 litre saf su içerisinde eritilmiştir. Karışım  $65^{\circ}\text{C}$ ' lik su banyosunda eritildikten sonra pH' sı  $7,00 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmıştır. Daha sonra besiyeri  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dk. otoklavda sterilize edilmiştir. Örnekler;  $10^{-1}$  ve  $10^{-2}$ ' ye seyreltilerek ekim yapılmıştır. Besiyerinin inkübasyonu;  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 3 gün olarak uygulanmıştır.

##### 3.2.2.2.2. Koliform bakteriler

39,5 gr VRBA besiyeri (Merck / 01406) tartılarak 1 litre saf su içerisinde eritilmiştir. Karışım  $90^{\circ}\text{C}$ 'lik su banyosunda eritildikten sonra pH' sı  $7,40 \pm 0,2$ ' ye ( $25^{\circ}\text{C}$ ) ayarlanmıştır. Daha sonra su banyosunda, besiyeri kaynamaya başladıktan itibaren 2 dakika daha ısı işlem uygulanmış ve sonra  $45^{\circ}\text{C}$ ' ye kadar soğutulmuştur. Önceden örneklerin  $10^{-1}$  ve  $10^{-2}$ ' ye seyreltilerek ekim yapıldığı petri kutularına steril koşullarda,  $45^{\circ}\text{C}$ ' ye soğutulan besiyeri 15 ml kadar dökülmüştür. Petri kutuları  $37^{\circ}\text{C}$ ' de 24 saat süreyle inkübasyonda bırakılmıştır.

##### 3.2.2.2.3. Maya-Küf

39 gr PDA besiyeri (Merck / 10130) tartılarak 1 litre saf su içerisinde eritilmiştir. Karışım  $65^{\circ}\text{C}$ ' lik su banyosunda eritildikten sonra pH' sı  $5,60 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmıştır. Daha sonra besiyeri  $121^{\circ}\text{C}$ ' de 15 dk. otoklavda sterilize edilmiştir Kültür örnekleri  $10^{-1}$  ve  $10^{-2}$  'ye kadar ringer çözeltisi ile seyreltilmiş, steril petri kutularına her seyreltme derecesinden paralel ekim yapılmıştır.  $45^{\circ}\text{C}$ ' ye soğutulan besiyeri petri kutularına

döküldükten sonra donması beklenmiştir. Daha sonra 25°C’ de 5 gün süreyle inkübasyonda bırakılmış ve sürenin sonunda petriler kontrol edilmiştir.

### 3.2.2.3. Faj Kontrolü (Kılıç, 2001).

Asitlik kontrolü ile yapılmıştır.

#### Faj Filtratının Hazırlanması:

- ⇒ 10 gr kültür erlene tartılmış,
- ⇒ Üzerine %10’luk laktik asitten 5 ml ilave edilmiş ve karıştırılmıştır,
- ⇒ Pıhtı oluşumu gözlendikten sonra yaklaşık 5 dakika beklenmiştir,
- ⇒ Üzerine 1-2 damla kloroform damlatılarak bakterilerin ölümü sağlanmıştır,
- ⇒ Karışım 30 dakika süre ile 3500 devir/dakikada santrifüj edilmiş ve
- ⇒ Üzerine 0,1 M CaCl<sub>2</sub> çözeltisinden 1 – 2 damla damlatılmıştır,
- ⇒ Berrak filtrat por çapı 0,45 µ olan filtreden geçirilerek faj filtratı elde edilmiştir.

#### Asitlik Kontrolünün Yapılması:

- ⇒ Elde edilen faj filtratının bir kısmı 90°C’de 5 dakika su banyosunda tutulmuştur.
- ⇒ Bir kısmına ise ısısız işlem uygulanmamıştır.
- ⇒ Kontrol (1.tüp), İnhibitör madde (2.tüp) ve Faj (3.tüp) kontrolü için 3 adet deney tüpüne 9’ar ml steril süt konulmuştur.
- ⇒ Her bir tüpe 0,1’er ml aktif saf bakteri ilave edilmiştir.
- ⇒ İnhibitör madde aranması için tüplerden birine, 90°C’ de 5 dakika süreyle su banyosunda tutulan faj filtratından 1 ml ilave edilmiştir.
- ⇒ Faj kontrolü için ayrılan tüpe, ısısız işlem görmeyen steril faj filtratından 1 ml ilave edilmiştir.
- ⇒ Hazırlanan 3 deney tüpü iyice karıştırıldıktan sonra,
- ⇒ Tüpler 30°C’ lik etüvde 1 saat süreyle bekletilmiş,
- ⇒ Ardından 37°C’ lik etüvde 5 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.
- ⇒ 6. saat sonunda 3 tüpteki pH değişimi kontrol edilmiştir.

#### Sonucun Değerlendirilmesi:

- 3. tüpün pH’sı, 1. ve 2. tüpün pH’ sından 0,1 birim büyük yada 2. tüpün pH’ sına eşit ise; steril filtratta “faj” vardır.

- 2. ve 3. tüpün pH' sı, 1. tüpün pH' sından büyük ise; "inhibitör madde"nin varlığından söz edilir.

### 3.2.3. Duyusal Kontrol

Daha önceden aktifleştirilen her bir kültürden yapılan yoğurt örnekleri bir gece buzdolabı koşulunda dinlendirilmiştir. Duyusal test için 6 kişiden oluşan panelistler tarafından duyusal özellikler değerlendirilmiştir. Değerlendirme parametreleri ve karşılık gelen puanlar izelge 3' te görülmektedir. (Uysal, H., Kmık, ., Kavas, G., 2004).

**Çizelge 3. Yoğurtların Duyusal Muayene Değerlendirme Puanları**

<b>Yoğurtların Duyusal Muayene Değerlendirme Puanları (TS 1989)</b>		
<b>DIŞ GÖRÜNÜŞ</b>	5 puan	Parlak, süt renginde, serum ayrılması olmamış, çatlak ve gaz kabarcığı bulunmayan temiz, homojen.
	4 puan	Süt renginde, serum ayrılması olmamış, çatlak ve gaz kabarcığı bulunmayan.
	3 puan	Mat, az sayıda çatlak bulunan, çok az serum ayrılması olmuş, temiz.
	1-2 puan	Süt renginden farklı değişik meydana gelmesi, çok sayıda çatlak, gaz kabarcığı bulunan serumu ayrılmış, kirli.
<b>KIVAM (Kaşıқта)</b>	5 puan	Kaşıkla alınan kesitte dolgun kıvamda, düzgün yapıda, mütenacis, karıştırıldıktan sonra koyu bir akıcılık, serumu hemen ayrılmayan.
	4 puan	Alınan kesitte dolgun kıvamda, düzgün yapıda homojen, karıştırıldıktan sonra koyu bir akıcılık, serumu az ayrılan.
	3 puan	Alınan kesitte akıcılığı az, hafif pütürlü yapıda karıştırıldıktan sonra akıcı ve serumu ayrılan.
	1-2 puan	Alınan kesitte çok akıcı homojen olmayan ve pütürlü, karıştırıldıktan sonra çok akıcı hemen ve fazla miktarda serumu ayrılan, dipte tortu bulunduran.
<b>KIVAM (Ağızda)</b>	5 puan	Dille damak arasında kolay dağılmayan, dolgun yapıda, homojen.
	4 puan	Dille damak arasında az dağılan, homojen, dolgun yapıda.
	3 puan	Ağıza alındığında dağılan, hafif pütürlü.
	1-2 puan	Dille damak arasında tutulamayan, akıcı, homojen olmayan, pütürlü yapıda.
<b>KOKU</b>	4-5 puan	Kendine has hoş kokuda.
	3 puan	Kendine has olmayan veya yabancı koku ihtiva eden.
	1-2- puan	Kendine has olmayan, alkolümsü, yanık veya yabancı koku ihtiva eden.
<b>LEZZET</b>	5 puan	Kendine has hafif ekşimsi lezzette olan.
	4 puan	Hafif ekşimsi veya hafif tatlımsı.
	3 puan	Ekşimsi, hafif acımsı, hafif küfümsü, hafif sabunumsu yada hafif yanık lezzette olan ve benzeri yabancı lezzet içeren.
	1-2 puan	Aşırı derecede ekşimsi, acımsı, küfümsü, sabunumsu, yanık lezzette olan ve benzeri yabancı lezzet içeren.

### 3.2.4. İstatistik Analiz (SPSS Inc. Chicago, Illinois)

Araştırma on farklı uygulama (D, H, A, B, C, I, II, III, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub> kültürleri) ve iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Kültürlerin kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özelliklerinin birbirleri arasındaki önemini belirlemek amacıyla varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Bu amaçla SPSS versiyon 9,05 (SPSS INC. Chicago, Illinois) istatistik analiz paket programı kullanılmıştır. ANOVA sonucunda veriler Duncan çoklu

karşılaştırma testine göre  $p < 0,05$  düzeyinde test edilmiş ve parametrelerin önemli olup olmama durumları tespit edilmiştir (Kocabaş vd., 1998).

#### 4. Araştırma Bulguları ve Tartışma

Araştırma süresince yapılan denemelerde beş farklı firmaya ait on farklı liyofilize yoğurt kültürü kullanılmıştır. Kültürler yağsız süttozundan %12 kurumadde içeren ve sterilize edilen sütlere eşit oranda aşılanmış ve ardarda üç pasaj yapılarak aktifleştirilmiştir. Daha sonra kültür örneklerinde kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizler gerçekleştirilmiştir. Kültür örneklerine ait kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4 ve Çizelge 5’de topluca verilmiştir.

##### 4.1. Kültürlerde Tespit Edilen Titrasyon Asitliği (SH) Değeri

Çalışma süresince analizi yapılacak olan kültür örnekleri inkübasyondan sonra 1 gece buzdolabı koşullarında dinlendirilmiştir. Bu süre sonunda elde edilen titrasyon asitliği (SH) değerleri ortalama 42,95 olarak belirlenmiştir. Çizelge 4’den de görüleceği üzere en düşük titrasyon asitliği 37 SH ile D ve III kodlu örnekte, en yüksek titrasyon asitliği ise 50 SH ile S<sub>1</sub> örneğinde tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucuna göre, titrasyon asitliği (SH) bakımından örnekler arasındaki farklılığın önemsiz olduğu belirlenmiştir ( $p>0,05$ ).

Yaygın (1979), incelediği kültür örneklerinde SH cinsinden asitliği 25,1 - 51,5 arasında belirlemiştir. Bulgularımız Yaygın (1979)’ ın sonuçlarıyla kısmen uyum sağlamaktadır.

Çalışmada kullanılan kültürlerin titrasyon asitliğinin (SH) proteolitik aktivite ve aroma maddeleri interaksyonu incelendiğinde; bu etkileşimin istatistik analizi sonucunda önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ).

**Çizelge 4.** Kültür Örneklerine Ait pH ve SH Değerleri.

<b>KÜLTÜR</b>	<b>PH</b>	<b>SH</b>
<b>D</b>	4,300±0,160 <sup>bc</sup>	37,00±3,876 <sup>a</sup>
<b>H</b>	3,800±0,160 <sup>ab</sup>	45,00±3,876 <sup>a</sup>
<b>A</b>	4,375±0,160 <sup>c</sup>	42,50±3,876 <sup>a</sup>
<b>B</b>	4,410±0,160 <sup>c</sup>	42,50±3,876 <sup>a</sup>
<b>C</b>	4,405±0,160 <sup>c</sup>	40,00±3,876 <sup>a</sup>
<b>I</b>	4,100±0,160 <sup>abc</sup>	42,50±3,876 <sup>a</sup>
<b>II</b>	4,125±0,160 <sup>abc</sup>	47,50±3,876 <sup>a</sup>
<b>III</b>	4,350±0,160 <sup>c</sup>	37,00±3,876 <sup>a</sup>
<b>S<sub>1</sub></b>	3,725±0,160 <sup>a</sup>	50,00±3,876 <sup>a</sup>
<b>S<sub>2</sub></b>	3,650±0,160 <sup>a</sup>	45,50±3,876 <sup>a</sup>

(a,b,c): Aynı satır ve sütündeki harflerle gösterilen değerler  $p<0,05$  düzeyinde birbirinden farklıdır

#### 4.2. Kùltùrlerde Belirlenen pH Değeri

Çalışmada incelemeye alınan 10 adet liyofilize yoğurt kùltürüne ait belirlenen ortalama pH değerleri Çizelge 4’de verilmiştir. Çizelgeden görùleceęi üzere en düşük pH değerine (3,65) S<sub>2</sub> örneğinde, en yüksek pH değerine (4,41) ise B örneğinde tespit edilmiştir. Denemelerde ortalama pH değeri  $4,124 \pm 0,50$  olarak belirlenmiştir. Aynı firmaya ait 3 farklı yoğurt kùltürü incelendiğinde; aynı inkübasyon süresi ve sıcaklıklarında, kùltürlere ait elde edilen pH değerleri farklılık göstermiştir. Örneğin A kùltürünün pH değeri ortalama 4,37 iken; B kùltüründe 4,41, C kùltüründe ise 4,40 olarak belirlenmiştir. Yine aynı şekilde I no’lu kùltürün pH değeri 4,10 olarak ölçülürken, II no’lu kùltürün 4,12, III no’lu kùltürün ise 4,35 olarak belirlenmiş ve birbirinden farklı olduğu ortaya konmuştur. Yapılan istatistik analize göre, örnekler arasındaki pH değerlerinin farklılığının önemli olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ).

Yaygın (1979), kùltür örneklerinde ortalama olarak pH’ yı 4,41; en yüksek değeri 5,20; en düşük değeri de 3,50 olarak belirlemiştir.

İncelenen kùltür örneklerinin pH değerlerinin, proteolitik aktivite ve aroma oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde; karşılılı etkileşimin istatistiki olarak önemli olmadığı görülmüştür ( $p > 0,05$ ).

#### 4.3. Kùltürlerde Belirlenen Proteoliz Değerleri (Tirozin Ekvivalent Değeri)

Denemeler sonucunda spektrofotometre cihazında elde edilen değerlerde yapılan gerekli hesaplamalar sonucunda kùltürlerde ortalama olarak 73,71 ppm düzeyinde tirozin belirlenmiştir. Bu ortalama yı sağlayan değerler arasında saptanan en küçük tirozin değeri 26,82 ppm (III kùltürü), en yüksek tirozin değeri ise 88,75 ppm (H kùltürü) olarak belirlenmiştir. Uygun konsantrasyonlarda hazırlanan tirozin standart çözeltileri hazırlanmış ve spektrofotometrede absorbans değerleri okunmuştur. Microsoft Excel programı ile regresyon eğrisi ve denklemi hesaplanmıştır. Bu denklem yardımıyla, örneklerdeki tirozin miktarları belirlenmiştir. Regresyon eğrisi ve denklemi şekil 5’ te verilmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucunda saptanan tirozin değerleri bakımından örnekler arasındaki farklılığının önemli olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ).

**Çizelge 5.** Kültür Örneklerine Ait Tirozin ve Aroma Maddeleri Miktarları (ppm).

<b>KÜLTÜR</b>	<b>Tirozin</b>	<b>Aroma Maddeleri</b>	
		<b>Asetaldehit</b>	<b>Etil Alkol</b>
<b>D</b>	68,90±9,434 <sup>b</sup>	36,115±0,011 <sup>g</sup>	18,980±0,010 <sup>g</sup>
<b>H</b>	88,75±9,434 <sup>b</sup>	54,025±0,011 <sup>j</sup>	7,230±0,010 <sup>b</sup>
<b>A</b>	83,70±9,434 <sup>b</sup>	21,915±0,011 <sup>d</sup>	1,750±0,010 <sup>a</sup>
<b>B</b>	85,00±9,434 <sup>b</sup>	27,815±0,011 <sup>f</sup>	10,750±0,010 <sup>d</sup>
<b>C</b>	71,00±9,434 <sup>b</sup>	21,585±0,011 <sup>c</sup>	9,660±0,010 <sup>c</sup>
<b>I</b>	82,65±9,434 <sup>b</sup>	51,225±0,011 <sup>i</sup>	20,150±0,010 <sup>h</sup>
<b>II</b>	86,35±9,434 <sup>b</sup>	49,705±0,011 <sup>h</sup>	18,480±0,010 <sup>f</sup>
<b>III</b>	26,85±9,434 <sup>a</sup>	16,865±0,011 <sup>b</sup>	17,005±0,010 <sup>e</sup>
<b>S<sub>1</sub></b>	72,10±9,434 <sup>b</sup>	7,120±0,011 <sup>a</sup>	23,010±0,010 <sup>i</sup>
<b>S<sub>2</sub></b>	71,80±9,434 <sup>b</sup>	26,910±0,011 <sup>e</sup>	26,380±0,010 <sup>j</sup>

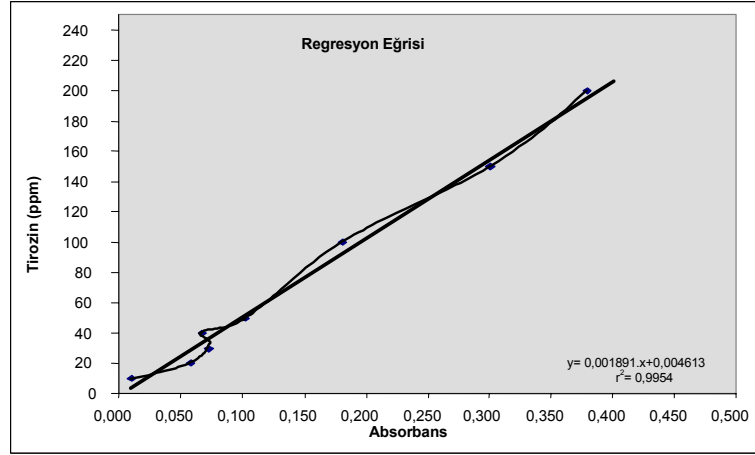
(a,b,c,d,e,f,g,h,i,j): Aynı satır ve sütundaki harflerle gösterilen değerler p<0,05 düzeyinde birbirinden farklıdır

Hadi (1982), izole ederek tanımını yaptığı 18 adet *Lb. bulgaricus* suşuna ait proteolitik aktivite değerlerini 0,13 – 0,79 mg tirozin/ml olarak tespit etmiştir. Araştırmacı, Laktobasillerin daha yüksek aktivite gösterdiklerini ve daha yüksek düzeyde laktik asit oluşturduklarını belirlemiştir.

Asperger (1973), tirozin aminoasidi ile aroma oluşumu arasında bir ilişkinin olduğunu, tirozin içeriğinin 0,05 mg/ml – 0,100 mg/ml olması durumunda yoğurtlara aroma yönünden tam puan verildiğini bildirmiştir. Yoğurt örneklerinde 0,125 mg/ml ve yukarı değerlerde tirozin aminoasidi belirlenmesi durumunda acı tadın oluşmaya başladığı belirtilmiştir. Bu noktadan hareket ederek, bakteri tür ve suşları ile yoğurtlardaki proteolitik aktivite seviyesinin HULL Yöntemi'ne göre, tirozin ekivalenti üzerinden saptanması önerilmiştir.

Araştırmada kullanılan yoğurt kültürlerinin de Asperger (1973)'i doğrular nitelikte, 68,90 – 88,75 ppm (0,068 – 0,088 mg/ml) düzeyinde tirozin içerdikleri saptanmıştır.





**Şekil 5.** Tirozin değerlerinin hesaplanmasında kullanılan regresyon denklemi ve eğrisi.

Çalışmada kullanılan kültürlerin tirozin miktarları incelendiğinde; örnekler arasındaki farkın istatistik analize göre önemli olmadığı bulunmuştur ( $p > 0,05$ ).

#### 4.4. Kültürlerde Belirlenen Aroma Maddeleri

Aroma maddelerinin belirlenmesinde kullanılan gaz kromatografisinde elde edilen pikler ve değerlere ilişkin gerekli hesaplamalar yapıldığında;

10 adet yoğurt kültürü örneğine ait ortalama asetaldehit miktarının 31,34 ppm düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Burada elde edilen en düşük asetaldehit miktarının 7,13 ppm ( $S_1$  kültürü), en yüksek değer ise 54,05 ppm (H kültürü) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5). Yapılan varyans analizine göre, örnekler arasındaki asetaldehit miktarları değişiminin istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ).

Rasic ve Kurmann (1978), kaliteli bir yoğurtta asetaldehit miktarının 23 – 40 ppm arasında olması gerektiğini bildirmişlerdir. Yaygın (1980), izole ettiği yoğurt bakterileri ile hazırladığı kültürlerde asetaldehiti 5 - 34,5 ppm olarak belirlemiştir. Araştırmacı yoğurt kültüründe en önemli aroma maddesinin asetaldehit olduğunu tesbit etmiştir. Bu durum her iki bakteri suşlarının asetaldehit üretme bakımından büyük farklılıklar gösterdiğini ortaya çıkarmaktadır. Aslında asetaldehit yoğurdun karakteristik aroma maddesi olarak kabul edilmektedir. Robinson, Tamime ve Chubb (1977), yoğurdun doğal tat ve aroması ile içerdiği asetaldehit arasında bir korelasyonun bulunduğunu ve bu nedenle yoğurttaki asetaldehit miktarının kalite faktörü olarak kabul edilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Görner ve ark. (1968), asitlik artışı ile kültürdeki asetaldehit arasında bir ilişkinin olduğunu, asitlik arttıkça asetaldehit miktarının fazlaştığını açıklamışlardır. Bottazzi

ve ark. (1973), pH: 4,00' e kadar kültürlerde asetaldehit miktarının fazlaştığını açıklamışlardır. Vanderpoorten ve Waes (1972), yaptıkları çalışmada üç saatlik inkübasyondan sonra üç farklı yoğurt kültüründe asetaldehiti 13 – 15 ppm arasında, Görner ve ark. (1968), aynı koşullarda inceledikleri yoğurt kültürlerinde 15,4 – 41 ppm olarak belirlediklerini açıklamışlardır. Çalışmada 10 adet yoğurt kültüründe belirlenen asetaldehit değerleri diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırıldığında Görner ve ark. (1968)'nin asetaldehit değerleri ile uyum gösterdiği ortaya çıkmıştır.

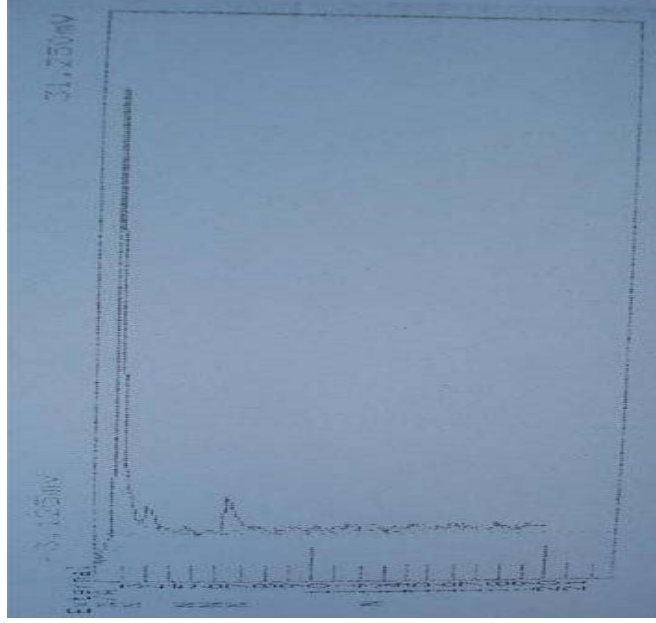
Robinson ve ark. (1977), da en iyi yoğurdun 27,6 ppm asetaldehit içerdiğini ortaya koymuşlardır. Rasic ve Kurmann (1978), normal yoğurtlarda asetaldehit miktarının 23 – 41 ppm arasında olmasını bildirirken, İnkübasyon süresinin de 3 saatten az olmaması gerektiğine dikkati çekmişlerdir. Halkman (1983), asetaldehit miktarını liyofilize kültürlerle yaptığı yoğurtlarda 13,31 - 46,86 ppm arasında saptamıştır.

Kılıç (1986), 6 farklı yoğurt kültüründe ortalama asetaldehit miktarlarını; 28,99 ppm, 23,61 ppm, 33,91 ppm, 29,49 ppm, 23,20 ppm, 29,48 ppm olarak tespit etmiştir. Çalışmada asetaldehit miktarları Çizelge 5' ten görüleceği üzere; A, B, C, III, S<sub>1</sub> ve S<sub>2</sub> kültürlerinin asetaldehit miktarları Kılıç (1986)' yı destekler niteliktedir.

Çalışmada incelenen kültürler arasında belirlenen ortalama etil alkol miktarı ise 15,35 ppm düzeyinde bulunmuştur. Hesaplanan miktarlar arasındaki en düşük etil alkol miktarı 1,76 ppm bulunurken, en yüksek etil alkol değeri 26,39 ppm olarak saptanmıştır. Yapılan istatistik analizine göre, etil alkol miktarları bakımından örnekler arasındaki farklılığının önemli olduğu belirlenmiştir (p<0,05).

Yaygın (1979), izole ettiği yoğurt bakterileriyle oluşturduğu 48 kültürden 41' inde etil alkol belirlemiştir. Ancak çalışmada etil alkol ile ilgili miktar olarak herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.

Çalışmada gaz kromatografisi yöntemiyle aroma maddesi araştırılan 10 farklı yoğurt kültürü örneğinden ancak bir tanesinde (H kültürü) 0,25 ppm düzeyinde diasetil belirlenmiştir. Yaygın (1979), hazırladığı 48 adet yoğurt örneğinde diasetil miktarını şöyle bulmuştur: 27 adet kültür örneğinde 2,00 - 12,5 ppm arasında, 10 adet örnekte iz miktarda, 11 adet örnekte ise diasetil belirleyememiştir.



**Resim 2.** Gaz kromatografisinde aroma maddelerinin oluşturduğu pikler.

Diasetil miktarı bakımından örneklerimizde belirlenen değer Yaygın (1979)'ınkinden oldukça düşük bulunmuştur.

Araştırma materyalini oluşturan kültürlerin asetaldehit ve etil alkol miktarları arasındaki farkın yapılan istatistik analize göre önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ).

#### 4.5. *Kültürlerde Antibakteriyel Etkinlik*

Çalışmanın materyalini oluşturan liyofilize yoğurt kültürlerinin antibakteriyel etkinliği sekiz adet patojen özellikte test mikroorganizması üzerinde denenmiştir. Yapılan analiz sonucunda Çizelge 6'dan görüleceği üzere; kültürlerin hepsinin *Escherichia coli* test mikroorganizmasına karşı diğer patojen test kültürlerine oranla daha yüksek seviyede antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Yapılan değerlendirmeye göre bu etki orta düzeyde bulunmuştur. Ayrıca S<sub>1</sub> kodlu kültürün *Listeria monocytogenes* test mikroorganizmasına karşı orta düzeyde antibakteriyel etkinliği tespit edilirken; A, B, C, D ve H kültürlerinin bu bakteriye karşı zayıf düzeyde antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Buna benzer şekilde Çizelge 6'da detaylı olarak gösterildiği üzere bazı patojen test mikroorganizmalarına karşı, kullanılan kültürlerin zayıf ya da orta düzeyde antibakteriyel etkinliği ortaya konulmuştur. Buna karşılık kültürlerin hiçbirisi *Bacillus cereus* üzerinde herhangi bir antibakteriyel etkinlik göstermemiştir. İncelenen H örneğinin ise, 8 test mikroorganizmasından 6'sına karşı zayıf ya da orta düzeyde antibakteriyel etkisinin bulunduğu tespit edilmiştir. D kültürü

*Escherichia coli*' ye karşı orta düzeyde antibakteriyel etki gösterirken, *Listeria monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica* test bakterisine karşı zayıf bir etkisi saptanmıştır. S<sub>2</sub> kültürünün *Escherichia coli*' ye orta düzeyde *Enterococcus faecalis* test bakterisine karşı da zayıf düzeyde antibakteriyel etkinliği belirlenmiştir. *Yersinia enterocolitica* patojen test bakterisi üzerine; A, C, D ve H kültürlerinin zayıf antibakteriyel etkinlikleri tespit edilmiştir.

Resim 3' ten de görüleceği üzere, kültürlerin test bakterileri üzerinde oluşturdukları zon çapları incelendiğinde antibakteriyel etkinin orta düzeyde yada zayıf derecede olduğu anlaşılmıştır. Örneğin; 5 numaralı kültürün (III kültürü), 6 no' lu (*Staphylococcus aureus*) test mikroorganizmasına karşı oluşturduğu zon diğerlerine oranla Resim 3 (b)'de oldukça net olarak görülmektedir. Yine Çizelge 6' ya göre H kültürünün de aynı patojen bakteriye karşı zayıf etkisi söz konusudur. Aynı resimde 1 no' lu kültürün (S<sub>1</sub> kültürü), *Staphylococcus aureus*' a karşı antibakteriyel etkinliğinin olmadığı görülmektedir. Resim 3 (a)'da görüldüğü üzere A, B, C, D ve H kültürlerinin (6, 7, 8, 9, 10 kodları ile belirtilen) *E. coli* test bakterisine karşı orta düzeyde antibakteriyel etki oluşturduğu görülmektedir. Ayrıca Çizelge 6' dan incelenen kültürlerin hepsinin *E. coli*' ye karşı aynı etkiye sahip oldukları görülmektedir.

**Çizelge 6.** Yoğurt Kültürlerinin Bazı Patojen Test Bakterilerine Karşı Oluşturdukları Antibakteriyel Etkinlikler

Patojen Test Bakterileri	YOĞURT KÜLTÜRLERİ									
	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	I	II	III	A	B	C	D	H
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>Escherichia coli</i>	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Listeria monocytogenes</i>	++	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	++	-	-	+	-	-	-	++
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	+	+	+	+	++	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

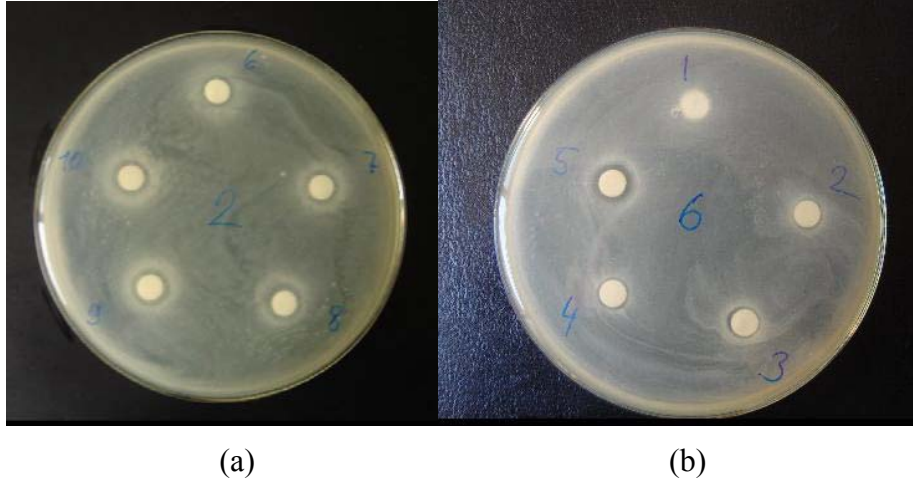
**Değerlendirme:**

(++): Antibakteriyel etkinlik orta düzeyde (zon çapı: 15-12 mm).

(+) : Antibakteriyel etkinlik zayıf (zon çapı: 11-9 mm).

(-) : Antibakteriyel etkinlik yok (zon yok).

Ayrıca süt teknolojisi açısından oldukça önemli olan ve psikrotrof bir bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa* test bakterisine karşı I ve H kültürlerinin orta düzeyde etkisi gözlenirken, A kültürü zayıf bir antibakteriyel etki göstermiştir (Çizelge 6). Diğer bir psikrotrof bakteri olan *Listeria monocytogenes* üzerinde S<sub>1</sub> kültürü orta düzeyde; A, B, C ve D kültürlerinin de zayıf derecede antibakteriyel etkileri tespit edilmiştir.



**Resim 3.** Kültürlerin Antibakteriyel Etkinliği

Danon ve arkadaşları (1963), antibakteriyel etkinin bakterilerin oluşturduğu laktik asitten ileri geldiğini ve Salmonella, Coliform, Staphylococ, Pseudomonas gibi test mikroorganizmi üzerinde etkili olduğunu saptamışlardır. Pamir (1965), Yazıcıoğlu ve Yılmaz (1966), bakterilerin antibakteriyel etkinliklerinin oluşturdukları laktik asitten ileri geldiğini belirlemişlerdir. Arslan (2002), Arslan ve Kılıç (2003) ise antibakteriyel etkinliğin bakterilerin oluşturduğu laktik asitten çok bakteriyosinlerinden ileri geldiğini belirlemişlerdir.

Mel'nikova ve Koroleva (1975), *Str. thermophilus*' un *E. coli* ile Salmonella ve Pseudomonas türleri üzerindeki antibakteriyel etkilerinin kanıtlandığı fakat *Lb. bulgaricus*' un etkinliğinin daha fazla olduğunu açıklamışlardır. Bu etkinin araştırmacıların da belirttikleri gibi *Lb. bulgaricus*' un daha fazla laktik asit üretme özelliğinden ileri geldiği düşünülebilir.

Pulusani ve ark. (1979), *Str. thermophilus*' un; Shigella, Salmonella, *E. coli* ve Pseudomonas' lara etkili olan bir antibakteriyel madde ürettiğini saptamışlardır.

Kılıç (1990), 12 adet *Lb. bulgaricus* suşunun *Bacillus cereus* kültürü üzerinde zayıf bir antibakteriyel etkisini saptamıştır.

Arslan ve Kılıç (2003), *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* tür ve suşlarını morfolojik ve biyokimyasal testlerle tanımlamışlar ve bunların *Listeria monocytogenes*, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli* 0157:H7 ve *Staphylococcus aureus* üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerini agar-disk diffüzyon yöntemiyle belirlemişlerdir. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen denemelerde incelenen 10 adet yoğurt kültürü örneğinin hiç birisinin *Bacillus cereus* patojenine karşı antibakteriyel etki saptanamamıştır.

Yapılan çalışmada da yukarıdaki bilgileri destekler nitelikte; kullanılan tüm yoğurt kültürleri *E. coli* test mikroorganizmasına karşı orta düzeyde antibakteriyel etki göstermişlerdir. Diğer test bakterilerinden bir kısmına karşı az etkileri, bir kısmına da hiçbir antibakteriyel etkileri saptanamamıştır. Ayrıca D kültürünün Çizelge 7' den görüldüğü üzere *Lb. bulgaricus* bakterisine sayıca en fazla sahip olduğu halde antibakteriyel etkisinin çok da fazla olmadığı Çizelge 6'dan görülmektedir. Bunun nedeni bakterinin dejenerasyona uğrayarak yapısının ve formunun bozulması olabilir (Resim 5). Dolayısıyla bu bakterinin yoğurt yapımına uygun olmadığını ve aktivitesinin düşük olduğunu gösterir.

#### 4.6. Kültürlerin Mikrobiyolojik Özellikleri

##### 4.6.1. *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* Bakterilerinin Canlılığı ve Sayımı

Yoğurt bakterilerinin sayımında LS Differential Medium besiyeri (Ek'te verilmiştir) kullanılmıştır. Bu besiyerinin tercih edilmesinin sebebi, her iki bakterinin sayımı için uygun olmasıdır. Uygun seyreltmelerde aynı anda iki bakteriye ait koloniler sayılabilmektedir.

Gerçekleştirilen mikrobiyolojik ekimler sonucu yoğurt kültürlerine ilişkin elde edilen sayım sonuçları Çizelge 7'de verilmiştir. Çizelge 7'nin izlenmesi ile görüleceği üzere en fazla *Lb. bulgaricus* sayısı D örneğinde saptanırken ( $2,75 \cdot 10^9$  adet/ml), en düşük sayı ise I no'lu örnekte ( $2,10 \cdot 10^8$  adet/ml) tespit edilmiştir. *Str. thermophilus* sayılarına bakıldığında, en az *Str. thermophilus* B örneğinde ( $1,44 \cdot 10^9$  adet/ml), en çok da III örneğinde ( $14,20 \cdot 10^9$  adet/ml) sayılmıştır. 10 adet yoğurt kültüründe yapılan sayımlarda, ortalama *Lb. bulgaricus* sayısı  $1,04 \cdot 10^9$  adet/ml, *Str. thermophilus* sayısı  $4,01 \cdot 10^9$  adet/ml belirlenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde mililitredeki bakteri sayısının ortalama olarak  $5,05 \cdot 10^9$  adet düzeyinde olduğu görülmüştür.

Bu sayı, liyofilize yoğurt kültürleri açısından oldukça düşük bulunmuştur. Hâlbuki materyal olarak kullanılan yoğurt kültürlerinin hepsi direk olarak kullanılması gereken kültürlerdir. Durum böyle olmasına rağmen incelenen kültür örneklerinde bu sayı olması gereken en düşük  $10^{11}$  adet/ml düzeyinden oldukça düşük sayıda tespit edilmiştir. Genelde süt, % 2-3 oranında kültürle aşılandıktan sonra 42 – 44°C inkübasyon sıcaklığında maksimum 3 saat içerisinde yoğurda dönüşür. Ancak birçok işletmede incelenen kültürlerin kullanımıyla en erken 5 saat içerisinde yoğurt üretilebildiği tespit edilmiştir.

Kılıç (1986), izole ettiği yoğurt bakterileriyle hazırladığı normal liyofilize kültürden yaptığı yoğurtlarda *Lb. bulgaricus* sayısını ortalama  $2,892.10^9$  adet/g, *Str. thermophilus* sayısını ortalama olarak  $2,646.10^9$  adet/g tespit etmiştir. Buna göre çalışmada incelenen kültürlerin liyofilize olduğu, direk kullanılabilmesi için konsantre olması,  $10^{11}$  -  $10^{12}$  adet/ml bakteri bulundurması gerekir.

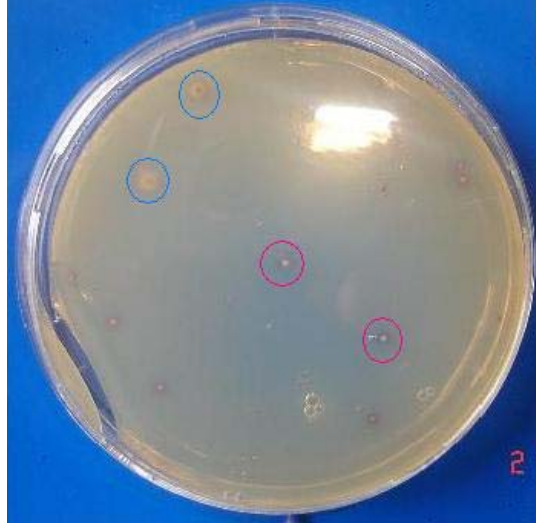
**Çizelge 7. Yoğurt Bakterilerinin Sayısı**

KÜLTÜR	<i>Lb. bulgaricus</i> Sayısı		<i>Str. thermophilus</i> Sayısı	
	(adet/ml)	(log <sub>10</sub> )	(adet/ml)	(log <sub>10</sub> )
D	$2,75.10^9$	$9,435^f \pm 0,003$	$2,41.10^9$	$9,381^d \pm 0,02$
H	$1,75.10^9$	$9,242^i \pm 0,003$	$3,11.10^9$	$9,491^f \pm 0,02$
A	$3,20.10^8$	$8,503^b \pm 0,003$	$2,20.10^9$	$9,341^c \pm 0,02$
B	$6,70.10^8$	$8,823^e \pm 0,003$	$1,44.10^9$	$9,154^a \pm 0,02$
C	$4,60.10^8$	$8,661^d \pm 0,003$	$1,49.10^9$	$9,172^b \pm 0,02$
I	$2,10.10^8$	$8,321^a \pm 0,003$	$4,00.10^9$	$9,601^h \pm 0,02$
II	$1,71.10^9$	$9,231^h \pm 0,003$	$2,64.10^9$	$9,421^e \pm 0,02$
III	$1,02.10^9$	$9,004^i \pm 0,003$	$14,20.10^9$	$10,151^j \pm 0,02$
S <sub>1</sub>	$1,16.10^9$	$9,062^g \pm 0,003$	$4,74.10^9$	$9,673^i \pm 0,02$
S <sub>2</sub>	$3,50.10^8$	$8,542^c \pm 0,003$	$3,93.10^9$	$9,562^g \pm 0,02$
<b>Ortalama:</b>	<b><math>1,04.10^9</math></b>	<b><math>8,884 \pm 0,03</math></b>	<b><math>4,01.10^9</math></b>	<b><math>9,499 \pm 0,02</math></b>

(a,b,c,d,e,f,g,h,i,j): Aynı satır ve sütündeki harflerle gösterilen değerler  $p < 0,05$  düzeyinde birbirinden farklıdır

*Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterilerinin yapılan mikrobiyolojik ekim sonucunda besiyerindeki gelişmeleri sonucu oluşturdukları koloniler Resim 4'de görülmektedir. Resimde; mavi halka içine alınmış olan, büyük ve etrafında mat bir zon oluşturan koloniler *Lb. bulgaricus*' a ait, kırmızı halka içerisinde görülmekte olan küçük ve etrafı şeffaf zonla çevrili koloniler ise *Str. thermophilus*' a ait kolonilerdir.

**Resim 4.** *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* Kolonilerinin Besiyerinde Gelişimi



Çalışmada kullanılan yoğurt kültürlerine ilişkin yapılan istatistik analizi sonucunda, örnekler arasında *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* sayısı bakımından önemli farklılığın olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ).

#### 4.6.2. Kültür Bakterilerinin Birbirine Oranı

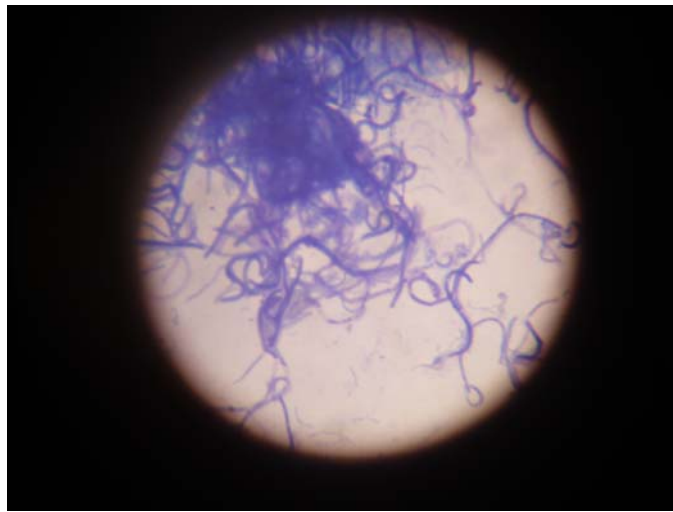
Çalışmada kullanılan 10 adet yoğurt kültürü hazırlanan steril süte aşılandıktan sonra 43 – 44 °C’ de inkübasyona bırakılmıştır. 4,70 pH değerine ulaşan örnekler hemen buzdolabına alınmış ve daha sonra yoğurt bakterilerinin sayımı için uygun besiyerine ekim yapılmıştır. Örneklerde sayılan toplam yoğurt bakteri  $4,92 \cdot 10^9$  adet/ml olarak tespit edilmiştir.  $1,52 \cdot 10^{10}$  adet/ml ile III örneğinde en yüksek değer elde edilirken, en düşük sayım  $4,35 \cdot 10^9$  adet/ml ile II kültüründe yapılmıştır.

Kılıç (1986), farklı orijinli liyofilize kültürlerde toplam yoğurt bakteri sayısını  $5,334 \cdot 10^9$  adet/g olarak hesaplamıştır. Bu sayı 6 farklı orijinli liyofilize kültürde sırasıyla;  $5,203 \cdot 10^9$  adet/g,  $4,114 \cdot 10^9$  adet/g,  $7,297 \cdot 10^9$  adet/g,  $5,208 \cdot 10^9$  adet/g,  $3,631 \cdot 10^9$  adet/g ve  $6,546 \cdot 10^9$  adet/g olarak belirlenmiştir. Araştırmacı kültürler arası sayıca farklılığın en önemli nedeninin liyofilizasyon işlemine bazı suşların dayanıksız olmalarıyla açıklamıştır. Halkman (1983), değişik faktörlerin, liyofilize kültürlerdeki bakterilerin canlılıkları üzerindeki etkisini incelemiş ve *Lb. bulgaricus*’ un liyofilizasyon koşullarında *Str. thermophilus*’ tan daha çok zarar gördüğünü ve ölüm oranının daha yüksek olduğunu, başka bir anlatımla daha az canlı bakteri kaldığını açıklamıştır. Yaptığı çalışmada % 6–36 arasında değişen oranlarda *Lb. bulgaricus*



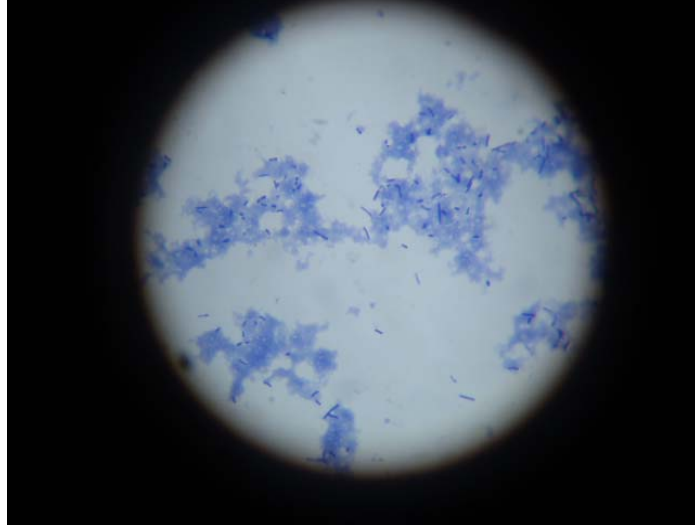
sayısında azalma olduğunu bildirmiştir. Nitekim yapılan çalışmada elde edilen bakteri türlerine ait sayımlar Halkman (1983)' in görüşlerini ve bulgularını doğrulamaktadır. Çizelge 7'de görüldüğü üzere *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* sayıları ve bunların oranlanması ile elde edilen değerler şu şekilde bulunmuştur (*Lb. bulgaricus* : *Str. thermophilus*); D kodlu kültürde 1,14 : 1; H kodlu kültürde 1 : 1,8; A kodlu kültürde 1 : 6,8; B kodlu kültürde 1 : 2,14; C kodlu kültürde 1 : 3,2; I kodlu kültürde 1 : 19; II kodlu kültürde 1 : 1,54; III kodlu kültürde 1 : 13,9; S<sub>1</sub> kodlu kültürde 1 : 4,08; S<sub>2</sub> kodlu kültürde ise 1 : 11,2' dir. Rasic ve Kurmann (1978), Yaygın (1999), kaliteli bir yoğurt üretimi için bakteriler arasındaki oranın 1 : 1 ve 2 : 3 olması gerektiğini bildirmişlerdir. Kılıç (1986), yaptığı çalışmalarda en kaliteli yoğurtların *Lb. bulgaricus* : *Str. thermophilus* oranı 1,2 : 0,8 veya 1 : 1 olduğunda elde edildiğini bildirmiştir. Kültürdeki tespit edilen mikroorganizma sayılarında meydana gelen farklılık inkübasyon sürelerinin de kültürler arasında farklılık göstermesine neden olmuştur. Aynı miktarda kültürle yapılan aşılmalarda farklı inkübasyon süreleri belirlenmiştir.

Bakterilerin canlılık ve aktiviteleri üzerinde bakteri tür ve suşlarının da etkin olduğunun Gavin (1968), Speckman ve ark. (1974), El-Sadek (1975), Yang ve Sandine (1974) tarafından bildirilmiş olması, bulgularımızı doğrulamaktadır. Ayrıca mikroskopik inceleme sırasında bakterilerin genel görünümünün de çok iyi olmadığı tespit edilmiştir. Resim 5' den de görüleceği üzere örnekte bulunan *Lb. bulgaricus* formunun bozuk olduğu ve bakterilerin deforme olduğu saptanmıştır.



**Resim 5.** Besiyerinden alınan *Lb. bulgaricus*' a ait koloni hücrelerinin mikroskop altındaki görüntüsü (x100).

Resim 6'da D kodlu kültürün mikroskopik görüntüsü verilmiştir. Görüntünün sayım sonuçlarıyla uyumlu olduğu düşünülebilir.



**Resim 6.** Yoğurt bakterilerinin mikroskop altındaki görüntüsü (x100).

#### *4.6.3. Kültürdeki Yabancı Mikroorganizmaların Belirlenmesi*

##### *4.6.3.1. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayımı*

Kültürler ile gerçekleştirilen mikrobiyolojik ekimlerde mezofil aerob bakterilere ait herhangi bir koloniye rastlanmamıştır. Rasic ve Kurmann (1978), Wegner (1981), Klupsch (1984), Kılıç (2001); kültürlerin başarılı olarak kullanılabilmesi için kültür bakterileri dışında hiçbir mikroorganizmanın bulunmaması gerektiğini bildirmişlerdir.

##### *4.6.3.2. Koliform Bakteri Sayımı*

Yapılan mikrobiyolojik ekim sonuçlarına göre hiçbir kültürde koloni tespit edilmemiştir. Dolayısıyla kullanılan kültürlerde herhangi bir koliform grubu mikroorganizmanın bulunmadığı ortaya çıkmıştır. Ayrıca bu sonuç gerçekleştirilen mikrobiyolojik ekimlerin steril koşullarda gerçekleştirildiğinin de bir göstergesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Rasic ve Kurmann (1978), Wegner (1981), Klupsch (1984); bu konuda yaptıkları çalışmalarda koliform bakteri grubunun kültürlerin duyuusal özellikleri kadar kimyasal özelliklerini de kötü yönde etkilediklerini ortaya koymuşlardır. Bilindiği gibi koliform grubu bakterilerin varlığı ortamda hijyen koşullarına uyulmadığının göstergesi kabul edilir.

#### 4.6.3.3. Maya-Küf Mikroorganizma Sayımı

Mayalar asit ortamı severler ve yoğurdun soğuk odada saklanması sırasında faaliyetlerine devam ederler. Alkol fermantasyonu yaptıkları için, saklama sırasında yoğurtta bir miktar etil alkol ve CO<sub>2</sub> oluştururlar. Bu durum, yoğurtta kısa zamanda istenmeyen bir tat ve yapı bozukluğuna neden olur. Yoğurt ve ayran kaplarında oluşan CO<sub>2</sub> ambalaj kaplarının şişmesine sebep olur, yoğurt kalitesini bozar. Bu nedenle kültürlerde söz konusu mikroorganizmaların kesinlikle bulunmaması gerekir (Rasic ve Kurmann, 1978; Wegner, 1981; Klupsch, 1984; Kılıç, 2001).

Yapılan mikrobiyolojik ekim sonuçlarına göre hiçbir kültürde maya ve küf kolonisi tespit edilmemiştir. Bu durum; kültürlerde herhangi bir maya yada küf mikroorganizması içermediğinin ve ayrıca gerçekleştirilen mikrobiyolojik ekimlerin herhangi bir bulaşma olmadan, steril koşullarda gerçekleştiğinin bir göstergesidir.

#### 4.7. Kültürlerde Faj Kontrolü

Bakteriyofaj, bakterilere saldırıp onları öldüren viral patojen ajanlardır. Canlı bakteri hücresi içine asalak gibi yerleşirler, çoğalırlar ve onu eriterek yok ederler (Akman, 1977; Yaygın ve Kılıç, 1980). Saf kültür kullanımının yaygın olduğu ülkelerde süt mamullerinin yapımı sırasında faj bulaşmalarına rastlanmış ve bunların işletme ve fabrikalarda önemli sorunlar yarattığı görülmüştür. Daha sonra konu üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır (Yaygın ve Kılıç, 1980).

Tunail, Demirtaş, Durlu-Özkaya, (2000); farklı büyüklükteki yoğurt işletmelerinde yaptıkları çalışmalarda zaman zaman faj sorunuyla karşılaşıldığını ve işletme için önemli ekonomik kayıpların meydana geldiğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar işletmede hijyen koşullarının kesin olarak yerine getirilmesinin yanısıra ithal edilen yoğurt kültürlerinin faj kontrollerinin kesinlikle yapılması gerektiğine dikkat çekmişlerdir.

**Çizelge 8. Kültürlerde Faj Kontrolü**

<b>Kültür Kodu:</b>	<b>1.Kontrol 2.Inhibitör Md. 3.Faj Kontrol</b>	<b>pH Değeri:</b>	<b><u>SONUC:</u></b>
A	A 1	3,60	> Faj olasılığı var.
	A 2	3,60	
	A 3	3,70	
B	B 1	3,65	> Temiz
	B 2	3,65	
	B 3	3,65	
C	C 1	3,70	> Faj olasılığı var.
	C 2	3,70	
	C 3	3,88	
I	I 1	3,70	> Temiz
	I 2	3,70	
	I 3	3,70	
II	II 1	3,70	> Temiz
	II 2	3,70	
	II 3	3,70	
III	III 1	3,70	> Faj olasılığı var.
	III 2	3,70	
	III 3	3,84	
S1	S <sub>1</sub> 1	3,70	> Temiz
	S <sub>1</sub> 2	3,80	
	S <sub>1</sub> 3	3,70	
S2	S <sub>2</sub> 1	3,70	> Faj olasılığı var.
	S <sub>2</sub> 2	3,70	
	S <sub>2</sub> 3	3,80	
D	D 1	3,70	> Faj olasılığı var.
	D 2	3,70	
	D 3	3,85	
H	H 1	3,70	> Temiz
	H 2	3,70	
	H 3	3,70	

Sonucun değerlendirilmesi:

- i) 3. tüpün pH'sı 1. ve 2. tüpün pH'sından 0,1 birim büyük ise; "faj" vardır.
- ii) 2. ve 3. tüpün pH'sı 1. tüpün (kontrol) pH' sından büyük ise; "inhibitör madde" vardır.

Bakteriyofaja karşı alınacak tedbirlerin en önemlilerinden birisi de kültür rotasyon sistemidir. Birbiriyle yakınlığı olmayan bakterilerin farklı suşlarıyla değişik

kombinasyonlarda kültür karışımları hazırlanır. Hazırlanan bu kültürler işletmenin çalışma düzenine göre rotasyon dahilinde kullanılır. Bir faj bulaşması riski, işletmede kullanılan bakteri suşlarının değiştirilmesi ve itina ile seçilen çok suşlu kültürle çalışılması halinde azaltılabilir (Sandine, 1979). Bakteriyofaj problemi işletmeler için önemli kayıplara neden olur. Öncelikle ürün oluşmaması yada kalitesiz ürün elde edilmesi sonucu büyük maddi ve manevi kayıp oluşur, dolayısıyla da sektörde itibar kaybına yol açar. Bu yüzden işletmelerin bakteriyofaja karşı mutlaka önlem almaları gerekir (Kılıç, 2001). Bunlardan birisi de işletmenin kullandığı kültürün faj içerip içermediğinin kontrolüdür.

Çalışmada gerçekleştirilen denemeler sonucunda kullanılan kültürlerde Çizelge 8’de de detaylı olarak görüldüğü üzere; A, C, III, S<sub>2</sub> ve D kodlu kültürler üzerinde faj bulunma olasılığı tespit edilmiştir.

#### *4.8. Kültürlerden Elde Edilen Yoğurtların Duyusal Değerlendirilmesi*

Çalışmada günlük taze inek sütü (toplam kurumadde oranı: % 11,5, pH değeri: 6,65) kullanılmıştır. Her bir kültür süte aktifleştirildikten sonra yoğurt yapımında kullanılmıştır. Bir gün süreyle buzdolabı koşullarında bekletilen yoğurt örnekleri daha sonra 6 kişiden oluşan panelist grubu tarafından duyuşal özellikleri bakımından test edilmiştir. Dış görünüş, kıvam (kaşıkta), kıvam (ağızda), koku ve lezzet özelliklerine panelistlerce verilen puanların ortalama değerleri ve bu değerlere karşılık gelen değerlendirme Çizelge 9’ da verilmiştir.

**Çizelge 9.** Yoğurt Kültürlerinde Duyusal Değerlendirme.

<b>Kültür</b>	<b>Duyusal Değerlendirme Kriterleri</b>					<b>Toplam Puan</b>	<b>Değerlendirme</b>
	<i>Dış Görünüş</i>	<i>Kıvam (Kaşıkta)</i>	<i>Kıvam (Ağızda)</i>	<i>Koku</i>	<i>Lezzet</i>		
<b>A</b>	4,17	4,17	3,83	4,50	4,00	20,6	Çok iyi
<b>B</b>	4,67	4,00	3,67	4,00	3,67	20	İyi
<b>C</b>	4,83	4,67	4,67	4,50	4,33	23	Çok iyi
<b>I</b>	3,75	3,83	3,42	4,67	4,50	20,1	Çok iyi
<b>II</b>	4,00	4,60	4,58	4,58	4,60	22,5	Çok iyi
<b>III</b>	5,00	4,75	4,58	4,33	4,00	22,6	Çok iyi
<b>D</b>	4,42	4,50	4,58	4,50	4,17	22,1	Çok iyi
<b>H</b>	4,00	3,92	3,75	4,33	3,58	19,4	İyi
<b>S<sub>1</sub></b>	4,83	4,17	4,17	4,17	3,33	20,6	Çok iyi
<b>S<sub>2</sub></b>	4,33	3,67	3,50	4,33	4,00	19,8	İyi

#### 4.8.1. Dış Görünüş

Yoğurt kültürlerinin dış görünüşlerine ilişkin değerlendirmeye katılan 6 panelistin vermiş oldukları toplam puan Çizelge 9’da verilmiştir. Değerlendirme, 5 puan üzerinden yapılmıştır. Dış görünüş bakımından en yüksek puan III kodlu örneğe verilmiştir. En düşük değer ise, 3,75 puanla I kodlu örneğe aittir. Genel olarak kültürler görünüş açısından iyi düzeyde bulunmuştur. Elde edilen istatistik analizi değerlerine göre ise, örnekler arasındaki dış görünüş farklılığının önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ).

#### 4.8.2. Kıvam (Kaşıkta)

Çalışmada incelemeye alınan yoğurt kültürlerinin kaşık ile alındığında hissedilen kıvamına ilişkin duyusal değerlendirme sonucu Çizelge 9’da ifade edilmiştir. Örnekler arasındaki kıvam farklılığının kaşıktaki durumunun istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ).

#### 4.8.3. Kıvam (Ağızda)

Denemelerde kullanılan yoğurt kültürlerinin ağızdaki kıvamına ilişkin panelist grubun verdiği toplam puan Çizelge 9’da verilmiştir. Kaşıkla belirlenen kıvamda olduğu gibi ağızla belirlenen kıvam değerleri birbirine benzer bulunmuştur. Ancak örnekler arasındaki farklılık istatistik analize göre önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

#### 4.8.4. Koku

İncelenen yoğurt kültürlerinin koku özelliğinin incelenmesi sonucu elde edilen toplam puanlar Çizelge 9'da verilmiştir. III, H, S<sub>2</sub> örneklerine verilen koku değerleri birbirinin aynıdır ve diğerlerine kıyasla düşük bulunmuştur. En yüksek puan I kodlu örneğe verilmiştir (4,67). Deneme örneklerinin koku durumuna ilişkin yapılan istatistik sonucunda, örnekler arasındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ).

#### 4.8.5. Lezzet

Çalışmada kullanılan yoğurt kültürlerinin lezzet açısından panelistler tarafından aldığı puanlar ve değerlendirmeler Çizelge 9'da gösterilmiştir. En yüksek puan 4,60 ile II kodlu örneğe verilirken; en düşük puanları sırasıyla S<sub>1</sub> (3,33), H (3,58) ve B (3,67) kodlu örnekler almıştır. Bu örnekler kıvam, tat ve dış görünüş (H örneği dışında) bakımından diğer örneklerden hemen hemen daha düşük puan almışlardır. Buna göre söz konusu kültürler duyuşsal olarak orta düzeyde bir ürün olarak değerlendirilebilir. Nitekim yapılan istatistik analizine göre, yoğurt kültürleri lezzet açısından farklılıkların istatistikî açıdan önemli olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

## 5. Sonuç

İncelenen kültür örneklerinde belirlenen titrasyon asitliği birbirine yakın bulunmuş ancak pH değerleri bakımından örnekler arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

Kültür örneklerine ait aroma oluşturma özellikleri ve proteolitik aktiviteleri ortalama olarak istenilen düzeyde belirlenmiştir. Ancak örnekler arasında önemli farklılıklar bulunduğu tespit edilmiştir.

Kültürlerden hiçbiri *Bacillus cereus* üzerinde antibakteriyel etki göstermemişlerdir. H kültürü dışında hiçbir kültür *Staphylococcus aureus*' u etkilememiştir. Yalnızca *E. coli* üzerinde tüm kültürlerin antibakteriyel etkinliği tespit edilmiştir. Süt ürünleri açısından önemli olan *Listeria monocytogenes* patojenine 5, *Pseudomonas aeruginosa* patojenine 3 adet kültürün antimikrobiyal etkinliği zayıf düzeyde tespit edilmiştir. Araştırmada elde edilen bulgular, kültür hazırlanmasında bakteri suşlarının incelenmesi sırasında antibakteriyel özellikler üzerinde titizlikle durulmadığını göstermektedir. İnsan sağlığı ve ürün kalitesi açısından test edilen patojen bakteri tür ve suşlarında etkinlik çok önemlidir. Söz konusu etkinlik asitlik oluşumu kadar önemlidir. Bu durum, kültürlerden beklenen patojen bakterilere karşı koruma özelliğinin yetersiz olduğunu göstermektedir. Hâlbuki yoğurt kültüründe özellikle son zamanlarda aranan teknolojik özelliklerden birisi de antibakteriyel etkinliktir.

Kültürlerde yapılan mikrobiyolojik ekimler sonucunda yabancı mikroorganizma bulunmadığı ve çalışmalar sırasında bir bulaşma meydana gelmediği tespit edilmiştir. Ancak yapılan sayımlar sonucunda elde edilen yoğurt bakterileri sayısının aynı marka içinde ve birbirleri arasında yapılan kıyaslamalarda farklılık gösterdiği ve ayrıca sayıların oldukça düşük olduğu bulunmuştur. Halbuki direk kullanımı önerilen konsantre kültürlerde canlı hücre sayısının  $10^{11} - 10^{13}$  adet/g olması gerektiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Kültürlerin içerdiği hücre sayılarının normal kültür düzeyine eşdeğer olduğunu elde edilen sonuçlardan görmek mümkündür. Genellikle kültür bakterileri arasında olması beklenen oran 1:1 veya buna yakındır. Oysa, incelenen örneklerde bu oran *Str. thermophilus* lehine yaklaşık 4:1 oranında bulunmuştur. Bu da bize ülke halkının damak zevkine hitab etmeyen kültürlerle çalışıldığını göstermektedir. Belirtilen durumlar; yoğurt oluşum süresi, asitlik düzeyi ve



dolayısıyla meydana getirdikleri aroma maddelerini etkilediğinden bunların kullanımıyla elde edilecek yoğurtların kalitelerinde farklılıklar ortaya çıkacağı aşikardır.

Denemelerde kullanılan 5 kültür örneğinde uygulanan yonteme göre faj olasılığı tespit edilmiştir. Bu durum aynı inkübasyon koşulları ve aşılama miktarlarının uygulandığı durumlarda daha iyi belirlenmiştir.

Kültürlerden elde edilen yoğurtlarda yapılan duyuusal değerdendirme, koku kriteri hariç diğerdendirme parametreleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur.

Buna göre; çalışmada kullanılan 10 adet liyofilize yoğurt kültürünün; kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuusal özellikleri farklılık göstermiştir. Aynı marka kültürler arasında dahi belirtilen özelliklerde farklılıklar tespit edilmiştir.

Sonuç olarak gerçekleştirilen bu çalışmada, ülkemize yurt dışından giren yoğurt kültürlerinin Türk damak zevkine pek de uygun olmadığı yapılan analizler sonucu ortaya konulmuştur. Diğerd ülkelere kıyasla Türkiye’de daha asitli, aromalı yoğurtlar tercih edildiğinden incelenen bu kültürlerle istenen kalitede yoğurt yapmak biraz zor olacaktır. Yapılan denemelerde yoğurt kültürlerinin bazılarında bakteriyofaj tespit edilmiştir. Bu durum Türkiye sütçülüğü ve süt ürünlerinin üretimi açısından üzerinde durulması gereken bir noktadır. Bakteriyofajla mücadele oldukça zor ve o kadar da pahalıdır. Ayrıca Türkiye sütçülüğü açısından önemli sorunlara ve ekonomik kayıplara sebep olabilir. Bu nedenle konunun derinlemesine incelenmesi gerekir.

Bu noktadan hareketle yoğurt yapımında saf kültür temininde ve kullanımında şu noktalara dikkat edilmesi gerektiği kanısına varılmıştır:

- Kültürlerin ülkeye girişleri, depolanması ve işletmelere ulaştırılması sırasında soğuk zincirin muhafaza edilmesi, paket üzerinde belirtilen saklama koşullarının sağlanarak pazarlanması gerekmektedir.

- Kültürlerin işletmelere adaptasyonu sırasında yeterli teknik bilginin verilmesi gerekmektedir.

- Kültürlerin tek başlarına kullanıldıklarında özellikle duyuusal değerdendirmeler sırasında yetersiz bulunduğu saptanmıştır. Bugün için ülkemizde kültür üretilmediğine göre aynı veya farklı firmalara ait kültürlerin uygun karışımları yapılarak işletmelerde kullanılması gerekir.

- İşletmelrde bakteriyofaj sorununun oluşmaması için kültür rotasyon sistemini devreye sokmak gerekir.

- Aynı parti kültür kullanımında dahi farklı kalitede yoğurt oluşumunun meydana gelmesi, kültürlerde belirli bir standardın olmadığına işaret etmektedir. Bu durum her üretimde farklı kalitede ürünler elde edilmesine yol açmaktadır ve kullanan işletmeler açısından birçok soruna sebep olmaktadır. Bu tür sakıncaları önlemek amacıyla kültür üreten laboratuvarların daha dikkatli çalışması gerekmektedir.

- Bugüne kadar ithal edilen kültürlerin açık ve anlaşılır bir şekilde kullanım ön bilgi formları hazırlanmamıştır ve işletme sahibine intikal etmemiştir.

- Tüm bu aksaklıkların giderilmesi için ithal edilen kültürlerin incelenmesi açısından gerekli alet ve malzeme ile donatılmış laboratuvarların kurulması gerekmektedir.

- En önemlisi de, Türk halkının damak zevkine hitap eden, süt teknolojisini ilgilendiren kültürlerin ülkemiz koşullarında elde edilebilmesi için kültür üretim laboratuvarlarının ivedi olarak kurulması gerekmektedir.

Bu durum özellikle;

- Ekonomik açıdan,
- Süt ürünlerinin gıda güvenliği açısından,
- Ülkemize GDO (Genetiği Değiştirilmiş Organizma)' ların kontrolsüz ve sınırsız girişinin önlenmesi, toprakların kirlenmemesi açısından,
- Ürünlerin kalitesi açısından,
- Milli varlıklarımızın korunması, açısından çok önemlidir.

## 6. Ek: Kùltürlerin Geliştirilmesi ve Kontrolünde Yararlanılan Besiyerleri

### 1. Sütün Hazırlanışı:

Erime yeteneği yüksek, pùskürtme yöntemi ile elde edilen yağsız süttozu kullanılmıştır. % 12 kurumadde içerecek şekilde süttozundan hazırlanan süt (rekonstitüe süt) uygun kaplara yeterli miktarda konulduktan sonra ağzı pamukla tamponlanmış ve 115 °C' de 10 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir.

### 2. LS Differential Medium (Atlas, 1995).

	<b><u>g/lt</u></b>
Glucose	20,0
Agar	13,0
Pancreatic digest of casein	10,0
Beef extract	5,0
NaCl	5,0
Papaic digest of soybean meal	5,0
Yeast extract	5,0
L-cysteine HCl-H <sub>2</sub> O	0,3
Skim milk solution	100,0 ml
Triphenyltetrazolium chloride solution	10,0 ml

a) Süttozundan 10,0 g / 100 ml süt hazırlanır, 121°C' de 5 dakika sterilize edilir.

b) 2, 3, 5 – Triphenyltetrazolium chloride 0,2 g / 10 ml tartılarak 0,45 µ por çaplı filtreden geçirilerek sterilize edilir.

Besiyeri 121°C' de 15 dakika sterilize edilir. pH 'sı 6,1 ± 0,2 (25 °C)' ye ayarlanır. Daha sonra a ve b ilave edilerek besiyeri hazırlanmış olur.

### 3. Plate Count Agar (Atlas, 1995).

	<b><u>g/lt</u></b>
Agar	15,0
Pancreatic digest of casein	5,0
Yeast extract	2,5
Glucose	1,0

pH'sı 7,0 ± 0,2'ye (25°C ) ayarlandıktan sonra 121°C' de 15 dakika sterilize edilir.

4. *Potato Dextrose Agar (Yaygın ve Kılıç, 1993).*

	<b><u>g/lt</u></b>
Patates infüzyonu	200,0
D Glukoz	20,0
Agar	15,0
Distile su	1000,0 ml'ye tamamla

pH'sı  $3,5 \pm 0,1$ 'e ayarlanır.  $121^{\circ}\text{C}$ ' de 15 dakika sterilize edilir.

5. *Violet Red Bile Agar (Yaygın ve Kılıç, 1993).*

	<b><u>g/lt</u></b>
Pepton	7,0
Maya ekstraktı	3,0
Bile salts	1,5
NaCl	5,0
Laktoz	10,0
Nötral Red (% 1'lik çözeltisi)	3,0 ml
Kristal viole (% 0,05 çözelti)	4,0 ml
Agar	15,0
Distile su	1000,0

Besiyeri içeriği eritildikten sonra pH' sı  $7,4 \pm 0,2$ 'ye ayarlanır. Uygun kaplara yeterli miktarda konulduktan sonra ağzları kapatılır.  $121^{\circ}\text{C}$ ' de 15 dakika süreyle streilize edilir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akman, M.**, 1977. Bakteriyofajlar. S. 179-228 (Bakteri Genetiği, Teorik, Pratik, XV+544, Cumhuriyet Üniv. Yayını, No: 1, Sivas)tan alınmıştır.
- Anonim**, 20.12.2006. <http://www.insanvebilim.com/morganizma1.htm>.
- Anonymous**, 1986. Süt ve Mamülleri Terimleri. TS 4806. Türk Standartları Enstitüsü (b).
- Anonymous, IDF (International Dairy Federation)**, 1991. Yoghurt: identification of characteristic microorganisms (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*). International IDF Standart 146.
- Anonymous**; 2000. Note for Guidance For The Assessment of the Effect of Antimicrobial Substances on Dairy Starter Cultures. EMEA, Committee for Veterinary Medicinal Products, 7 Westferry Circus, Canary Wharf, London E14 4HB, UK.
- Arslan, F.**, 2002. Bazı Laktik Asit Bakterilerinden İzole Edilen Bakteriyosinlerin Seçilen Kimi Bağırsak Patojeni Bakteriler Üzerinde Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, E. Ü. F. B. E., XVIII+214.
- Arslan, F., Kılıç, S.**, 2003. Yoğurt Bakterilerine Ait Bakteriyosinlerin Gıda Kaynaklı Patojenler Üzerindeki Antimikrobiyal Etki Spektrumunun İncelenmesi. 1. Ulusal Gıda ve Beslenme Kongresi. 29 Eylül-1Ekim 2003, Askeri Müze Kültür Sitesi, Harbiye/İstanbul.
- Asperger, H.**, 1973. Applicability of Analytical Methods for the Assesment of Yoghurt Quality. Osterreichische Milchwirtschaft 28 (7) 125-129.
- Atlas, R., M.**, 1995. Handbook of Microbiological Media for the Examination of Food, CRC Press, Inc. X+295.
- Aygün, S.**, 1939. Hayvanlardan Elde Edilen Gıda Hıfzıssıhhası ve Gıda Tahlili. Y.Z.E. Basımevi, Ankara.
- Birollo, G. A., Reinheimer, J. A., Vinderola, C. G.**, 2000. Viability of Lactic Microflora in Different Types of Yoghurt. Food Research International 33, 799-805.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Botazzi, V., Battistotti, B., Montescani, C.,** 1973. Influence des Souches Seules et Associees de *Lb. bulgaricus* et *Str. thermophilus* ainsi que de Traitements du Lait sur la Production d'Aldehyde Acétique dans les Yaourts Le Lait (525 – 526) 295 – 308.
- Bouillanne, C., Desmazeaud, M. J., Landon, M., et al.,** 1981. Method for Grouping some *Lb. bulgaricus* Straine According to Some Technological Chracteristics. Association with *Str. thermophilus*. Science des Aliments 1 (1) 7 – 17.
- Bouillanne, C., Desmazeaud, M. J.,** 1983. Etude de Quelques Caracteres de Souches de *Str. thermophilus* Utilities en Fabrication de Yoghourt et Proposition d'une Methode de Classement. Le Lait IX, 458 – 473.
- Cerning, J., Bouillanne, C., Desmazeaud, M. J., Landon, M.,** 1986. Isolation and Chracterization of Exocellular Polysaccharide Produced by *Lactobacillus bulgaricus*. Biotech. Lett. 8, 625-628.
- Cerning, J., Bouillanne, C., Desmazeaud, M. J., Landon, M.,** 1988: Exocellular Polysaccharide Production by *Streptococcus thermophilus*. Biotech. Lett. 10, 225-260.
- Cerning, J.,** 1990. Exocellular polysaccharides produced by Lactic Acid Bacteria. FEMS Microbiol. Rev., 87: 113-1 30.
- Citti, J. E., Sandine, W. E., Elliker, P. R.,** 1965. Some observation on the Hull Method for Measurement of Proteolysis. J. Dairy Sci. 46, 337.
- Danon, S., Zhekov, S., Kozereva, M.,** 1963. Role of Lactic Acid in the Antibiotic Effect of Yoghurt. Dairy Sci. Abstr. 25 (1) 183.
- Davis, J. G.,** 1975. The Microbiology of Yoghurt, (Lactic Acid Bacteria in Beverage and Foods)' den alınmıştır. Academic Press, Londres 245-263.
- Driessen, F. M.,** 1981. Proto-co-operation of Yoghurt Bacteria in Continuous Cultures. Mixed Cultures Fermantation. Academic Press. 99 – 120.
- El-Sadek, G. M., Shehata, A. E., Hassan, A. A., Et al.,** 1975. The Effect of Freze-Drying on Viability and Activity of Lactic Streptococci Cultures. Egyptian J. Dairy Sci. 3 (1) 38 – 42.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gavin, M.**, 1968. La Lyophilisation des Cultures de Yoghourt These No. 4227 de L'Ecole Polytechnique Federal Zurich 126.
- Göktürk, F., Örün, H., Banoğlu, V.**, 1982. Gıda Maddelerimizin ve umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük, IX 370.
- Görner, F., Palo, V., Bertan, M.**, 1968. Veranderungen des Gehaltes der flüchtigen Stoffe vahrend der Yoghurtreifung Milchwissenschaft 23 (2) 94 – 100.
- Güran, R., Ergin, S.**, 1961. Türk Yoğurt Basılı. Mikrobiyoloji Dergisi. 3–4, 69–92.
- Gürsel, A., Fişek, N. H.**, 1953. Yoğurt Florası ve Yoğurdun Bakterisit Tesiri. Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Derg. VIII (1).
- Hadi, A. Y.**, 1982. Yoğurtlardan İzole Edilen Kimi Bakterilerin Starter Olarak Seçilme Olanakları. Doktora Tezi, Ankara, 102.
- Halkman, K.**, 1983. Yoğurt Starter Kültürlerinin Dondurularak Kurutulması Yöntemi İle Hazırlanmasında Çeşitli Faktörlerin Etkileri Üzerinde Araştırmalar. Doktora, Ank.
- Hermier, J., Accolas, J. P., Desmazeaud, M.**, 1996. Les Yaourts Et Les Laits Fermentes. 302-317 (Bourgeois, C. M., Larpent, J. P.; 1996 Microbiology Alimentaire II Tome, Aliments Fermentes et Fermentations Alimentaires, Lavoisier Tec-Doc Paris, Cedex 08, XX+523) den alınmıştır.
- İzmen, E. R.**, 1935. Silivri Yoğurdunun Yapılışı ve Terkibi Hakkında Araştırmalar. Yüksek Ziraat Enstitüsü Yayınları. Ankara, 51.
- Khanna, A., Sing, J.**, 1978. Comparasion of Yoghurt Starters in Cows and Buffalo Milk. J. Dairy Res. 46, 681-686.
- Kılıç, S.**, 1986. Orijini, Özellikleri, Oranları Farklı *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* Bakterileri İçeren Sıvı, Dondurulmuş ve Liyofilize Kültürler ile Yapılan Yoğurtların Nitelikleri Üzerinde Araştırmalar. Doktora, İzmir.
- Kılıç, S.**, 1990. Yoğurt Yapımında Saf Kültürün Kullanımı, Gıda Teknolojisi Derneği Yayını, Sayı:4, Cilt:15.
- Kılıç, S.**, 1990. Yoğurt Kültürünü Oluşturan *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* Bakterilerinin Antibakteriyel Özellikleri Üzerinde Bir Araştırma, Gıda Teknolojisi Derneği Yayını, Sayı:6, Cilt:15.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kılıç, S.**, 1991. Yoğurt Yapımında Yararlanılan *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*'un Proteolitik Aktivitelerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma, Gıda Teknolojisi Derneği Yayını, Sayı:4, Cilt:16.
- Kılıç, S., Karagözlü, C.**, 1996. Eksopolisakkaritler: I. Eksopolisakkarit Üreten Laktik Asit Bakterileri ve Polisakkaritlerin Biyokimyası, E.Ü.Z.F., 33, 2-3, 231-238.
- Kılıç, S., Karagözlü, C.**, 1997. Eksopolisakkaritler: II. Yapısı ve İşlevleri E.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 33 (2-3) 239 – 256.1997.
- Kılıç, S.**, 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, E. Ü. Z. F. Yayınları No:542, 451.
- Klupsch, H. J.**, 1984. Joghurt (Sauremilcherzeugnisse Milch, Mischgetranke und Desserts, Verlag Th. Mann, Postfach 5, 4650 Gelsenkirchenbauer, S: 541)'den alınmıştır, 451-452.
- Kocabaş, Z., Odabaşı, S., Atamer, M.**, 1998. Mikrobiyolojik Verilerin İstatistiksel Analizinde Uygun Transformasyon Yönteminin Seçimi, *Gıda*, 23 (1): 11-17.
- Lee, S. Y., Vedamuthu, E. R., Vahsam, C. J., Reinbold, G. W.**, 1975. An Agar Medium for the Differential Enumeration of Yoghurt Starter Bacteria. *J. Milk Food Technol.* 37 (5) 272-276.
- Mel'nikova, E. U., Koroleva, N. S.**, 1975. Capacity of *Lb. bulgaricus* and *Str. thermophilus* Starter to Produce Antibiotic Substances. *Dairy Sci. Abstr.* 37 (7) 4329.
- Moon, N. J., Reinbold, G. W.**, 1976. Commensalism and Competition in Mixed Cultures of *Lb. bulgaricus* and *Str. thermophilus*. *J. Milk Food Technol.* 39 (5) 337-341.
- Moquot, G., Hurel, C.**, 1970. The Selection and Use of Some Microorganisms for the Manufacture of Fermented and Milk Products. *J. Sec. Dairy Technol.* 23 (3) 130 – 146.
- Oysun, G.**, 2001. Süt ve Ürünlerinde Analiz Yöntemleri. E.Ü.Z.F. Yay. No: 504, E.Ü.Z.F. Ofset Atelyesi, Bornova, İzmir, 306s.
- Pamir, H.**, 1965. Yoğurdun Antibiyotik Etkisi Üzerinde Bir Araştırma. E.Ü.Z.F. Yıllığı 15.



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pette, J. W.**, 1964. Caracteristiques Des Souches Communement Utilisees Pour La Preparation Des Laits Fermentes Les Plus Importants. 90, 93 (Annual Bulletin, Part III, Fermented Milks 25-27 September, 1963. Secretariat General 10, rue Ortelius, Bruxelles 4, Belgique. P: 145)'den alınmıştır.
- Pette, J. W., Lollkema, H.**, 1950. Yoghurt III. Acid Production and Aroma Formation in Yoghurt. Neth. Milk Dairy J. 4, 261-273.
- Puhan, Z., Banhegyi, M.**, 1974. Bei Einflussung des Verhältnisses *Lb. bulgaricus* : *Str. thermophilus* in Yoghurt durch die Bebrütungstemperatur. Schweiz. Milchw. Forsch. 3, 9 – 13.
- Pulusani, S. R., Rao, D. R., Sunki, G. R.**, 1979. Antimicrobial Activity of Lactic Cultures, Partial Purification and Characterisation of Antimicrobial Compound Produced by *Str. thermophilus*. J. Food Sci. 44, 575.
- Radke-Mitchell, L. C., Sandine, W. E.**, 1986. Influence of Temperature on Associative Growth of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. J. Dairy Sci., 69: 2558-2568.
- Rasic, J., Kurmann, J. A.**, 1978. Cultures and Starters Part III, Chapter 10, 186-213; Quality Control Part VI, 369-379. (Yoghurt, Scientific Grounds Technology, Manufacture and Preparation, Vol. 1 Technol. Dairy Publishing House, Copenhagen, 466) alınmıştır.
- Reddy, G. V., Shahani, K. M., friend, B. A. Et al.**, 1983. Natural Antibiotic Activity of *Lb. acidophilus* and *Lb. bulgaricus* III. Production and Partial Purification of Bulgarican from *Lb. bulgaricus*.
- Renz, U., Puhan, Z.**, 1975. Beitrag zur Kenntnis von Faktoren, die Bitterkeit in Yoghurt Begünstigen. Michwissenschaft 30 (5) 265-270.
- Robinson, R. K., Tamime, A. Y., Chubb, L. W.**, 1977. Acetaldehyde as an Indicator of Flavour Intensity in Yoghurt The Milk Industry 4, 4-6.
- Robinson, R. K., Tamime, A. Y.**, 1981. Microbiology of Fermented Milks (Dairy Microbiology Vol. 2, The Microbiology of Milk Products) alınmıştır.
- Sandine, W. E.**, 1979. Lactic Starter Cultur Technology, 55., Pfizer Cheese Monographs, Vol:VI. Pfizer inc. Newyork.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Shahani, K. M., Vakil, J. R., Kilara, A.,** 1976. Natural Antibiotic Activity of *Lb. acidophilus* and *Lb. bulgaricus*. I. Cultural Sondition fort he Production of Antibiosis Cultur. Dairy Products J. 11 (4) 14-17.
- Shahani, K. M., Friend, B. A., Bailey, P. J.,** 1983. Antitumor Activity of Fermented Colostrum and Milk. J. Food Protect. 46, 385 – 386.
- Shankar, P. A., Davies, F. L.,** 1977. Associative Bacterial Growths in Yoghurt Starters, Initial Observations on Stimulatory Factors. J. Soc. Dairy Technol. 30 (1) 31-32.
- Shankar, P. A., Davies, F. L.,** 1978. Proteinase and Peptidase Activities of Yoghurt Starter Bacteria. XX. Inter. Dairy Congress Vol. E, 514-515.
- Speckman, C. A., Sandine, W. E., Elliker, F. R.,** 1974. Direct Inoculation of Milk with Lyophilized Starter Concentrates for Yoghurt Production. J. Dairy Sci. 57 (5) 582 (a).
- Speckman, C. A., Sandine, W. E., Elliker, F. R.,** 1974. Lyophilized Lactic Acid Starter Culture Concentrates: Preparation and Use in Inoculation of Wat Milk for Cheddar and Cottaga Cheese. J. Dairy Sci. 57 (2) 165-173 (b).
- Tamime, A. Y., Deeth, H. C.,** 1980. Yoghurt: Technology and Biochemistry. J. Food Project. 43 (12) 939-977.
- Tamime, A. Y., Robinson, R. K.,** 1985. Yoghurt Science and Technology. Pergamon Press. Oxford-Paris. 431 s.
- Tramer, J.,** 1973. Yoghurt Cultures. J. Soc. Dairy Technol. 26 (1) 16-21.
- Tunail, N., Demirtaş, D., Durlu-Özkaya, F.,** 2000. Yoğurt Fabrikalarında Görülen Bakteriyofaj Problemi Nedenleri ve Çözüm Önerileri, 113-125 (Süt mikrobiyolojisi ve katkı maddeleri altıncı süt ve süt ürünleri sempozyumu tebliğler kitabı, Tekirdağ, S: 595)'den alınmıştır.
- Uysal, H., Kınık, Ö., Kavas, G.,** 2004. Süt ve Ürünlerinde Uygulanan Duyusal Test Teknikleri. E.Ü.Z.F. Yayınları, No: 560, Ege. Üniv. Basımevi, Bornova, İzmir, 101s.
- Üçüncü, M.,** 1996. Süt Teknolojisi, E. Ü. Müh. Fak. Yayını. Cilt II, Sf: 204-207.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Valli, C., Traill, W. B.,** 2005. Culture and Food. A model of Yoghurt Consumption in the EU. Food Quality and Preference 16, 291-304.
- Vanderpoorten, R., Waes, G.,** 1972. Etude des Proprietes de Quelques Cultures de Yoghourt. Revue de L'Agriculture 25 (1) 101 – 114.
- Wegner, K.,** 1981. Joghurt Kulturen. (Microbiologie Tierischer Lebensmittel, Verlag Harri Deutsch Thun Frankfurt/M)'den alınmıştır. 133-135.
- Yang, N. L., Sandine, W. E.,** 1974. Acid-Producing Activity of Lyophilized Lactic Streptococcal Cheese Starter Concentrates, J. Dairy Sci. 62 (6) 908.
- Yaygın, H.,** 1979. Yoğurtlardan izole edilen *L. bulgaricus*, *Str. thermophilus* bakterilerinin özellikleri ve bunların saf kültür halinde üretilmesi üzerinde araştırmalar, TÜBİTAK, VHAG / 364 Proje no, S: 44, Bornova.
- Yaygın, H.,** 1999. Yoğurt Teknolojisi, Akdeniz Üniversitesi, Yayın no: 75, Akdeniz Üniv. Basım evi, S: XVI+331, Antalya.
- Yaygın, H., Kılıç, S.,** 1980. Süt Teknolojisinde Bakteriyofaj. E. Ü. Z. F. 17/2, 27-42.
- Yaygın, H., Kılıç, S.,** 1990. Mandıralarda Saf Kültürle Peynir ve Yoğurt Yapımının Verimlilik, Standardizasyon ve Kaliteye Etkileri, Milli Produktivite Merkezi Projesi, S: 54, Bornova.
- Yaygın, H., Kılıç, S.,** 1993. Süt Endüstrisinde Saf Kültür, Altındağ Matbaacılık, S: 108, İzmir.
- Yaygın, H., Şatır-Toklu, G.,** 2000. Süt ürünleri üretiminde starter kültürler, 37-46 (Süt mikrobiyolojisi ve katkı maddeleri altıncı süt ve süt ürünleri sempozyumu tebliğler kitabı, Tekirdağ, S: 595)'den alınmıştır.
- Yazıcıoğlu, A. Yılmaz, N.,** 1966. Studies on the Microflora of Yoghurt and its Antimicrobial Action. Milchwissenschaft 21, 87 – 92.
- Yöney, Z.,** 1979. Yoğurt Teknolojisi. A.Ü.Z.F. Yayınları 71, S: 101, Ankara.

## ÖZGEÇMİŞ

06.01.1979 tarihinde İzmir’de doğdu. İlkokul öğrenimini İzmir Bornova Yavuz Selim İlkokulu’nda, orta öğrenimini Bornova Suphi Koyuncuoğlu Ortaokulu’nda, lise öğrenimini de Bornova Suphi Koyuncuoğlu Lisesi’nde tamamladı. 1997 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü’nde yüksek öğrenimine başladı. Yabancı Diller Bölümü’nde bir yıl süreyle İngilizce hazırlık eğitimi aldı ve 2003 yılında Süt Teknolojisi bölümünden mezun oldu. 2004 yılı Şubat ayında açılan sınavı kazanarak Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimi almaya hak kazandı. Halen Manisa’da ÖZSÜT Özgür Süt Ürünleri San. Tic. Ltd. Şti.’nde çalışan Bülent KOSKA İngilizce bilmektedir.