

A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Kontrolü ve Teknolojisi Kürsüsü  
Prof. Dr. Zeki Tolgay

## YOĞURT KÜLTÜRÜ ELDE EDİLMESİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR\*

Ergün Özalp\*\*

Güner Özalp\*\*\*

### Studies On The Production Of Yoghurt Cultures

**Summary:** *The study was carried out to provide yoghurt cultures which were required by yoghurt producers.*

*Of total 149 yoghurt samples examined by organoleptically and under microscope, 57 (Ankara 42, İstanbul 10, Eskişehir 2, Denizli 2 and Antalya 1) containing similar number of cocci and rods and having desirable flavour and sufficient aroma were chosen for the studies.*

*121 Streptococcus thermophilus and 94 Lactobacillus bulgaricus strains were identified from the samples. 20 strains of each species were selected and tested in the production of yoghurt under laboratory and dairy conditions.*

*The results indicated that the strains can be preserved best by lyophilisation after adding 1.5 % sodium glutamate to culture cultivated in skim milk (20 % SNF) containing 8 % sucrose and freezing -40°C.*

*It was found that lyophilysed single and mixed strains can be used for the production at least 6 months under the condition of dairies in Turkey.*

*(Received on April 24, 1978)*

**Özet:** *Araştırma, yoğurt imalathanelerinin, yoğurt kültürü gereksinmelerine cevap verebilmek amacıyla yapılmıştır.*

\* Bu çalışma Etlik Veteriner Araştırma ve Kontrol Enstitüsü Endüstriyel Mikrobiyoloji Laboratuvarında yürütülmüş ve T.B.T.A.K. 17-21 Ekim 1977 Ankara VI. Bilim Kongresinde sunulmuştur.

\*\* Doç. Dr. A.Ü.Veteriner Fakültesi Besin Kontrolü ve Teknolojisi Kürsüsü, Ankara, Türkiye.

\*\*\* Uzman Vet.Hek. Etlik Veteriner Araştırma ve Kontrol Enstitüsü, Endüstriyel Mikrobiyoloji Laboratuvarı Şefi, Ankara, Türkiye.

149 yoğurt numunesinden hoş lezzet ve uygun aromada olan ve bakteriyoskopide yakın sayıda kok ve çomakları kapsadıkları tespit edilen Ankara'dan 42, İstanbul'dan 10, Eskişehir'den 2, Denizli'den 2 ve Afyon'dan 1 adet olmak üzere 57 yoğurt numunesi denemeye alındı. Bu numunelerden 94 *Lactobacillus bulgaricus* ve 121 *Streptococcus thermophilus* suşu idantifiye edildi. En aktif olan 20 şer adedi seçilerek laboratuvar ve imalathane koşullarında, yoğurt yapımında denendi.

Suşların dayanıklı hale getirilmesinde en iyi netice % 8 sakkaroz kapsayan, % 20 kuru maddeli konsantre süt ortamında üretilen kültürlere % 1.5 sodyum glutamat ilavesiyle ve  $-40^{\circ}\text{C}$  de dondurulduktan sonra liyofilizasyonu ile elde edildi. Böylelikle hazırlanan tek ve miks liyofilize kültürlerin en az altı ay süreyle imalathane koşullarında yoğurt kültürü hazırlamak amacıyla kullanılabilceği saptandı.

## Giriş

Yoğurt, iki laktik bakterinin, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*'un müşterek aktiviteleri ile oluşan fermante süt ürünüdür (5, 6, 7, 14, 15).

Yoğurdun strüktür ve kıvamına, lezzet ve aromasına, üretimde kullanılan sütün kalite ve birleşimi, standardizasyonu, süt yağı ve yağsız kuru maddelerin, mineral maddelerin, uygulanan mekanik işlemlerin, inkübasyon ısı ve süresinin, koagülasyondan sonraki işlemlerin yanında, özellikle kullanılan kültürün durumu büyük ölçüde etkili olmaktadır (3, 14, 15).

Yoğurt mayasını oluşturan bu iki mikroorganizmanın aktiviteleri, saflıkları ve birbirine oranları teknolojide büyük önem taşır (5, 6, 7, 14, 15). Yoğurtta her iki mikroorganizma sinergetik olarak yaşarlar (6, 9, 15). İnkübasyon anında önce *Lactobacillus bulgaricus*'lar gelişirler. Bu mikroorganizma kazeini hidrolize ederek *Streptococcus thermophilus*'lar için gelişme faktörü olarak bilinen valine, histidine, glycine gibi bazı serbest amino asitleri oluştururlar. Gelişen serbest amino asitler ve sütün pH sı *Streptococcus thermophilus*'ların hızla üremelerine olanak sağlar. Ortamın pH sı 5.5'un altına düşer. Titre edilebilir asitlik takriben % 0.6 olduğu zaman *Streptococcus thermophilus*'ların *Lactobacillus bulgaricus*'lara oranı 4/1 civarındadır (7). Fazla miktarda oluşan amino asitler streptokokların üremelerini yavaşlatır ve *Lactobacillus bulgaricus*'lar süratle gelişmeye devam ederler. Zira ortam bu anda, bu mikroorganizmanın gelişmesi için elverişlidir. Asitlik 40 S.H. (% 0.9 laktik asit) olduğunda her iki mikroorganizmanın birbirine oranı 1/1 olur. Bu anda inkübasyona son verip, mikroorganiz-

maların daha fazla gelişmelerini önlemek için yoğurdu soğutmak gerekir. Böylelikle, tüketim anında uygun asitlikte (% 1.00-1.25 laktik asit veya takriben 45-50 S.H.) bir ürün elde edilmiş olur (14,15).

Yoğurdu oluşturan mikroorganizmalardan *Lactobacillus bulgaricus* 15°C'de gelişmeyen, 23-53°C'lerde çok iyi gelişerek ortamı kuvvetli asit yapan, yuvarlak uçlu, kalın çubuklar halinde, genellikle uzun zincirler teşkil eden, hareketsiz, Gram (+), homofermantatif laktik bir bakteridir. Turnusollu sütte sırasıyla asit, kuvvetli pıhtı ve redüksiyon oluşturur. Sütü 37°C'de koagüle eder, gaz yapmaz. Glukoz, galaktoz ve laktozu fermante eder, sakkarozu vurmaz. Sütte şekillendirdiği final asitlik % 1.6 laktik asittir. Mikroaerofiliktir. *Streptococcus thermophilus* ise 20-50°C'ler arasında ürer. En iyi gelişme 37-40°C'lerde olur. Termorezistandır. 65°C'de 30 dakikalık pastörizasyona dayanır. Diplokok veya uzun zincirli streptokoklar şeklindedir. Gram (+) tir. NaCl'e çok duyarlıdır. % 2 NaCl kapsayan sütte gelişmez. Turnusollu sütte sırasıyla asit, keagülasyon ve redüksiyon oluşturur. Glukoz, laktoz, sakkaroz ve früktozu fermante eder. Sütte şekillendirdiği asitlik takriben % 0.6 dır. Her iki mikroorganizma mikroaerofiliktir ve asit ortamlara (pH: 4.0-4.5) iyi dayanırlar (2, 4, 15).

Arzulanan aroma ve lezzette bir yoğurt elde edilmesinde, kullanılan kültür büyük ölçüde etkilidir. İmalathaneler, kısa zamanda kontamine olarak bozulan yoğurt mayalarını, yeni, aktif ve saf kültürlerle değiştirmek zorundadırlar. Yurdumuzda bu gereksinmeye cevap verebilecek bir kuruluşun bulunmayışı nedeniyle, bu çalışma yoğurt imalathanelerinin bu ihtiyacını karşılayabilmek amacıyla yapılmış ve Etlik Veteriner Araştırma ve Kontrol Enstitüsü Endüstriyel Mikrobiyoloji Laboratuvarının bir laktik kültür hazırlama merkezi haline getirilmesi düşünülmüştür.

### Materyal ve Metodlar

Tüketime sunulan ve tüketicinin beğenisini kazanmış 1/2 veya 1 kg. lık ambalajlar halindeki 149 yoğurt numunesi ana materyal olarak kullanılmıştır. Bunların içinden hoş lezzet ve uygun aromada olan ve bakteriyoskopide yakın sayıda kok ve çomakları kapsadıkları tespit edilen (5, 15), Ankara orijinli 42, İstanbul orijinli 10, Eskişehir orijinli 2, Denizli orijinli 2, Afyon orijinli 1 adet olmak üzere toplam 57 yoğurt numunesi, yoğurt kültürünü oluşturan mikroorganizmaların identifikasyonu için denemeye alındı.

### Metotlar:

*Bakteriyoskopi*: Dorner ve arkadaşlarının süt ürünleri için önerdikleri özel metilen mavisi boyama metodu uygulandı (6).

*İzolasyon*: Önce, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*'ların predominant olmalarını temin amacıyla Litmus Milk besi yeri (1, 12) kullanıldı. Yoğurt numunelerinden yapılan ekimler 50 ve 37°C'lerde, koagülasyon şekillenene kadar inkübe edildi. Bu işlem tekrarlanarak pasajlar yapıldı.

Litmus Milk kültürlerinden steril distile su ile dilüsyonlar hazırlanarak APT Agar (1, 12), MRS Medium (13), Whey Agar (1), V-8 Medium (7) ve Tomato Juice Yeast Extract Agar (12) besi yerlerine ekimler yapıldı. 37 ve 50°C'lerde 48 saat inkübasyona bırakıldı.

30-300 koloni kapsayan APT Agar plaklarından birbirine yakın altışar koloni seçilerek Litmus Milk Besiyerine aktarıldı. 37 ve 50°C'lerde inkübe edilerek asit, koagülasyon ve redüksiyon oluşumları takip edildi (2, 4). Bakteriyoskopi yapıldı. Morfolojileri ve saflıkları kontrol edildi.

#### İdentifikasyon:

a- Karbonhidrat reaksiyonları: APT Buyyondaki (1, 12) glukoz yerine % 0.5 oranında galaktoz, laktoz, sakkaroz, fruktoz ve glukoz ilave edilerek hazırlanan besi yerlerine izole edilen suş kültürlerinden ekimler yapıldı. İnkübasyon sonunda Andrade indikatörü ilave edilerek değerlendirildi.

b- Sütte şekillendirdikleri final asitlik: 100 ml. steril yağsız süte % 5 oranında Litmus Milk kültürlerinden ilave edilerek 37°C'de 24 ve 48 saat tutularak şekillenen asitlik laktik asit cinsinden saptandı.

c- Pastörizasyona dayanıklılık: Litmus Milk kültürleri 65°C ye ayarlanmış ben-mari içinde 30 dakika tutulduktan sonra, bu kültürlerden tekrar Litmus Milk besi yerine ekim yapılarak canlılıkları kontrol edildi.

#### Teknolojik uygulama:

En çok 8 S.H. asitlikte tam yağlı inek sütü 90°C'de 15-30 dakika ısıtılıp 45°C'ye soğutuldu (11, 15). Elde edilen *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşlarının 24 saatlik Litmus Milk kültürlerinden eşit miktarda ve % 2'şer hesabıyla süte inoküle edildi. 45°C'de, asitlik 40 S.H.'e ulaşana yani yoğurt oluşumuna kadar inkübe edildi. Termik şoktan sakınmak için (10) oda derecesinde bir saat tutulduk-

tan sonra, laktik bakterilerin gelişmelerini durdurmak amacıyla bir gece buz dolabında (+ 4°C ± 1) bekletildi. Hazırlanan bu ana kültürlerden normal sütü 45°C'de ençok üç saat içinde yoğurt haline getirebilecek aktiviteyi gösterene dek pasajlar yapıldı.

En iyi lezzet ve aromayı veren ve en yüksek aktiviteyi gösteren suşlardan hazırlanan kültürler, bir yoğurt imalathanesinde, normal imalat koşullarında, yoğurt yapımında denendi.

#### *Dayanıklılık testleri :*

- a. Suşlar tek ve miks olarak litmus milk besiyerinde ve,
- b- CaCO<sub>3</sub> ilave edilmiş litmus milk besi yerinde oda derecesi, buz dolabı (-4°C ± 1) ve deep freez (-20°C)'de bekletildi.
- c - Seçilmiş suşların tek ve miks 24 saatlik litmus milk kültürleri 1.5 ve 3'er ml. olarak steril şişelere steril odada taksim edildi.-40°C' de dondurulduktan sonra liyofilize edildi.
- d. Aynı işlem CaCO<sub>3</sub>'lı litmus milk kültürlerinde denedi.
- e. Seçilmiş suşların litmus milkteki 24 saatlik tek ve miks kültürleri % 20 kuru madde ve % 8 sakkaroz kapsayan steril konsantre süte % 4 oranında ilave edildi. 42°C'de koagülasyon şekillenene kadar inkübe edildi. % 1.5 sodyum glutamat ilave edilerek, steril şişelere, steril odada 1.5 ve 3'er ml. taksim edildi. - 40°C'de dondurulduktan sonra liyofilize edildi (8).

### **Sonuçlar**

1- Litmus milk'teki yoğurt kültürlerinin 37°C'deki pasajlarında streptokokların, 50°C'deki pasajlarında ise laktobasillerin hakim oldukları görüldü.

2. İzolasyon çalışmalarında kullanılan besi yerlerinden en iyi gelişmenin ve en yüksek populasyonun APT Agar'da görülmesi üzerine, çalışmada bu besi yeri kullanıldı.

3.57 yoğurt numunesinin 37°C'deki pasajlarından 342 streptokok ve 50°C'deki pasajlarından 342 laktobasil suşu ayrıldı. Bunlardan 15°C'de ürememeleri, karbonhidrat fermantasyonları, şekillendirdikleri final asitlik, 65°C'de 30 dakikalık ısıtmaya dirençleri göz önüne alınarak 121 *Streptococcus thermophilus* ve 94 *Lactobacillus bulgaricus* suşu saf olarak idantifiye edildi.

4. Bunlardan % 2'ser hesabıyla ve % 4 nispetinde süte ilave edildiğinde, ençok üçüncü pasajda, 45°C'de, 3 saatte yoğurdu oluşturabilecek şekilde yüksek aktivite gösteren ve teknolojik denemelerde en iyi lezzet ve aromayı veren 20 *Lactobacillus bulgaricus* ve 20 *Streptococcus thermophilus* suşu seçildi.

5- Dayanıklılık testlerinde:

a- Ayrılan suşların Litmus Milk ve CaCO<sub>3</sub>'lü litmus milk kültürlerinin oda derecesi, buzdolabı ve deep freez'de muhafazası sonunda 1-3 ay içinde aktivitelerini yitirdikleri saptandı.

b- Litmus milk ve CaCO<sub>3</sub>'lü litmus milk kültürlerinin liyofilizasyonu ile elde edilen toz kültürlerin aktivitelerinin üçüncü aydan itibaren zayıfladıkları, altıncı ayda aktivitelerini tamamen yitirdikleri görüldü. Özellikle *Lactobacillus bulgaricus*'ların altıncı ay sonunda canlılıklarını tamamen kaybettikleri saptandı.

c- Sakkarozlu konsantre süt kültürlerine sodyum glutamat ilavesiyle hazırlanan liyofilize kültürlerin altı ay sonunda aktivitelerini korudukları ve en geç altıncı pasaj sonunda aktif yoğurt mayası haline geldikleri saptandı.

6- Seçilmiş miks suşların taze litmus milk kültürlerinin imalathane koşullarında kolaylıkla yoğurt mayası haline getirilebileceği görüldü.

7- Konsantre süt ile hazırlanmış liyofilize kültürlerin altı ay sonunda dahi, imalathane koşullarında aktif hale getirilebilerek yoğurt mayası oluşturdıkları saptandı.

### Tartışma

Yoğurdu oluşturan mikroorganizmaların, literatürde belirtilen (2, 4, 15) morfolojik ve kültürel karakterleri, karbonhidrat reaksiyonları, sütte şekillendirdikleri final asitlik, pastörizasyona dirençleri idantifiye ettiğimiz *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşları ile mutlak bir uyum göstermektedir.

Ayrılan aktif suşlarla yapılan teknolojik denemeler başarılı sonuçlar vermiştir. Bu nedenle, miks suşların taze litmus milk kültürleri rahatlıkla yoğurt kültürü olarak kullanılabilir.

Dayanıklı kültür hazırlanmasında, uygulanan yöntemlerden yalnızca sakkaroz kapsayan % 20 kuru maddeli konsantre süt kültürüne sodyum glutamat ilavesiyle yapılan liyofilizasyon, başarılı sonuç ver-

miştir. Bu durum Gavin'in bulgularını (8) doğrulamaktadır. Bildirilen yöntemle hazırlanan kültürler imalathane koşullarında kolaylıkla aktive edilebilmekte ve yoğurt mayası haline getirilebilmektedir. Ayrıca bu kültürler en az altı ay süreyle kolayca saklanabilme özeliğine sahiptir.

Üretilen bu kültürler, yoğurt imalathanelerinin hizmetine sunulmuştur.

### Literatür

- 1- **Anonymous** (1969): *Difco Manuel of Dehydrated Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures*, Ninth Edit., Difco Laboratories Inc., Detroit.
- 2- **Breed, R.S.-Muray, E.G.D. and Smith, N.R.** (1957): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7 th Edit., Williams and Wilkins Co., Baltimor.
- 3- **Casalis, J.** (1975): *Facteurs Technologiques Influençant la Consistance, la Textüre, l' Arôme ou le Goût du Yaourt*, Ind. Alm. et Agric., 11 (1253-1262), "As quated" Le Lait, LVI, 558 (570), 1976.
- 4- **Davis, J. G.** (1966): *A Dictionary Dairyng*, 3. Edit., Leonard Hill Lim., London.
- 5- **Davis, J.G.** (1969): *Dairy and Ice Creem Industry*, Leonard Hill Lim., London.
- 6- **Dorner, W.-Demont, P. et Chavannes, D.** (1952): *Microbiologie Laitière*, Librairie Payot, Lausanne.
- 7- **Foster, E. M.-Nelson, F. E.-Speck, M.L.-Doetsch, R. N. and Olson, J.C.** (1957): *Dairy Microbiologie*, Pritice Hall Inc., New Jersey.
- 8- **Gavin, M.** (1969): *La Lyophilisation des cultures de yoghurt*, Le Lait, XLIX, (483-484) 146-159.
- 9- **Hammer, B.W. and Babel, F. J.** (1957): *Dairy Bacteriology*, 4 th. Edit., John Wiley and Sons Inc., New York.
- 10- **Jabarit, A.** (1968): *Influence de la Congelation et de la Cryo-desiccation sur la Taux du Survie et le Poucentage des Ferments Lactiques dans le Yaourt*, Le Lait, XLIX (483-484) 160-174.
- 11- **Jennes, R. and Patton, S.** (1959): *Principles of Dairy Chemistry*, John Wiley and Sons Inc., New York.

- 12- **Özer, İ.** (1964): *Türkiye Beyaz Peynirlerinin Olgunlaşmasında Rol Oynayan Laktik Asit Mikroflorası Üzerinde Araştırmalar*, A.Ü.Vet. Fak. Yay., 170/72, A.Ü.Vet. ve Zir.Fak. Basımevi, Ankara.
- 13- **Scharpe, M.É.** (1962): *Taxonomy of the Lactobacilli*, Dairy Sc. Abs., 24 (3) 109-118.
- 14- **Tekinşen, O.C.** (1976): *Yoğurt Yapımı*, Vet.Hek. Der. Derg., 46 (1-2-3) 29-36.
- 15- **Veisseyre, R.** (1966): *Techniques Laitières*, Deuxième Édition, La Maison Rustique, Paris.

Yazı 24.4.1978 günü alınmıştır.