

## YOĞURTTA MAYA VE KÜF GELİŞİMİNE KARŞI BİYOKORUYUCU KÜLTÜR KULLANIMI

### USE OF A BIOPRESERVATIVE CULTURE AGAINST YEAST AND MOULD GROWTH IN SET-TYPE YOGHURT

Asuman GÜRSEL<sup>1</sup>, Ebru ŞENEL<sup>1</sup>, Şenay YAMAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü 06110 Dışkapı Ankara

<sup>2</sup>T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Yenimahalle / Ankara

**ÖZET:** Bu çalışmada, biyokoruyucu ticari bir kültürün yoğurttaki maya ve küf gelişimine karşı etkileri ayrı ayrı denenmiştir. Bu amaçla, *Kluyveromyces lactis* H-8583 veya *Geotricum candidum* 1 suşlarından test mikroorganizmaları olarak yararlanılmıştır. Ticari 10 yoğurt örneği ile yürütülen mikrobiyolojik sayım sonuçları esas alınarak, *Kluyveromyces lactis* suşunun  $10^5$  kob/ml ve *Geotricum candidum* suşunun  $10^4$  kob/ml düzeylerinde yoğurt sütüne aşılmasına karar verilmiştir. Yoğurt sütü ısıtma işlemi uygulandıktan sonra beş kısma ayrılmış ve birinci kısım referans örneğin yapımında kullanılmıştır. Diğer dört kısım süt örneğine kontaminant mikroorganizma aşılmıştır. Bunlardan da bir kısım süt kontrol örneği olarak kullanılmış, diğer üç kısım süt örneğine sırasıyla 1, 5 ve 10 ünite düzeylerinde koruyucu kültür aşılmıştır. Ayrıca, tüm süt örneklerine %2 oranında yoğurt starter kültürü de inoküle edilmiştir. Örnekler  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de pH 4.7'ye kadar fermentasyona bırakılmıştır. Soğukta depolamanın 1., 7. ve 15. günlerinde yoğurt örneklerinde maya veya küf sayısı ile yoğurt bakterilerinin sayısı belirlenmiştir. Biyo profit koruyucu kültürünün *Kluyveromyces lactis* H-8583 veya *Geotricum candidum* 1 suşları üzerinde bakteriyostatik bir etki yarattığı görülmüştür. Denemeye alınan maya veya küfün yoğurttaki gelişimine karşı 5 ünite koruyucu kültür kullanımının 1 ve 10 ünite kullanımına göre daha etkili olduğu anlaşılmıştır. Biyo profit koruyucu kültürü yardımıyla *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşunun 7 gün, *Geotricum candidum* 1 suşunun ise 15 gün süreyle etkili bir şekilde inhibe edilebileceği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Biyokoruma, yoğurt, maya/küf gelişimi

**ABSTRACT:** In the present study, the commercial biopreservative culture "Bio Profit" was tested against yeast or mould growth in set-type yoghurt. Strains of *Kluyveromyces lactis* and *Geotricum candidum* were used as test organisms separately in the experiments. Yoghurt milk, following heat treatment, was divided into five parts and the first one was used for the production of reference sample. The remaining four parts were inoculated with *Kluyveromyces lactis* H-8583 or *Geotricum candidum* 1 to give the concentrations of  $10^5$  cfu/ml and  $10^4$  cfu/ml, respectively. Biopreservative culture was also added to the three of those parts at levels of 1, 5 and 10 units, respectively. All parts of the milk were inoculated with 2% of yoghurt starter culture and fermented at  $42^\circ\text{C}$  until pH 4.7. The counts of yeast/mould and yoghurt bacteria were determined on days 1, 7 and 15 in the samples stored at  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ . The biopreservative culture has been shown to have a bacteriostatic effect on the growth of *Kluyveromyces lactis* H-8583 or *Geotricum candidum* 1 in yoghurt. With the level of 5 units per 50 l of milk, both of the test organisms inhibited the contaminant microorganisms more effectively than with the level of 1 or 10 units. But the protective effect of the culture was no longer than 7 days against *Kluyveromyces lactis* H-8583 and than 15 days against *Geotricum candidum* 1.

**Key words:** Biopreservation, set-type yoghurt, yeast/mould growth

## GİRİŞ

Maya ve küfler doğada yaygın olarak dağılım gösteren mikroorganizmalardır. Bunların birçoğu düşük pH değerlerinde varlıklarını koruyabilmekte, sakaroz ya da laktozdan enerji kaynağı olarak yararlanabilmektedir. Bu nedenle yoğurt ve benzeri fermente ürünler maya ve küflerin gelişimine uygun ortamlardır. Yoğurttaki maya ve küflerin varlığı kötü üretim koşullarının bir göstergesi sayılmaktadır. Üretimin çeşitli aşamalarında havadan yoğurda kolayca bulaşan maya ve küfler depolama sırasında sayıca artış göstererek kaliteyi olumsuz yönde etkilemekte ve ürünün raf ömrünü azaltmaktadır. Yoğurdun yüzeyinde zar benzeri yoğun bir kabuk oluşumu, mayamsı ve meyvemsi tat ve koku gelişimi ve gaz oluşumu bu kontaminantların yol açtığı başlıca kusurlardır (Soulides 1956, Sousa and Uden 1958, Rasic and Mitic 1962, Tamime and Robinson 1985). Ayrıca küfler oluşturdukları sekonder metabolizma ürünlerinin toksik etkilerine bağlı olarak insan sağlığını *Listeria*, *Salmonella* gibi patojen bakterilerden daha ciddi boyutlarda etkileyebilmektedir (Topal 1984, Anonymous 1990).

Aşağıdaki çizelgede yoğurdun mikroflorasında kontaminant olarak sıklıkla karşılaşılabilen maya ve küflere yer verilmiştir.

Çizelge 1. Yoğurdun mikroflorasında kontaminant olarak bulunduğu saptanan maya ve küfler

	Mikroorganizma	Kaynak
Mayalar	<i>Candida pseudotropicalis</i>	Soulides 1956; Uden and Sousa 1957,
	<i>Candida crusei</i>	Sousa and Uden 1958
	<i>Candida mycoderma</i>	Sousa and Uden 1958
	<i>Candida pelliculosa</i>	Sousa and Uden 1958
	<i>Candida intermedia</i>	Tilbury, Davis, French, Imrie, Campbell-Lent and Orbell 1974
	<i>Candida lusitaniae</i>	Tilbury et al 1974
	<i>Candida rugosa</i>	Green and Ibe 1987
	<i>Candida famata</i>	Green and Ibe 1987
	<i>Candida diffluens</i>	Fleet and Mian 1987
	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Fleet and Mian 1987
	<i>Saccharomyces cerevisia</i>	Fleet and Mian 1987
	<i>Hansenula anomala</i>	Green and Ibe 1987; Fleet and Mian 1987
	<i>Torulopsis candida</i>	Tilbury et al 1974
	<i>Torulopsis versatilis</i>	Tilbury et al 1974
Küfler	<i>Geotricum candidum</i>	Rasic and Mitic 1962
	<i>Rhodotorula rubra</i>	Canganella, Zirletta, Sarra, Massa and Trovatelli 1992
	<i>Penicillium frequentans</i>	Canganella et al 1992
	<i>Penicillium cyclopium</i>	Canganella et al 1992
	<i>Aspergillus spp.</i>	Green and Ibe 1987
	<i>Neurospora spp.</i>	Green and Ibe 1987

Satış noktasında, yoğurttaki canlı maya sayısının mililitrede 100'ü aşmaması gerekmekte ve maya sayısı 1000'nin üzerine çıktığında tüketiciler tarafından duyuşal açıdan "tatminkar" bulunmamaktadır (Davis, Ashton and McCaskill 1971). Yine satış noktasında küf sayısı 1-10 kob/ml olan bir yoğurdun kalitesi "şüpheli" olarak değerlendirilmektedir (Robinson and Tamime 1981). Ancak ticari yoğurt örneklerinin mikrobiyolojik niteliğini ortaya koymaya yönelik çalışmalar bu örneklerin gramında  $1 \times 10^3$  -  $6 \times 10^6$  arasında değişen miktarlarda maya ya da küf bulunduğunu göstermektedir (Uden and Sousa 1957, Arnott, Duitschaever and Bullock 1974, Duru ve Özgüneş 1981, Green and Ibe 1987, Fleet and Mian 1987).

Son yıllarda gıdalarda gelişmesi istenmeyen mikroorganizmalara karşı "doğal koruyucu" maddeleri kullanma eğiliminin giderek arttığı gözlenmektedir. Antibakteriyel etkiye sahip olduğu bilinen bazı mikroorganizmalar ya da bunların ürettikleri metabolik ürünler "doğal koruyucu" maddeler olarak kabul edilmekte ve gıdaların doğal yolla korunmasını sağlayabilmektedir (Klaenhammer 1988, Daeschel 1989, Marug 1991, Earnshaw 1992, Abee, Krockel and Hill 1995, Stiles 1996). Bu mikroorganizmalar arasında sütte bulunan *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* cinsi bakterilerle süt kökenli propiyonik asit bakterileri önemli bir yer tutmaktadır. Bunlar tarafından üretilen organik asitler, diasetil, hidrojen peroksit ve/veya düşük molekül ağırlıklı bakteriyosinler yardımıyla istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi kontrol altına alınabilmektedir (Klaenhammer 1988, Daeschel 1989, Lyon and Glatz 1991, Piard and Desmazeaud 1991, Piard and Desmazeaud 1992, Earnshaw 1992, Lyon, Sethi and Glatz 1993, Sarkar and Misra 1995).

Antibakteriyel madde ürettikleri bilinen mikroorganizmalar kombine hale getirilmek suretiyle etkinlikleri ve antibakteriyel spektrumları artırılabilir (Hanlin, Kalchayanand, Ray and Ray 1993). Bu konuda Suomalainen and Mayra-Makinen (Anonymous'dan 1996) tarafından yürütülen bir çalışmada, antifungal etkiye

sahip olduğu bilinen *Lactobacillus rhamnosus* Lc 705 suşunun tek başına kullanılması halinde *Penicillium* sp.114 suşunda % 7.1, *Aspergillus niger* L22 suşunda % 36.1, *Fusarium culmorum* FH1 suşunda %85.7 oranında inhibisyon sağlandığı, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS ile kombine hale getirildiğinde ise inhibitör etkisinin sırasıyla %57, %72 ve %99'a artırılabilirdiği saptanmıştır. Bu çalışmanın ardından iki bakterinin kombinasyonu "Biyo profit" adı altında ticari preparat haline getirilmiştir.

Biyo profit spor oluşturan bakteriler (*Bacillus*, *Clostridia* türleri), heterofermantatif laktobasiller ve bir dereceye kadar da koliform bakteriler ve enterokoklar üzerinde inhibitör etki göstermekte, maya ve küfleri de inhibe etmektedir (Anonymous 1996, Hansen 1997). İnhibisyon etkisi mikroorganizma türüne ve suşuna bağlı olarak değişmektedir.

Biyo profit'in etki şekli henüz tam olarak açıklığa kavuşturulmamıştır. Bu kültür L(+) tipi laktik asit, asetik asit ve propiyonik asit ile az miktarda diasetil ve diğer organik asitleri üretmektedir (Anonymous 1996). Söz konusu bu metabolik ürünlerin antimikrobiyel etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Jay 1982, Piard and Desmazeaud 1991, Earnshaw 1992). Diğer taraftan, Quarg peynirine % 0.1 oranında Biyo profit katılarak 5 hafta süreyle depolama sonunda oluşan asetik asit (36 mg/100 g) ve propiyonik asit (<0.5 mg/100 g) steril filtrasyon yoluyla kültürden ayrılarak tek başlarına kullanıldıklarında, inhibisyon etkilerinde bir azalma olduğu saptanmıştır (Anonymous 1996). Bu nedenle inhibisyonun yalnızca organik asitler ve diasetilden ileri gelmediği, kültürün hücre substansının da inhibitör etkiye sahip olduğu ve hep birlikte koruyucu etki sağladıkları öne sürülmektedir.

Ülkemizde, yoğurdun açıkta üretilmesine bağlı olarak maya ve küfle bulaşmanın büyük bir sorun teşkil ettiği bilinmekte ve natamisin, sorbat, benzoat gibi antimikrobiyel ve antifungal maddeler üreticiler tarafından maya ve küf gelişimini dolayısıyla oluşturdukları zararları önlemek amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ancak, bu maddelerin sağlık açısından sakıncaları bulunabilmekte ve kullanımlarına birçok ülkede olduğu gibi Türkiye'de de yasal olarak izin verilmemektedir. Bu çalışmada, yoğurdun mikrobiyel florasında kontaminant olarak bulunabilen *Kluyveromyces lactis* ve *Geotricum candidum* mikroorganizmalarının gelişimine karşı doğal yolla koruma sağlamak üzere Biyo profit koruyucu kültürünün etkisi araştırılmış, ayrıca yoğurt bakterileri üzerindeki olası etkisi de ortaya konmaya çalışılmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Yoğurt örneklerinin yapımında, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Hayvancılık İşletmesinden sağlanan inek sütü kullanılmıştır. Sütün kurumadde standardizasyonu Enka Süt ve Gıda Mamülleri Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Konya)'den sağlanan yağsız süttezu ile yapılmıştır. "Yoghurt 709" kodlu DVS formundaki yoğurt starter kültürü ile *Lactobacillus rhamnosus* Lc 705 ve *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS suşlarının karışımından oluşan Biyo profit koruyucu kültürü Wiesby (Germany) firmasından temin edilmiştir. Yoğurt sütüne kontaminant olarak aşılana *Geotricum candidum* 1 Peyma-Chr. Hansen's Peynir Mayası San. ve Tic. Aş. (İstanbul) firmasından, *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşu ise Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan sağlanmıştır.

### Yöntem

**Maya ve küf mikroorganizmalarının seçimi ve geliştirilmesi :** Yoğurt sütüne kontaminant olarak aşılana maya ve küf düzeylerinin saptanmasında, yaz aylarında Ankara piyasasında satışa sunulan 10 adet yoğurt örneğinin tarafımızca yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçları esas alınmıştır. Maya ve küf türlerinin seçiminde ise, yoğurtta bulunabilen türler ve bunların temin edilebilme durumu kriter alınmıştır.

Kontaminant maya olarak yararlanılan *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşu önce selektif besi ortamında geliştirilerek en yüksek hücre sayısına erişmesi sağlanmıştır. Bunun için, stok kültürden selektif besiyeri olan Yeast Pepton Glikoz (YPG) sıvı ortamına aşılama yapılmış ve 36°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Besiyerinde gelişen mikroorganizma sayısı Thoma lamı yardımıyla saptanmış (Temiz 1996) ve maksimum hücre sayısına 5 gün sonunda ulaşıldığı belirlenmiştir. Daha sonra maya hücrelerinin sütün karbonhidratı olan laktoza alıştı-

rılması amacıyla, proteini çöktürülmüş sütle YPG'nin farklı miktarlardaki karışımlarından oluşan besiyerlerine pasajlar yapılmıştır (Özçelik, Molavi ve Balk 1994). Son olarak, yalnızca süt içeren besi ortamına aşılama mikrorganizmaların gelişimi Thoma lamı ile izlenerek 50 litre yoğurt sütüne  $10^5$  kob/ml olacak şekilde aşılama yapılmıştır. Maya hücrelerinin geliştirilmesinde izlenen yol aşağıda şema halinde verilmiştir (Şekil 1).

Küf kontaminantı olan *Geotricum candidum* 1 suşu mililitresinde  $8 \times 10^7$  kob/ml canlı hücre bulunduran sıvı kültür formunda olduğundan, bu kültürden direk olarak 50 litre yoğurt sütüne,  $10^4$  kob/ml canlı hücre içerecek şekilde, inokülasyon yapılmıştır.

**Yoğurt örneklerinin üretimi:** Yoğurt örnekleri, kontaminant mikroorganizmaları süte ayrı ayrı aşılama suretiyle üretilmiştir. Denemeler iki tekerrürlü olarak, aynı günde ve aynı orijinli süt kullanımıyla yürütülmüştür. Çiğ süt süzöldükten sonra kurumadde oranı yönünden standardize edilmiş ve tankta  $85^\circ\text{C}$ 'de 20 dakika ısıtılma tabi tutulmuştur. Isıl işlem uygulamasından sonra  $43 \pm 1^\circ\text{C}$ 'ye kadar soğutulan süt beş kısma ayrılmış ve bunlardan birinci kısım referans yoğurt örneğinin üretiminde kullanılmıştır. Referans yoğurt, kıyaslama örneği olmak üzere üretilmiştir. Diğer dört kısım süt örneğine kontaminant mikroorganizma inoküle edilmiştir. Bunlardan da bir kısım süt kontrol örneğini oluşturmuş, kalan üç kısım süt örneğine ise üç farklı konsantrasyonda koruyucu kültür aşılanmıştır. Ayrıca tüm süt örneklerine % 2 oranında yoğurt starter kültürü de inoküle edilmiştir. Örnekler  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de pH 4.7'ye kadar inkübe edildikten sonra hızla soğutularak  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de depolanmış ve 1., 7. ve 15. günlerde analize alınmıştır.

Mikrobiyolojik sayım için, ağız kapaklı 200 gramlık plastik kaplarda depolanan yoğurt örneklerinden aseptik koşullarda 10 g örnek alınmış ve aseptik koşullarda 90 ml Ringer çözeltisi içerisine aktarılmıştır. Daha sonra bu karışımdan uygun seyreltmeler yapılmıştır. Maya ve küf sayısının belirlenmesinde Potato Dextrose Agar besiyeri kullanılmış, ekim yapılan petriyeler,  $25^\circ\text{C}$ 'de 5 gün süreyle inkübe edilmiştir (Frank, Christen and Bullerman 1993). Yoğurt bakterileri LAPT besiyerinden yararlanılarak  $37^\circ\text{C}$ 'de 48 saatlik inkübasyon süresinin sonunda sayılmıştır (Portillo, Amoroso and Oliver 1988).

**SONUÇ ve TARTIŞMA**

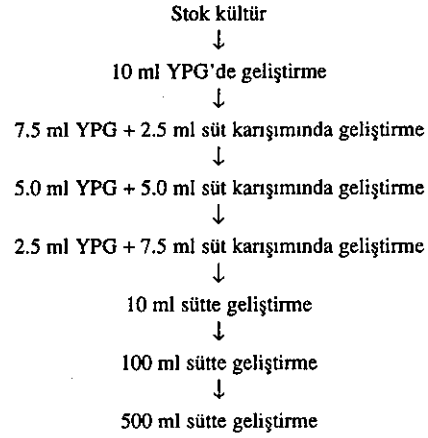
Yoğurtta *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşunun gelişimine karşı Biyo profit koruyucu kültürünün etkisini ortaya koymak amacıyla 15 günlük depolama döneminde örneklerin maya sayısında belirlenen değişimler Çizelge 2' de gösterilmiştir. Koruyucu kültürün yoğurt starter bakterilerine karşı muhtemel etkisini ortaya koymak amacıyla, bu bakterilerin sayısındaki değişimler de belirlenmiş ve sayım sonuçlarına Çizelge 2'de yer verilmiştir.

## SONUÇ ve TARTIŞMA

Yoğurtta *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşunun gelişimine karşı Biyo profit koruyucu kültürünün etkisini ortaya koymak amacıyla 15 günlük depolama döneminde örneklerin maya sayısında belirlenen değişimler Çizelge 2' de gösterilmiştir. Koruyucu kültürün yoğurt starter bakterilerine karşı muhtemel etkisini ortaya koymak amacıyla, bu bakterilerin sayısındaki değişimler de belirlenmiş ve sayım sonuçlarına Çizelge 2'de yer verilmiştir.

Çizelge 2'nin incelenmesinden, referans örnekte depolamanın hiçbir döneminde koloni gelişimi olmadığı görülmektedir. Bu bulgu, yoğurt üretiminin hijyenik koşullarda yapılmasının ve daha sonra ürünün bulaşmaya meydan vermeyecek şekilde saklanması önemini açığa vurmaktadır.

Maya ile kontamine edilen örneklere gelince, bunlardan koruyucu kültür katkılı olanlarda kontrol örneğine göre daha az sayıda maya bulunduğu saptanmıştır. Koruyucu kültürün 1, 5 ve 10 ünitelik seviyeleri *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşunun gelişimi üzerinde başlangıçta sırasıyla %46.19, %46.3 ve %68.82; 15. günde de sırasıyla %35.48, %87.1 ve %41.94 oranlarında inhibisyon sağlamıştır.



Şekil 1. *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşunun geliştirilmesinde izlenen aşamalar

Çizelge 2. Referans, maya ile kontamine edilen, maya kontaminantı ve koruyucu kültür katılan yoğurt örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçları (adet/g)<sup>1)</sup>

Örnekler	Depolama süresi (gün)					
	1		7		15	
	Maya	Yoğurt bakt.	Maya	Yoğurt bakt.	Maya	Yoğurt bakt.
Referans	2)	9 x 10 <sup>6</sup>	2)	35 x 10 <sup>7</sup>	2)	18.75 x 10 <sup>7</sup>
Maya kontamine edilen (Kontrol)	433 x 10 <sup>3</sup>	7 x 10 <sup>6</sup>	130 x 10 <sup>4</sup>	21.5 x 10 <sup>7</sup>	155 x 10 <sup>5</sup>	15 x 10 <sup>7</sup>
Maya kontaminantı ve 1 ünite koruyucu içeren	233 x 10 <sup>3</sup>	5.9 x 10 <sup>6</sup>	18 x 10 <sup>4</sup>	21.2 x 10 <sup>7</sup>	100 x 10 <sup>5</sup>	11 x 10 <sup>7</sup>
Maya kontaminantı ve 5 ünite koruyucu içeren	232.5 x 10 <sup>3</sup>	7.2 x 10 <sup>6</sup>	24 x 10 <sup>4</sup>	22 x 10 <sup>7</sup>	20 x 10 <sup>5</sup>	16 x 10 <sup>7</sup>
Maya kontaminantı ve 10 ünite koruyucu içeren	135 x 10 <sup>3</sup>	7 x 10 <sup>6</sup>	100 x 10 <sup>4</sup>	26 x 10 <sup>7</sup>	90 x 10 <sup>5</sup>	28 x 10 <sup>7</sup>

1) Çizelgedeki değerler iki tekerrürün ortalamasıdır.

2) Koloni gelişimi saptanmamıştır.

Depolamanın 1. gününde koruyucu kültür katılı örnekler arasında, kültür seviyesindeki artışa paralel bir inhibisyon etkisi sağlanmıştır. Fakat, daha sonraki dönemlerde, koruyucu kültür seviyesinin 5 ünitenin üzerine çıkarılmasının maya gelişiminin engellenmesi bakımından fazla bir yarar sağlamadığı dikkati çekmiştir. Depolama süresindeki ilerleme ile birlikte örneklerin maya sayıları da artış göstermiş ve 15. gün sonunda koruyucu kültür katılı örneklerin tümünün yoğurt sütüne aşılardan hücre sayısından daha fazla sayıda maya bulunduğları görülmüştür.

Koruyucu kültür kullanımının yoğurta *Geotricum candidum* 1 suşunun gelişimine karşı etkisinin araştırıldığı diğer denemenin sonuçları da Çizelge 3'de sunulmuştur.

Bu denemede de, referans örnekte herhangi bir küf gelişimi saptanmamıştır. Bu durum hijyenik koşulların önemini birkez daha gözler önüne sermekte ve üretim, depolama ve dağıtım aşamalarında hijyenik koşullara dikkat edildiği takdirde herhangi bir koruma yöntemine gerek duyulmayacağını açıkça göstermektedir.

Kontrol örneği ile koruyucu kültür katılı örneklerin küf sayıları karşılaştırıldığında, koruyucu kültürün *Geotricum candidum* 1 suşunun gelişimine karşı engelleyici bir etki yaptığı görülmüştür. Depolamanın başlangıcında en fazla inhibisyon koruyucu kültürün 1 ünite düzeyinde kullanımı ile sağlanmış, bunu sırasıyla koruyucu kültürün 5 ve 10 ünite düzeylerinde kullanıldığı örnekler izlemiştir.

Depolamanın 7. gününde *Geotricum candidum* 1 suşunun gelişimine karşı en etkili koruyucu seviyesinin 5 ünite olduğu belirlenmiştir. Koruyucu kültürün 10 ve 1 ünite düzeylerinde kullanımı 5 ünitelik kullanıma göre daha düşük oranda inhibisyon sağlamıştır.

Çizelge 3. Referans, küfle kontamine edilen, küf kontaminantı ve koruyucu kültür katılan yoğurt örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçları (adet/g)<sup>1)</sup>

Örnekler	Depolama süresi (gün)					
	1		7		15	
	Küf	Yoğurt bakt.	Küf	Yoğurt bakt.	Küf	Yoğurt bakt.
Referans	2)	26 x 10 <sup>7</sup>	2)	22 x 10 <sup>7</sup>	2)	15.5 x 10 <sup>7</sup>
Küf kontamine edilen (Kontrol)	10 x 10 <sup>2</sup>	24 x 10 <sup>7</sup>	115 x 10 <sup>2</sup>	23.5 x 10 <sup>7</sup>	282.5 x 10 <sup>3</sup>	18 x 10 <sup>7</sup>
Küf kontaminantı ve 1 ünite koruyucu içeren	2.5 x 10 <sup>2</sup>	26 x 10 <sup>7</sup>	70 x 10 <sup>2</sup>	18 x 10 <sup>7</sup>	170 x 10 <sup>3</sup>	20.8 x 10 <sup>7</sup>
Küf kontaminantı ve 5 ünite koruyucu içeren	4 x 10 <sup>2</sup>	34 x 10 <sup>7</sup>	20 x 10 <sup>2</sup>	17 x 10 <sup>7</sup>	9 x 10 <sup>3</sup>	22.5 x 10 <sup>7</sup>
Küf kontaminantı ve 10 ünite koruyucu içeren	5 x 10 <sup>2</sup>	36.5 x 10 <sup>7</sup>	50 x 10 <sup>2</sup>	67.5 x 10 <sup>3</sup>	18 x 10 <sup>3</sup>	15 x 10 <sup>7</sup>

1) Çizelgedeki değerler iki tekerrürün ortalamasıdır.

2) Koloni gelişimi saptanmamıştır.

Depolamanın 15. gününde de benzeri değişimler gözlenmiş ve en düşük küf sayısı yine 5 ünite koruyucu kültür kullanımı ile elde edilmiştir. Bu dönemde koruyucu kültürün 1 ünitelik düzeyi küf gelişimini yeterince engelleyememiş ve küf içeriği bakımından koruyucu kültür katkılı diğer örneklerle arasındaki farklılık büyümüştür.

Mevcut araştırma bulgularına göre, Biyo profit koruyucu kültürünün yoğurttaki *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşunun gelişimini engelleyici etkisinin, *Geotricum candidum* 1 suşuna karşı olan etkisinden daha kısa süreli olduğu anlaşılmaktadır. Bu durum, Biyo Profit koruyucu kültürünün inhibisyon etkisinin mikroorganizma tür ve suşlarına göre değişebilmesinden (Anonymous 1996) kaynaklanmaktadır.

Yoğurt starter bakterilerinin her iki denemedeki sayım sonuçlarından (Çizelge 2 ve Çizelge 3) koruyucu kültürün laktik bakteriler üzerinde herhangi bir antagonistik etki yaratmadığını söylemek mümkündür.

Maya ve küf gelişimine karşı Biyo profit koruyucu kültürünün etkisinin, ayrı ayrı, referans yoğurt örneği ile karşılaştırılmalı olarak incelendiği bu araştırmanın sonuçlarına göre;

- Koruyucu kültür hem *Kluyveromyces lactis* H-8583 hem de *Geotricum candidum* 1 suşları üzerinde bakteriyostatik bir etki yaratmıştır.
- Yoğurt örneklerinin maya ve küf içeriklerindeki azalma koruyucu kültür seviyesindeki artışa bağlı bir değişim göstermemiş, en yüksek koruyucu etkiyi kültürün 5 ünite düzeyinde kullanımı sağlamıştır.
- Koruyucu etki uzun süreli olmamış, *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşunun gelişimi 7 gün, *Geotricum candidum* 1 suşunun gelişimi ise 15 gün süreyle yeterli düzeyde önlenebilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Abee T, Krockel L and Hill C. 1995. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Int. J. Food Microbiol.*, 28: 169-185.
- Anonymous. 1990. Moulds are not to be taken lightly. *Dairy Sci. Abstr.*, 55: 616.
- Anonymous. 1996. Bio Profit. Application and effects. Product information. Wiesby GmbH and Co. KG, Gotteskoogstrasse 40-42, D-25899, Niebüll, Germany.
- Arnott D R, Duitschaever L and Bullock, D H. 1974. Microbiological evaluation of yoghurt produced commercially in Ontario. *J. Milk, Food Technol.*, 37: 11-13.
- Canganella F, Zirletta G, Sarra P G, Massa S and Trovatelli, L D. 1992. Changes of microflora in different types of yogurt during the commercial time of storage at +4°C. *Microbiologie-Aliments-Nutrition*, 10: 327-332.
- Daeschel M. 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technol*, 42:164-167.
- Davis J G, Ashton T R and McCaskill M. 1971. Enumeration and viability of *L.bulgaricus* and *Str. thermophilus* in yogurts. *Dairy Ind.*, 36: 569-573.
- Duru S ve Özgüneş T. 1981. Ankara piyasasında satılan ayran ve yoğurt örneklerinin hijyenik kaliteleri üzerinde araştırmalar. *Gıda*, 6: 19-23.
- Earnshaw R G. 1992. The antimicrobial action of lactic acid bacteria: Natural preservation systems. In "The Lactic Acid Bacteria: Vol 1. The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease". Ed. B. J. B. Wood. Elsevier Science Publishers Ltd., Crown House, Linton Road, Barking, Essex IG11 8JU, England.
- Fleet G H and Mian M A. 1987. The occurrence and growth of yeasts in dairy products. *Int. J. Food Microbiol.*, 4: 145-155.
- Frank J F, Christen, G L and Bullerman L B. 1993. Tests for group of microorganisms. In: "Standard Methods for the Examination of Dairy Products", pp.271-286. American Public Health Association, 1015 Fifteenth St., NW Washington DC 20005.
- Green M D and Ibe S N. 1987. Yeasts as primary contaminants in yoghurts produced commercially in Lagos, Nigeria. *J. Food Protec.*, 50: 1193-198.
- Hanlin M B, Kalchayanand N, Ray P and Ray B. 1993. Bacteriocins of lactic acid bacteria in combination have greater antibacterial activity. *J. Food Protec.*, 56: 252-255.
- Hansen S L. 1997. Protective cultures for cheese. *Meieriposten*, 86: 261-262.
- Jay J M. 1982. Antimicrobial properties of diacetyl. *Appl., Environ. Microbiol.*, 44: 525-532.
- Klaenhammer T R. 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70: 337- 349.
- Lyon W J and Glatz, B A. 1991. Partial purification and characterization of a bacteriocin produced by *Propionibacterium thoenii*. *Appl., Environ. Microbiol.*, 57: 701-706.
- Lyon W J, Sethi J K and Glatz B A. 1993. Inhibition of psychrotrophic organisms by propionicin PLG-1, a bacteriocin produced by *Propionibacterium thoenii*. *J.Dairy Sci.*, 76: 1506-1513.
- Marug J D. 1991. Bacteriocins, their role in developing natural products. *Food Biotechnol.*, 5: 305-312.

- Özçelik F, Molavi S S ve Balk M. 1994. Peynialtı suyundan etil alkol üretiminde laktoz konsantrasyonunun fermentasyon üzerine etkisi. *Gıda*, 19: 45-48.
- Piard J C and Desmazeaud M. 1992. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. Bacteriocins and other antibacterial substances. *Lait*, 72: 113-142.
- Piard J C and Desmazeaud M. 1991. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 1. Oxygen metabolites and catabolism end-products. *Lait*, 71: 525-541.
- Portillo M C Peral De, Amoroso M J and Oliver G. 1988. Culture medium for the differential enumeration of lactic acid bacteria in yoghurt. *Milchwissenschaft*, 43: 490-491.
- Rasic J Lj and Mitic S. 1962. Study of yoghurt microflora. *Dairy Sci. Abstr.*, 25: 286.
- Robinson R K and Tamime A Y. 1981. Microbiology of fermented milks. In :*"Dairy Microbiology. Vol 2. The Microbiology of Milk Products"*. pp. 245-278. Ed. R.K.Robinson. Applied Sci. Publishers Ltd., Ripple Road, Barking, Essex, England.
- Sarkar S and Misra A K. 1995. Recent trends in utilization of Propionibacterium- A review. *J. Dairying, Foods and Home Sci.*, 14: 11-16.
- Soulides D A. 1956. Lactose-fermenting yeasts in yoghurt and their effect upon the product and the bacterial flora. *Dairy Sci. Abstr.*, 19: 136.
- Sousa L Do C and Van Uden N. 1958. Studies on the contamination of yoghurt by yeasts. *Dairy Sci. Abstr.*, 21: 313-314.
- Stiles M E. 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70: 331-345.
- Tamime A Y and Robinson R K. 1985. *Yoghurt: Science and Technology*. Pergamon Press Ltd., Headington Hill Hall, Oxford OX3 OBW, England. p.431.
- Temiz A. 1996. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatipoğlu Yayınları: 96, Yükseköğretim Dizisi: 29. Hatipoğlu Basım ve Yayım San. Tic. Ltd. Sti., Mareşal Fevzi Çakmak Cad. 64/C, 06500 Beşevler, Ankara. s.274.
- Tilbury R H, Davis J G, French S, Imrie F K E, Campbell-Lent K and Orbell C. 1974. Taxonomy of yeasts in yoghurts and other dairy products. *Dairy Sci. Abstr.*, 38: 196.
- Topal \_ . 1984. Gıda maddelerinden ayrılan (izole edilen) ve tanıyan (identifiye edilen) küfler üzerinde araştırmalar. *Gıda*, 9: 253-261.
- Van Uden N and Sousa L Do C. 1957. Presumptive tests with liquid media for coliform organisms in yoghurt in the presence of lactose fermenting yeasts. *Dairy Ind.*, 22: 1028-1029.