

## KÖY VE KASABA YOGURT'LARINDAN İZOLE EDİLEN *Lactobacillus bulgaricus* SUŞLARININ METABOLİK VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

### STUDYING OF METABOLIC AND ANTIMICROBIAL ACTIVITES OF *Lactobacillus bulgaricus* STRAINS ISOLATED FROM TOWN AND VILLAGE YOGHURT

Belma ASLİM, Yavuz BEYATLI

Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, ANKARA

**ÖZET:** Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan yoğurt örneklerinden 81 adet *Lactobacillus* suşu izole edilmiştir. İdentifikasiyon testleri sonucu, 73 adet *Lactobacillus bulgaricus* suşu teşhis edilmiştir. İdentifiye edilen suşların yüzde asitliği 0.64-2.34, proteolitik aktiviteleri 0.007-1.273 mg tirosin/ml, asetaldehit üretimleri de 1.95-12.59 µg/ml arasında tespit edilmiştir. Ayrıca suşların inhibisyon etkileri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* koagulaz (+) ve (-) test bakterileri üzerinde araştırılmıştır. Suşların test bakterileri üzerinde sıra ile yarı çapı 3.2-19 mm 3.2-17 mm ve 3-19.2 mm'lik inhibisyon zonları oluşturduğu belirlenmiştir.

**ABSTRACT:** Yoghurt samples were obtained from different regions of Turkey 81 *Lactobacillus* strains have been isolated and identification results showed that 73 strains belong to *Lactobacillus bulgaricus*. Amount of total acidity, proteolytic activity and acetaldehyde production by the identified strains were ranged between 0.64-2.34%, 0.007-1.273 mg tirosin/ml and 1.95-12.59 µg/ml respectively. Antimicrobial activities of the strains were applied on test bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* coag. (+) and (-). The strains were inhibited test bacteria by the half diameter of inhibition zones ranged between 3.2-19 mm, 3.2-17 mm and 3-19.2 respectively.

#### GİRİŞ

Süt endüstrisinde kullanılan *L.bulgaricus* suşlarının metabolik aktiviteleri (laktik asit, asetaldehit ve proteolitik aktivite) süt ürünlerinin oluşmasında önemli rol oynarlar (ZAURARI ve ark., 1992; RASIC ve KURMAN, 1978; BOUTISTA ve ark., 1966; VEDAMUTHU, 1991). Ürünün kalitesi bakımından bu suşların starter olarak seçiminde metabolik aktivitelerinin belirli bir düzeyde olması göz önünde tutulmaktadır.

Fermente süt ürünlerini yapımında starter olarak kullanılan laktik asit bakteri kültürlerinin, hızlı asit üretmesi, proteolitik aktivite ve tat oluşumunda etkili olan asetaldehit miktarlarının arzulanan seviyede olması tercih edilir (VEDAMUTHU, 1991; SING ve CHOPRA, 1982). Bu sebepten, son yıllarda laktik asit bakterilerinden metabolik aktivite bakımından üstün suşlar elde edebilmek için, genetik çalışmalarına ağırlık verilmiştir (SING ve CHOPRA, 1982; KOK ve VENEMA, 1988; SING ve RANGNATHAN, 1977). Ancak, yapılan bazı çalışmalarda yüksek metabolik aktiviteye sahip mutant suşların zaman içinde bu özelliklerini kaybettikleri belirlenmiştir (SING ve RANGANATHAN, 1978; KUIL ve ark., 1971; OBERMAN ve ark., 1983; ASLIM ve BEYATLI, 1996).

Fermente süt ürünlerinin üretiminde gelişen patojen ve kontaminat mikroorganizmalar, ürününün tat ve kalitesini bozmaktadır. Süt teknolojisinde kullanılan laktik asit bakterilerinin gıda ürünlerindeki patojen ve kontaminant bakterilere karşı antagonistik etkileri olup, bu bakterilerin gelişimini inhibe ederler. Laktik asit bakterilerinin metabolik ürünlerine karşı hassas olan kontaminant ve patojen bakterilere *E.coli*, *S.aureus*, *Salmonella typhimurium* ve *Listeria monocytogenes* bakterileri örnek verilebilir (SCHAACK ve MARTHA, 1988; MUHAMMED ve YOUNIS, 1990; JAY, 1992).

Mutasyon çalışmaları ile üstün metabolik aktivitelere sahip suşların elde edilmesi hem işlemin güçlüğü hem de üstün suşların stabil kalmayılarından dolayı çok elverişli olmamaktadır. Ancak, doğal izolatlar arasından üstün özelliklere sahip suşların seçimi daha kalıcı ve pratik bir çözüm olabilmektedir.

Bu araştırmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden sağlanan yoğurt örneklerinden *L.bulgaricus* suşları izole edilerek, üstün metabolik aktivite ve yüksek inhibisyon etkisi gösteren suşların seleksiyonuna çalışılmıştır.

## MATARYAL VE METOT

### **İzolasyon ve İdentifikasiyon**

Yoğurt örnekleri, Marmara, İç Anadolu, Ege, Doğu Anadolu, Güney Doğu Anadolu, Karadeniz ve Akdeniz bölgelerindeki köy ve kasabalardan toplanmıştır. Örneklerin dilüsyonları  $10^{-6}$  ile  $10^{-7}$ 'e kadar yapılarak, MRS agar besi ortamından 81 adet *Lactobacillus* suyu izole edilmiştir (DE MAN ve ark., 1960). İzolatların gram reaksiyonlarına, litmuslu sütte etki durumlarına 15,45 ve 50°C'de gelişmelerine, %2, %4 NaCl içeren besi ortamında üremelerine, katalaz reaksiyonlarına, eskulin ve arjinin hidrolizine bakılmıştır. Ayrıca galaktoz, sorboz, fruktoz, mannitol, sakkaroz, arabinoz, salisin, raffinoz, mellibioz, ksiloz, riboz, şekerlerinin testleri uygulanmıştır (BUNCHANAN ve GIBBONS, 1974; HOLDEMAN ve MOORE, 1975). İdentifikasiyon testleri sonucunda 73 adet *Lactobacillus bulgaricus* suyu belirlenmiştir.

### **Metabolik Ürünlerin Tespiti**

#### **Proteolitik Aktiviteleri**

Suşların proteolitik aktiviteleri, %10'luk steril skim milk besi ortamında 41 °C'de 24 saat geliştirildikten sonra tirosin amino asidi esas alınarak belirlenmiştir. Proteolitik aktivitelerin tespiti spektrofotometrede (Miltonroy Spectronik 20) 650 nm dalga boyunda yapılmıştır (CITTI ve ark., 1963).

#### **Laktik Asit Üretilmeleri**

Suşların oluşturduğu titre edilebilir asit miktarları % olarak laktik asit cinsinden tespit edilmiştir. Aktif suşlar 10 ml'lik %10'luk steril skim milk besi ortamına aşılanmış, 41°C'de 24 saat geliştirilmiştir. Örneklerin laktik asit miktarları 0.1 N NaOH titrasyonu ile tespit edilmiştir (HARRIGON ve Mc CANCE, 1976).

#### **Asetaldehit Üretilmeleri**

73 adet *L. bulgaricus* suyu %10'luk steril skim milk besi ortamında 41°C'de 24 saat geliştirildikten sonra, her birinin asetaldehit üretim miktarları iyot titrasyonu ile tespit edilmiştir (LINDSAY ve DAY, 1965).

#### **Inhibisyon Etkileri**

*L. bulgaricus* suşlarının *Escherichia coli* NRRLB 704 nolu, *Staphylococcus aureus* 4-64 nolu koagulaz negatif ve *S.aureus* 4-43 nolu koagulaz pozitif test bakterileri üzerindeki inhibisyon etkileri agar diffüzyon yöntemine göre belirlenmiştir (REINHEIMER ve ark., 1990). Test bakterilerinin aktifleştirilmesinde nutrient broth, agar diffüzyon yönteminde de nutrient agar kullanılmıştır (Şekil 1).

## BULGULAR

İzole edilen ve identifikasiyon testleri sonucu *L. bulgaricus* olarak teşhis edilen suşların, yüzde asitlikleri araştırıldığından maksimum laktik asit üretimi B90, L (%2.34) suşunda, en düşük asit üretimi de B89,L (%0.64) suşunda tespit edilmiştir (Çizelge 1).

İdentifiye edilen suşların proteolitik aktivite değerleri 0.007-1.273 mg tir./ml arasında belirlenmiş ve bulunan değerler Çizelge 1'de gösterilmiştir. Suşların asetaldehit üretme miktarları incelendiğinde en yüksek 12.59 µg/ml asetaldehit üreten B94,L suyu ile, en düşük 1.95 µg/ml asetaldehit üreten B76,L suyu belirlenmiştir (Çizelge 1).

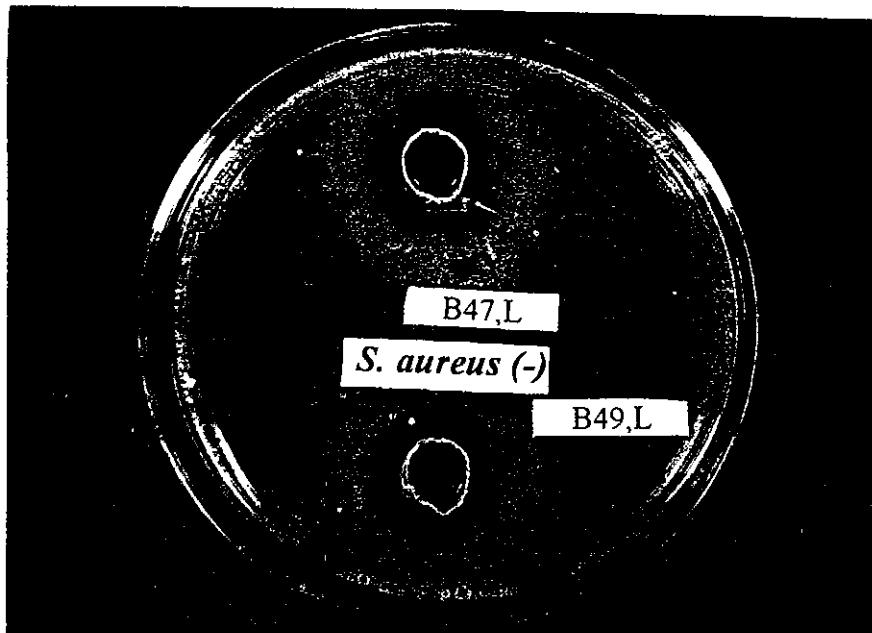
İzolatların inhibisyon etkileri araştırıldığından, tüm suşların *E. coli* ve *S.aureus* koag. (-) test bakterilerinde inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. *S. aureus* koag. (+) test bakterisinde de B89,L, B90,L ve B122,L suşları hariç, tüm suşların inhibisyon etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir. *E.coli* de 3.2-19 mm'lik, *S.aureus* koag. (+)'de 3.2-17 mm'lik, *S.aureus* koag. (+)'de de 3-19.2 mm'lik yarı çapında inhibisyon zonları belirlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 1. *L. bulgaricus* Suşlarının Belirlenen Proteotik Aktivite, Yüzde Asitlik ve Asetaldehit Değerleri.

Suş No.	Proteotik Aktivite (fir.mg/ml)	%Asitlik	Asetaldehit ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Suş No.	Proteotik Aktivite (fir.mg/ml)	%Asitlik	Asetaldehit ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Suş No.	Proteotik Aktivite (fir.ng/ml)	%Asitlik	( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
§4,L	0.076	1.17	4.71	B72,L	0.045	1.29	5.50	B98,L	0.091	1.17	9.46
§20,L	0.079	0.99	7.92	B73,L	0.033	0.67	6.67	B104,L	0.047	1.34	11.80
§21,L	0.233	0.82	6.25	B74,L	0.083	0.72	4.71	B105,L	0.276	1.43	3.91
§23,L	0.084	1.11	7.46	B75,L	0.017	1.38	4.87	B106,L	0.045	1.39	6.67
§25,L	0.076	1.39	5.08	B76,L	0.052	1.17	1.95	B107,L	0.182	1.30	5.50
§26,L	0.076	1.08	5.50	B77,L	0.133	1.57	3.12	B108,L	0.076	1.02	5.50
§27,L	0.129	1.17	6.67	B78,L	0.138	1.27	8.25	B109,L	0.015	1.46	7.92
§28,L	0.045	0.97	5.08	B79,L	0.424	1.11	7.46	B110,L	0.089	1.31	3.12
§29,L	0.276	0.99	6.29	B80,L	0.076	0.99	2.75	B111,L	0.182	1.52	5.87
§31,L	0.333	0.84	7.08	B81,L	0.271	1.75	6.67	B112,L	0.197	1.53	5.08
§36,L	0.086	1.33	7.08	B82,L	0.079	2.07	4.71	B113,L	0.321	1.35	4.33
§37,L	0.136	1.25	5.50	B83,L	0.239	1.89	5.50	B114,L	0.082	1.57	5.87
§38,L	0.252	1.49	11.80	B84,L	0.252	1.08	6.29	B115,L	0.235	1.19	7.46
B39,L	0.303	1.20	7.92	B85,L	0.082	1.63	4.33	B116,L	0.386	1.35	7.50
B45,L	0.348	1.02	8.67	B87,L	0.157	1.06	5.71	B117,L	0.104	1.62	8.25
B46,L	0.030	1.41	5.87	B88,L	0.132	1.02	5.08	B118,L	0.091	1.16	7.08
B47,L	0.015	1.26	6.67	B89,L	0.076	0.64	3.91	B119,L	0.082	1.27	5.08
B48,L	0.094	1.28	5.87	B90,L	1.273	2.34	7.08	B121,L	0.265	1.45	7.46
B49,L	0.038	1.09	7.46	B91,L	0.104	1.76	5.87	B122,L	0.076	1.27	5.87
B50,L	0.174	1.16	5.08	B92,L	0.148	1.93	4.71	B123,L	0.182	1.47	11.80
B53,L	0.083	1.08	3.12	B93,L	0.136	1.87	3.91	B124,L	0.136	1.37	5.87
B59,L	0.082	1.08	4.17	B94,L	0.068	1.32	12.59	B125,L	0.242	1.26	11.80
B60,L	0.242	1.35	3.91	B95,L	0.197	1.56	4.71	B126,L	0.242	1.37	8.25
B62,L	0.015	0.76	5.87	B96,L	0.106	1.39	7.46				
B64,L	0.015	1.12	6.29	B97,L	0.007	1.62	5.83				

Çizelge 2. *L. bulgaricus* susşarının *S. aureus* koag. (+), *S. aureus* koag (-) ve *E. coli*Bakterileri Üzerinde Oluşturdukları İnhibisyon Zonunun Yarı Çap Değerleri (mm)

Sus No.	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i> (-)	<i>S. aureus</i> (+)	Sus No.	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i> (-)	<i>S. aureus</i> (+)	Sus No.	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i> (-)	<i>S. aureus</i> (+)
§4,L	12.0	13.0	11.3	<i>B72,L</i>	9.0	14.0	11.1	<i>B98,L</i>	10.9	9.6	10.3
§20,L	11.6	13.0	11.3	<i>B93,L</i>	9.7	14.7	10.4	<i>B104,L</i>	12.3	15.1	12.2
§21,L	10.4	13.8	11.7	<i>B74,L</i>	9.2	9.6	10.5	<i>B105,L</i>	8.4	13.6	9.6
§23,L	11.0	13.2	11.0	<i>B75,L</i>	10.0	15.3	10.5	<i>B106,L</i>	11.3	11.9	11.6
§25,L	13.5	10.2	12.5	<i>B76,L</i>	10.2	12.7	12.6	<i>B107,L</i>	11.0	9.7	11.9
§26,L	13.6	10.0	10.8	<i>B77,L</i>	13.4	14.9	11.7	<i>B108,L</i>	11.0	12.7	11.8
§27,L	10.3	12.7	9.7	<i>B78,L</i>	8.7	12.2	10.8	<i>B109,L</i>	10.0	13.2	12.3
§28,L	9.2	13.5	9.9	<i>B79,L</i>	11.9	12.4	10.5	<i>B110,L</i>	10.8	10.3	10.4
§29,L	11.0	15.0	10.0	<i>B80,L</i>	10.4	13.5	10.2	<i>B111,L</i>	11.6	12.9	11.0
§31,L	10.0	13.6	10.5	<i>B81,L</i>	11.5	16.6	11.0	<i>B112,L</i>	11.0	14.3	8.2
§36,L	11.5	13.8	11.5	<i>B82,L</i>	11.6	13.0	11.6	<i>B113,L</i>	11.9	13.8	7.0
§37,L	11.5	12.2	11.7	<i>B83,L</i>	11.0	14.3	17.0	<i>B114,L</i>	12.8	13.5	12.0
§38,L	12.6	12.4	11.7	<i>B84,L</i>	10.0	12.7	12.0	<i>B115,L</i>	9.3	12.7	12.0
§39,L	14.6	14.0	12.0	<i>B85,L</i>	11.3	16.3	9.4	<i>B116,L</i>	12.0	12.3	4.4
§45,L	8.9	13.3	10.6	<i>B87,L</i>	11.6	14.0	14.3	<i>B117,L</i>	12.7	13.2	3.2
§46,L	10.2	13.8	11.5	<i>B88,L</i>	9.7	16.6	8.5	<i>B118,L</i>	3.2	12.3	8.6
§47,L	11.0	13.0	11.0	<i>B89,L</i>	8.5	9.1	0.0	<i>B119,L</i>	10.8	12.4	9.3
§48,L	10.4	12.5	12.9	<i>B90,L</i>	10.3	12.2	0.0	<i>B121,L</i>	11.7	11.0	9.8
§49,L	10.6	14.3	10.8	<i>B91,L</i>	19.0	13.3	13.3	<i>B122,L</i>	8.7	6.0	0.0
§50,L	9.3	11.4	11.9	<i>B92,L</i>	12.2	13.8	12.3	<i>B123,L</i>	11.3	10.8	10.4
§53,L	9.5	15.4	11.6	<i>B93,L</i>	13.0	14.1	8.8	<i>B124,L</i>	3.5	10.6	9.2
§59,L	10.2	14.1	10.5	<i>B94,L</i>	11.5	12.3	10.0	<i>B125,L</i>	3.5	10.2	8.0
§60,L	10.7	13.7	10.1	<i>B95,L</i>	11.8	17.6	12.6	<i>B126,L</i>	4.0	6.3	9.3
§62,L	11.6	3.0	7.5	<i>B96,L</i>	11.5	19.2	13.8				
§64,L	11.0	12.7	11.0	<i>B97,L</i>	13.3	16.6	14.7				



Şekil 1. *S.aureus* koag. (-) test bakterisi üzerinde B47,L ve B49,L suşlarının oluşturduğu inhibisyon zonları.

### TARTIŞMA

Laktik asit bakterilerinin oluşturduğu laktik asit sütün pihtlaşmasında önemli etkisi olmakla birlikte, yoğurdun asidik, keskin ve hoşa giden tat kazanmasını sağlayarak yoğurt aromasına önemli katkıda bulunur (ATAMER ve SEZGİN 1987; TEKİNSHEN ve ATASEVER, 1994).

ASHOUR ve ark., (1985), steril skim milk'e %2 oranında aşıladıkları *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* suşlarının yüzde asitliğini %0.73-0.86 arasında tespit etmişlerdir. YU ve ark., (1985)'de izole ettikleri *L. bulgaricus* CH-2 suşunun % titre edilebilir asitliğini 0.78 olarak bulmuşlardır. SING ve CHOPRA (1982), titre edilebilir asitliğini %0.86 olarak belirledikleri *L. bulgaricus* suşuna, uyguladıkları mutasyon sonucu en yüksek %1.02 asit üretebilen mutant suş tespit edebilmişlerdir.

Bu çalışmada doğal kaynaklarından izole edilen *L. bulgaricus* suşlarının yüzde asitliği %0.64-2.34 arasında belirlenirken, literatür sonuçları ile kıyaslama yapıldığında, bu suşların daha fazla miktar da asit üretilmesi dikkat çekmiştir.

SING ve CHOPRA (1982) *L. bulgaricus* suşunun proteolitik aktivitesini 0.35 mg tı./ml olarak belirlerken, mutasyon uyguladıktan sonra, aynı suşdan maksimum 0.62 mg tı./ml proteolitik aktiviteye sahip mutant suş elde edebilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da *L.bulgaricus* suşlarının proteolitik aktivitesi 61-144 µg tı./ml olarak belirlenmiştir (RAJAGOPAL ve SANDINE, 1990). Bu araştırmada ise, 0.007 mg tı./ml (B97,L) gibi düşük proteolitik aktiviteye sahip suşların yanı sıra, 1.273, 0.424, 0.386 mg tı./ml (B90,L, B79,L, B116,L) gibi yüksek miktarlarda proteolitik aktiviteye sahip suşlarda belirlenmiştir.

Yapılan çeşitli araştırmalarda yoğurdun tat oluşumunda asetaldehit üretiminin önemli rol oynadığı, asetaldehit üretim miktarının tür ve suşlara göre farklılık gösterdiği ve *S. thermophilus* bakterilerinden daha çok *L.bulgaricus* bakterilerinin asetaldehit ürettiği sonucuna varılmıştır (HAMDAN ve ark., 1971; TZANETAKI ve MASTROJIONNAKI, 1988; MANCA DE NADRA ve ark., 1988). Çalışmamızdaki izolatların 1.95-12.59 µg/ml arasında asetaldehit ürettiği tespit edilirken, HAMDAN ve ark., (1971), 45°C'de 7 saat inkübasyon sonunda *L.bulgaricus* kültürlerinin en fazla 10 ppm asetaldehit ürettiğini belirlemiştir. ASHOUR ve ark., (1985)'da steril skim milke %2 oranında aşıladıkları *L.bulgaricus* suşlarının 42°C'de 3-3.5 saat inkübasyon sonunda 1.5-1.9 ppm arasında asetaldehit ürettiğini saptamışlardır. Başka bir çalışmada da, 17 adet *L. bulgaricus* suşunun asetaldehit üretimi 6.7-15 ppm arasında bulunmuştur ZAURARI ve DESMAZEAUD, 1991).

Birçok araştırcı insan sağlığı ve yoğurdun kalitesi bakımından, yoğurtta kontaminant bakterilerin olma-  
ması gerektiğini ve bu kontaminant bakterilere karşı yoğurt bakterilerinin antagonistik etkisinin olduğunu bildir-  
mişlerdir (FRANK ve MARTH; 1977; REDDY ve ark., 1984; JAY, 1992). REDDY ve arkadaşları (1984) *L. bul-  
garicus* ve *L.acidophilus*'un antimikrobiyal aktivitelerini incelediklerinde, *L. bulgaricus*'un DDS14 suşunun büm-  
tün test mikroorganizmalarında yüksek inhibisyon oluşturduğunu, *S.aureus*'da 9-12 mm'lik *E.coli* de 5-8  
mm'lik inhibisyon zonu meydana getirdiğini tespit etmişlerdir. ABDEL BAR ve ark., (1987) *L.bulgaricus*'un  
*S.aureus*'da 29.5 mm'lik inhibisyon zonu oluşturduğunu ve bu bakterilerin antimikrobiyal aktivitesinin 100°C'de  
de 18 gün stabil kaldığını tespit etmişlerdir. Başka araştırmacılarla 91 adet laktik asit bakterisinin *E. coli*,  
*S.aureus*, *Salmonella typhimurium* ve *Pseudomonas fluorescens* test bakterileri üzerindeki inhibisyon etkisini  
incelediklerinde, en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *L.bulgaricus* ve *L.acidophilus* kültürlerinde gözlemeşlerdir  
(LIN ve ark., 1986).

Bu araştırmada bütün suşların test bakterileri üzerinde inhibisyon etkisinin olduğu belirlenirken, bu etki-  
nin *S.aureus* koag. (+) test bakterisinde biraz daha zayıf olduğu tespit edilmiştir. B89,L, B90,L ve B122, L gibi  
bazı suşların diğer iki test bakteride inhibisyon etki gösterirken, *S.aureus* koag. (+) test bakterisinde inhibis-  
yon zonu oluşturmadiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda doğal izolatlarımızın inhibisyon etkilerinin diğer araştırmacıların denemedede kullandıkları  
izolatlardan daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan bu çalışmada, doğal kaynaklı yoğurtlarımızdan izole edilen *L. bulgaricus*'un bazı suşları diğer  
araştırmacıların mutasyon ile elde ettikleri mutant suşlar ve starter olarak kullanılan bazı suşlara kıyasla daha  
yüksek metabolik aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Izolatlarımız içinde metabolik aktiviteye sahip bazı suşla-  
rin starter olarak endüstriye kazandırılma imkanları araştırılacaktır.

## KAYNAKLAR

- ASLIM, B., BEYATLI, Y., 1996. *Lactobacillus bulgaricus* Suşlarının Metabolik ve Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bazı Fi-  
ziksel ve Kimyasal Mutagenlerin Etkisi, KÜKEM Dergisi, 19 (1), 59-68.
- ABDEL-BAR, N., HARRIS, N.D., RANDOLPH, L.R., 1987. Purification and Properties of an Antimicrobial Substance Produc-  
ed by *Lactobacillus bulgaricus*. J. Food Sci., 52(2),
- ATAMER, M., SEZGIN, E., 1987. İnkübasyon Sonu Asitliğin Yoğurt Kalitesi Üzerine Etkisi. Gıda, 12(4), 213-220.
- ASHOUR, M., EL-ZAYAT, A.I., RABIE, A.H., GOVDA, A., ZAYAT, AL-EI., 1985. The Action of *Streptococcus thermophilus*  
and/or Sodium Formate on The Organoleptic Features of Fermented Skim Milk Produced by *Lactobacillus bulgari-  
cus*. Egyption, J. Food Sci., 13(2), 137-142.
- BUNCHANAN, R.E., GIBBONS, N.E., 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th. Edition, The Williams and  
Wilkins Company, Baltimore.
- BOUTISTA, E.S., DAHIYA, R.S., SPECK, M.L., 1966. Identification of Compounds Causing Symbiotic Growth of *Strepto-  
coccus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in Milk. J. Dairy Res., 33, 299-307.
- CITTI, J.E., SANDINE, W.E., ELLIKER, P.R., 1963. Some Observations on The Hull Method for Measurement of Proteoly-  
sis in Milk. J. Dairy Sci., 46, 337.
- DE MAN, J.C., ROGOSA, M., SHARPE, M.E., 1960. A Medium for Cultivation of Lactobacilli. J. Appl. Bacteriol, 23, 130-138.
- FRANK, J.F., MARTH, E.H., 1977. Inhibition of Enteropathogenic *Escherichia coli*, by Homofermentative Lactic Acid Bacte-  
ria in Skim Milk. J. Food Protect., 40 (11) 754-759.
- HARRIGON, W.F., MC CANCE, M.E., 1976. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Revised Ed. Academic  
Press. London.
- HOLDEMAN, L.V., MOORE, W.E.C., 1975. Anaerob Laboratory Manual. Southern Priting Co., Blacksburg, Virginia.
- HAMDAN, Y., KUNSMAN, D.E., DEANE, D., 1971. Acetaldehyde Production by Combined Yoghurt Culture. J. Dairy Sci.,  
54(7).
- JAY, J.M. 1992. Modern Food Microbiology. Wayne State Univ. Chapman and Hall, New York and London.
- KOK, J., VENEMA, G., 1988. Genetics of Proteinases of Lactic Acid Bacteria. 70, 475-488.
- KUILA, R.K., RANGANATHAN, B., DUTTA, S.M. LAXMINARAYANA, H., 1971. Induction of Mutation in *Streptococcus dia-  
cetylactis* by Nitrosoguanidine and Ultraviolet Irradiation. J. Dairy Sci., 54, 331-334.
- LIN, C.W., SHIH, L.C., SU, H.P., 1986. Studies on The Natural Antimicrobial Agents from Lactic Acid Bacteria I. Primary  
Screening of Lactic Cultures for Antimicrobial Activity. J. of The Chinese Agricultural Chemical Society, 4, 384-391.
- LINDSAY, R.C., DAY, E.A., 1965. Rapid Quantitative Method for Determination of Acetaldehyde in Lactic Starter Cultures. J.  
Dairy Sci., 48, 665.

- MUHAMMED, F.O., YOUNIS., 1990. Effect of Yoghurt Cultures on Some Pathogenic Microorganisms in Fermented Milk. Egyptian. J. Dairy Sci., 18(2), 369-375.
- MANCA DE NADRA, M.C., AMORASA, M.J., OLIVER, G., 1988. Acetaldehyde metabolism in *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* Isolated from Market Yoghurt. Microbial Aliments-Nutritions, 6(3), 269-272.
- OBERMAN, H., LIBUDZISZ, Z., PIATKIEWICZ, A., 1983. Mutation of *Leuconostoc cremoris* Strains by Nitrosoguanidine and Ultraviolet Irradiation. Milchwissenschaft, 38(12), 731-735.
- REINHEIMER, J.A., DEMIKOW, M.R., CONDIATI, M.C., 1990. Inhibition of Coliform Bacteria by Lactic Cultures. The Aust. J.Dairy Tech., May, 5-9.
- RAJAGOPAL, S.N., SANDINE, W.E., 1990. Associative Growth and Proteolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in Skim Milk. J. Dairy Sci., 73, 894-899.
- REDDY, G.V., SHAHA, K.M., FRIEND, B.A., CHANADA, R.C., 1984. Natural Antibiotic Activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus* III. Production and Partial Purification of bulgarican from *Lactobacillus bulgaricus*. J.Cult. Dairy Product., 8(5), 1984.
- RASIC, J.L., KURMANN, J.A., 1978. Yoghurt Technology, Manufacture and Preparation. D.K. 27, 20, Vanlose Copenhagen.
- SCHAACK, M.M., MARTHA, E.H., 1988. Interaction Between Lactic Acid Bacteria and Some Food Borne Pathogens A review. Cultured-Dairy-Products. Journal, 23, 4-14.
- SING, J., RANGANATHAN, B., 1977. Acid Production and Proteolytic Activity in Milk by Gamma Irradiation Induced Mutants of Lactobacilli. J. Food Protect. 40 (89), 600-620.
- SING, J., RANGANATHAN, B., 1978. Activation of Proteolytic Activity of *Lactobacillus casei* by Nitrosoguanidine. Folia Microbiol., 23, 82-83.
- SING, J., CHOPRA, A.K., 1982. Accelerated Fermentation of Milk by Nitrosoguanidine Induced Mutant of Lactobacilli. J. Food Sci., 47(3), 1027-1029.
- TEKİNSEN, O.C., ATASEVER, M., 1994. Süt Ürünleri Üretiminde Starter Kültür, Selçuk Univ. Vet. Fak. Yayıńı, Konya.
- TZANETAKI E.L., MASTROJONNAKI, A.V., 1988. Diacetyl and Acetaldehyde Concentrations During Ripening of Kefolotyri Cheese. J. Food. Sci., 53(2), 663-664.
- VEDAMUTHU. E.R., 1991. Yoghurt Story-Past Present and Future Part III. Dairy Food and Environ Sanitation, 11(6), 310-311.
- YU, J.H., SAITO, M., LEE, K.H., 1985. Studies on Flavour Compounds in Milk Fermented by *Lactobacillus bulgaricus* CH-2 and /or *Streptococcus thermophilus* I. Changes in Volatile Carbonyl Compounds. Korean J. Animal, Sci., 27(1), 42-46.
- ZAURARI, A., DESMAZEAUD, M.J., 1991. Characterization of Thermophilic Lactic Acid Bacteria Isolated from Greek Yoghurts II. Starins of *Lactobacillus delbrueckii* var. *bulgaricus* and Mixed Cultures with *Streptococcus salivarius* var. *thermophilus*. Lait-Lyon, 71(4), 463-482.
- ZAURARI, A., ACCOLAS, J.P. DESMAZEAUD, M.J., 1992. Metabolism and Biochemical Characteristics of Yoghurt Bacteria. Lait-Lyon, 72(1), 1-37.