

## Farklı İnkübasyon Sıcaklığı ile İnkübasyon Sonlandırma pH'sının Probiyotik Yoğurdun Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi

Emine Mine Çomak Göçer, Firuze Ergin, Ayşe Aşçı Arslan, Ahmet Küçükçetin ✉

Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 26.03.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 21.05.2016

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [kucukcetin@akdeniz.edu.tr](mailto:kucukcetin@akdeniz.edu.tr) (A. Küçükçetin)

☎ 0 242 310 65 69 📠 0 242 227 45 64

### ÖZ

Bu çalışmada, yoğurt starter kültürü ve probiyotik bakteri (*Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356) kullanılarak farklı inkübasyon sıcaklıkları (37, 42 ve 45°C) ile inkübasyon sonlandırma pH'larında (4.8, 4.6 ve 4.4) üretilen probiyotik yoğurtların fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiştir. Üretilen probiyotik yoğurt örnekleri, 4°C'de 30 gün süreyle depolanmıştır. Probiyotik yoğurt örneklerinde depolama süresi sonunda serum ayrılması, viskozite ve sertlik değerlerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Örneklerdeki en yüksek viskozite ve sertlik değerleri, 45°C inkübasyon sıcaklığında üretilen probiyotik yoğurtlarda; en düşük serum ayrılması değerleri ise 37°C inkübasyon sıcaklığında üretilen probiyotik yoğurtlarda saptanmıştır. İnkübasyon sonlandırma pH'sı yükseldikçe probiyotik yoğurt örneklerinin viskozite değerleri ile probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. acidophilus*'un canlılığı azalmaktadır. İnkübasyon sıcaklığının artması ile *L. acidophilus*'un canlılığı olumsuz etkilense de, probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. acidophilus* sayısının depolama süresince  $\geq 10^7$  kob/g olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Probiyotik yoğurt, İnkübasyon sıcaklığı, İnkübasyon sonlandırma pH'sı

### Effect of Different Incubation Temperature and Final Incubation pH on Physicochemical and Microbiological Properties of Probiotic Yogurt

#### ABSTRACT

In this study, probiotic yogurt was manufactured by using yogurt starter culture and probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356) at different incubation temperatures (37, 42 and 45°C) and final incubation pH values (4.8, 4.6 and 4.4). The probiotic yogurt samples were stored at 4°C for 30 days. At the final stage of the storage period, syneresis, hardness and viscosity values of probiotic yogurt samples increased. The highest viscosity and hardness values were determined in probiotic yoghurt samples produced at the incubation temperature of 45°C and the lowest syneresis values were determined in the probiotic yoghurt samples produced at incubation temperature of 37°C. The viability of *L. acidophilus* in probiotic yogurt samples and viscosity values of probiotic yogurt samples decreased as the final incubation pH was increased. Although the viability of *L. acidophilus* in probiotic yogurt samples was adversely affected with increasing incubation temperature, *L. acidophilus* count in probiotic yogurt samples was  $\geq 10^7$  cfu/g during all storage period.

**Keywords:** Probiotic yogurt, Incubation temperature, Final incubation pH

## GİRİŞ

İnsanın doğduğu andan itibaren tüm yaşamında önemli yeri olan süt ve süt ürünlerinin tüketimi, hayat boyunca sayısız yararlar sağlamaktadır [1]. İnsan beslenmesinde bu kadar önemli olmasının yanı sıra hacimli olması, naklinin zor olması ve çabuk bozulması gibi nedenler, sütün daha dayanıklı ürünlere işlenmesini zorunlu hale getirmektedir [2]. Bu dayanıklı süt ürünleri içerisinde insan beslenmesindeki önemi ve sağlıkla ilgili yararlılığından dolayı dünyada tüketimi giderek artan yoğurt dikkat çekmektedir [3]. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre yoğurt, fermantasyonda spesifik olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un simbiyotik kültürlerinin kullanıldığı fermente süt ürünüdür [4]. Yoğurt; zengin bir protein, yağ, vitamin, kalsiyum ve fosfor kaynağıdır. Yoğurta bulunan protein insanın günlük protein ihtiyacının yaklaşık %20'sini karşılamaktadır [5]. Diyetinde yoğurt bulunan kişilerde laktoz intolerans, osteoporoz, gastrit ve diyare belirtileri daha az görülmektedir [6]. Yoğurdun sağlıkla ilgili yararlarının artırılabilmesi için probiyotik bakterileri içeren yoğurtlar üretilmektedir [7]. Yapılan çalışmalar probiyotik bakterileri içeren ürünlerin düzenli tüketiminin insan bağışıklık sistemini güçlendirdiğini, anti-alerjik etki gösterdiğini, kanser riskini azalttığını, kolesterolü düşürdüğünü, sindirim zorluklarını giderdiğini ve sindirim sistemi enfeksiyonlarını engellediğini göstermektedir [8, 9].

Gıdaların üretiminde kullanılan probiyotik bakteriler içinde en güvenilir olanlarının arasında kabul edilen *Lactobacillus acidophilus*'un diyetetik ve tedavi edici özelliklerine ilişkin çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. *L. acidophilus* kullanılarak üretilen fermente süt ürünlerindeki besin maddeleri bir ön fermentasyona tabi tutulduğu için, ürünlerin besleyici değeri artmakta, sindirilmeleri de süte kıyasla daha kolay olmaktadır. Protein ve yağın kısmen parçalanması da ürünün sindirilebilirliğini artırmaktadır. Laktozun hidrolize olup,  $\beta$ -galaktozidaz enzim aktivitesinin artması, laktoz intolerans kişilerin bu ürünleri rahatlıkla tüketebilmelerini sağlamaktadır [10, 11, 12]. Ayrıca *L. acidophilus* ile üretilen fermente süt ürünlerindeki kalsiyum ve bazı mineral maddelerin vücut tarafından daha iyi absorbe edildiği ve bu ürünlerin folik asit, niasin, biotin, pantotenik asit, B<sub>6</sub> ve B<sub>12</sub> gibi B grubu vitaminler açısından süte göre daha zengin olduğu belirtilmektedir [13, 14]. Probiyotik gıdalardan beklenen yararların sağlanabilmesi büyük ölçüde, içerdikleri probiyotik bakterilerin canlılıklarını korumasına bağlı olup, probiyotik bakterilerin ürünlerde en az 10<sup>7</sup>-10<sup>9</sup> kob/g düzeyinde bulunması gerektiği belirtilmektedir [15]. Fermente süt ürünlerinin, yeterli sayıda probiyotik bakterinin tüketiciye ulaştırılmasında en uygun taşıyıcılar arasında yer aldığı düşünülmektedir [16]. Probiyotik bakterilerin yoğurt üretiminde kullanılması ile ürünün sağlıkla ilgili faydaları artırılmış olurken, ürünün kalitesi de olumlu yönde etkilenmektedir [17]. Yapı ve görünüş olarak geleneksel yoğurda benzeyen probiyotik yoğurt, kıvam bakımından daha iyi, lezzet olarak da tatlımsı bir aromaya sahiptir. Geleneksel yoğurta baskın olarak hissedilen tereyağımsı asetaldehit aroması bu ürünlerde çok da hissedilmemektedir.

Probiyotik yoğurdun fizikokimyasal özellikleri, ürünün kalitesi ve tüketicilerin ürünü kabulü açısından oldukça önemlidir [18,19].

Yoğurt üretiminde çiğ sütün çeşidi ve niteliğinden başlayarak uygulanan ısı işlem, kullanılan starter kültür ve probiyotik bakterilerin özellikleri, inokülasyon oranları, inkübasyon koşulları, soğutma ve depolama gibi etkenler ürünün kalitesiyle ilişkilidir [20]. Yoğurdun fizikokimyasal özelliklerini şekillendiren en önemli işlem basamaklarından biri olan inkübasyon süreci, inkübasyon sıcaklığı ve süresi ile inkübasyona son verilen pH değeri gibi parametreleri kapsamaktadır. Bu nedenle yoğurt üretiminde inkübasyon parametrelerinin seçimi büyük önem taşımaktadır [21]. Inkübasyon sıcaklığı ve inkübasyon sonlandırma pH'sının yanlış seçilmesi yoğurta jel yapısının zayıflığı ve serum ayrılması gibi en çok karşılaşılan kusurlara neden olmaktadır [22]. Yoğurt da diğer fermente süt ürünleri gibi dispers bir sistem olup, doğası gereği faz ayrılmasına eğilimlidir. Faz ayrılması, kazein misellerinin agregasyonu ve oluşan protein partiküllerinin yer çekimi kuvvetinin etkisiyle içinde buldukları serumun tabanına doğru çökmesi sonucu oluşmaktadır [23]. Inkübasyon sonu pH'sı yoğurdun serum ayrılması üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Nispeten yüksek pH değerlerine (pH 4.8) sahip jellerin serum ayrılması eğiliminin daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, pH 4.2-4.6 aralığında da yoğurtların serum ayrılması değerleri arasında önemli farklılıklar meydana gelmektedir [24]. Birçok araştırmacı inkübasyon sıcaklığını 44°C'den 38°C ve altına düşürmenin jel sıklığını ve viskoziteyi etkilediğini, serum ayrılmasını azalttığını belirtmiştir. Daha düşük sıcaklıklarda (örneğin 30°C'de) inkübasyon sonucunda inkübasyon süresi 12 saat gibi uzun süreleri bulabilmekte, ancak tekstürel nitelikleri yüksek yoğurt üretilmediği belirtilmiştir [25]. Yapılan bu çalışmada, farklı inkübasyon sıcaklıkları (37, 42 ve 45°C) ve inkübasyon sonlandırma pH'larında (4.8, 4.6 ve 4.4) üretilen probiyotik yoğurtların bazı önemli kalite unsurları karşılaştırmalı olarak ortaya konulmuştur.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Probiyotik yoğurt üretiminde yağsız süt tozu, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 ve yoğurt starter kültürü (CH-1 Yo-Flex) kullanılmıştır. Yoğurt üretiminde kullanılan yağsız süt tozu İzi Süt Gıda Mamülleri Sanayi ve Tic. A.Ş.'den (Konya), *L. acidophilus* ATCC 4356 suşu Alman Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürleri Koleksiyonundan (DSMZ) ve ticari yoğurt kültürü ise Chr. Hansen's Laboratorium Denmark A/S'nin İstanbul temsilcisi Peyma Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den temin edilmiştir. Probiyotik yoğurt üretimi, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi bünyesinde üretim yapan süt işleme tesisinde gerçekleştirilmiştir.

## Yöntem

### *Lactobacillus acidophilus*'un Yoğurt Üretiminde Kullanılmak Üzere Hazırlanması

Orijinal ampüllerinde bulunan *L. acidophilus* ATCC 4356 steril koşullar altında 1 mL MRS sıvı besiyerine eklenip karıştırıldıktan sonra 250 mL MRS sıvı besiyerine aktarılmış ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde karışım, santrifüj (6000 g, 5°C, 5 dakika) edilmiştir. Santrifüj sonrası, santrifüj tüplerinde üstte kalan sıvı kısım döküldükten sonra çöken kısımların üzerine 5 mL Nutrient sıvı besiyeri-Gliserin karışımı (0.8 g Nutrient sıvı besiyeri + 30 mL gliserin + 70 mL saf su) ilave edilerek eppendorf tüplerine (1.5 mL'lik) 1 mL olacak şekilde konulmuş ve yoğurt üretimleri sırasında kültür hazırlanacağına kullanılmak üzere -80°C'de depolanmıştır.

### Probiyotik Yoğurt Üretimi

*L. acidophilus* ATCC 4356'nın probiyotik yoğurt üretiminde kullanılmak üzere hazırlanmasında yapılan işlemler şu şekilde sıralanabilir: İçerisinde probiyotik bakteri bulunan 1 adet eppendorf tüpü oda sıcaklığında 1-2 dakika bekletilerek çözündürüldükten sonra 250 mL'lik MRS sıvı besiyerine aşılanmış ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde karışım toplam 8 santrifüj tüpüne konularak santrifüj (6000 g, 5°C, 5 dakika) edilmiştir. Santrifüj sonrası, santrifüj tüplerinde üstte kalan sıvı kısmı döküldükten sonra her bir santrifüj tüpündeki çöken kısımların üzerine 5 mL Nutrient sıvı besiyeri-Gliserin karışımı ve 5 mL MRS sıvı besiyeri ilave edilerek 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Santrifüj tüplerinde inkübe edilmiş bu karışımlardan 5'er mL boş santrifüj tüplerine konulmuş ve her birinin üzerine 5 mL MRS sıvı besiyeri ilave edilmiştir. İçinde yeni karışım bulunan toplam 16 adet santrifüj tüpü aynı sıcaklık ve süre normu kullanılarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi sonunda her bir santrifüj tüpünün içindeki karışım 90'ar mL'lik MRS sıvı besiyerlerine aktarılmıştır. Elde edilen 100 mL'lik yeni karışımlar 37°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra santrifüj (6000 g, 5°C, 5 dakika) işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüj sonrası, santrifüj tüplerinde üstte kalan sıvı kısım döküldükten sonra kalan kısımlar, her bir santrifüj tüpüne 2 mL rekonstitüye süt (%12 kurumadeli) konularak vorteks yardımıyla karıştırılıp 5 kg'lık probiyotik yoğurt üretiminde kullanılmıştır.

Probiyotik yoğurt üretiminde kullanılmak üzere yağsız süt tozundan distile deiyonize su kullanılarak hazırlanan rekonstitüye sütler kurumadeli %12 olacak şekilde standardize edilmiş ve ısıl işlem öncesi 4°C'de en az 2 saat bekletilmiştir. Hazırlanan sütler, 95°C'de 5 dakika ısıl işleme tabi tutulduktan sonra 3 gruba ayrılarak 37, 42 ve 45°C'lere soğutulmuştur. Soğutulan sütlere %0.03 (w/v) oranında yoğurt starter kültürü ile yukarıda belirtilen miktarlarda probiyotik bakteri aşılanmıştır. Yoğurt starter kültürü ve probiyotik bakteri aşılanan sütlerin pH'ları 4.8, 4.6 ve 4.4'e ulaşıncaya kadar 37, 42 ve 45°C'lerde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda probiyotik yoğurt örnekleri 4°C'ye soğutulmuş ve bu sıcaklıkta 30 gün süresince depolanmıştır.

## Analizler

Üretimlerde kullanılan rekonstitüye sütlerin kurumadde içeriği (%) gravimetrik yöntemle [25], yağ içeriği (%) Gerber metoduna [24] göre, kül içeriği (%) ise gravimetrik yöntemle [25] tespit edilmiştir. Süt örneklerinin pH değerleri Orion 2 Star pH metre (Thermo Scientific, Bremen, Germany) kullanılarak, protein içeriği (%) Kjeldahl metoduna göre [25], titrasyon asitliği (%) TS 1018 Çiğ Süt Standardı'nda belirtilen Soxhlet Henkel yöntemi ile yapılmış olup sonuçlar % laktik asit cinsinden hesaplanmıştır [23]. Probiyotik yoğurt örneklerinin yağ içeriği (%) Gerber metoduna göre [26], protein içeriği (%) Kjeldahl metoduna göre [27, 28], toplam kurumadde içerikleri (%) Uluslararası Sütçülük Federasyonu'nun (IDF) verdiği referans metoda göre gravimetrik yöntemle [29], titrasyon asitliği titrimetrik yöntemle [31], kül içeriği (%) gravimetrik yöntemle [30] belirlenmiştir. Örneklerin pH değerleri Orion 2 Star pH metre kullanılarak tespit edilmiştir. Probiyotik yoğurt örneklerinin viskozite değerleri Brookfield viskozimetresi (Model DV II+Pro, Brookfield Engineering Laboratories Inc, Middleboro, MA, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler 4°C'de 94 numaralı spindle kullanılarak ve 1.5 rpm dönüş hızında yapılmış olup sonuçlar Pa.s olarak verilmiştir [32]. Probiyotik yoğurtlarda sertlik değeri TA.XT Plus tekstür analiz cihazı (Stable Microsystems, Godalming, Surrey, İngiltere) ile Haque ve ark.'nın [33] kullandığı yöntem modifiye edilerek tespit edilmiştir. Sertlik analizi sırasında örnek sıcaklığı 4°C olup analiz, 25 mm'lik silindir prob kullanılarak ve test hızı 1 mm/s, trigger kuvveti 5 kg ve uzaklık 45 mm olacak şekilde yapılmış ve sonuçlar g cinsinden verilmiştir. Serum ayrılması Küçükçetin'in [34] bildirdiği yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Örnek, santrifüj tüpü içerisine tartılmış (25 g) ve santrifüj (5031 g, 25°C, 25 dakika) edilmiştir. Santrifüj sonrası santrifüj tüpünde üstte kalan serum kısmı tartılmış ve serum ayrılması değeri aşağıdaki formül (1) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Serum ayrılması (\%)} = [\text{serum miktarı} / \text{örnek miktarı}] \times 100 \quad (1)$$

Mikrobiyolojik ekimler yapılmadan önce ¼ kuvvetinde ringer çözeltisi kullanılarak aseptik şartlar altında uygun desimal seri dilüsyonlar hazırlanmıştır [35]. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayımında pH'sı 5.2'ye ayarlanmış MRS Agar besi ortamı olarak kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan dökme plak yöntemi ile ekim yapılan petri kutuları anaerobik ortamda 45°C'de 72 saat süreyle inkübe edilmiştir [36]. *S. thermophilus* sayımında %1 laktöz ilave edilmiş M17 Agar besi ortamı olarak kullanılmıştır. Uygun dilüsyonların her birinden M17 Agar besi ortamına dökme plak yöntemi ile ekim yapılmış ve petri kutuları 45°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır [36]. *L. acidophilus* sayımında bromokresol yeşili ve klindamisin ilave edilmiş, De Man Rogosa Sharp (MRS-BC) besi ortamı olarak kullanılmıştır. pH'sı 6.2'ye ayarlanmış MRS Agar ve %0.2 (w/v) konsantrasyonda hazırlanmış bromokresol yeşili çözeltisine sterilizasyon amacıyla 121°C'de 15 dakika ısıl işlem uygulanmıştır. Klindamisin (5 mg) 100 mL saf su içerisinde çözündürülüp membran filtreden (0.45 µm) geçirilerek steril edilmiştir. Döküm sıcaklığına gelen besiyerine *L. acidophilus* dışındaki mikroorganizmaların gelişimini

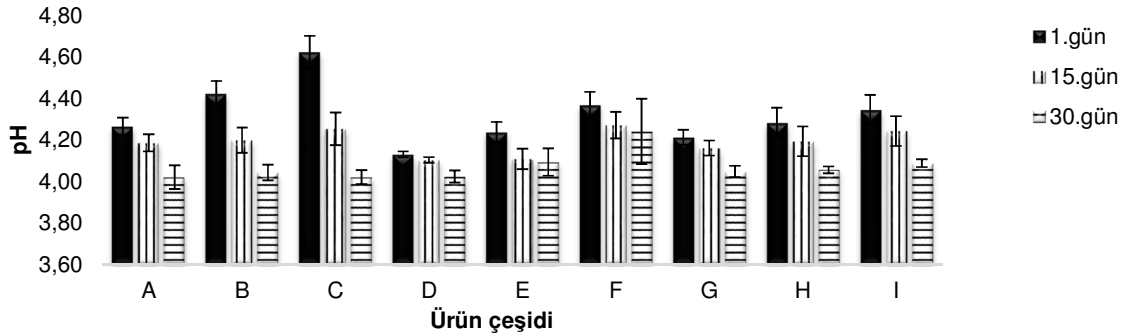
durdurmak amacıyla bromokresol yeşili çözeltisinden 20 mL/L, klindamisin çözeltisinden ise 2 mL/L ilave edilmiş ve besiyeri petri kutularına dökülmüştür. Analiz dökme plak kültürel sayım yöntemi ile yapılmış olup, inkübasyon anaerobik ortamda 37°C'de 72 saat süreyle gerçekleştirilmiştir [37]. Yoğurt örneklerinin kurumadde, protein, kül ve yağ içerikleri depolamanın ilk gününde; pH, viskozite, sertlik, serum ayrılması değerleri ve mikrobiyolojik özellikler ise depolamanın 1., 15. ve 30. günlerinde belirlenmiştir. Araştırma 2 tekerrürlü yapılmış olup, analizler paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonuçları varyans analizine tabi tutulmuş ve farklı bulunan sonuçlar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır [38].

## BULGULAR ve TARTIŞMA

Probiyotik yoğurt üretiminde hammadde olarak kullanılan rekonstitüye sütlerin ortalama kurumadde, protein, yağ, kül, titrasyon asitliği (% laktik asit) ve pH değerleri sırasıyla %12.07±0.07, %4.25±0.34, %0.10±0.00, %1.02±0.01, %0.18±0.02 ve 6.62±0.03 olarak tespit edilmiştir. TS 1018 Çiğ İnek Sütü Standardına göre inek sütlerinde yağsız kurumadde miktarının en az %8.5, protein miktarının en az %2.8 ve titrasyon asitliği değerinin ise laktik asit cinsinden en çok %0.2 olması gerektiği bildirilmiştir [25]. Elde edilen sonuçlara göre denemelerde kullanılan sütlerde belirlenen değerlerin, standartta belirtilen değerler ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Probiyotik yoğurt örneklerinin ortalama kurumadde, protein, yağ ve kül değerleri sırasıyla %11.97±0.20, %4.52±0.08, %0.10±0.00 ve %1.03±0.05 olarak tespit edilmiştir. TS 1330 Yoğurt Standardı'na göre yoğurtların yağsız kurumadde miktarının en az %12, protein miktarının ise en az %4 olması gerektiği bildirilmiştir [39]. Ayrıca Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre yoğurdun protein miktarının en az %3, yağ oranının ise en fazla %15 olması gerekmektedir [4]. Elde edilen sonuçlara göre denemelerde kullanılan yoğurtlarda tespit edilen değerlerin, standartta ve tebliğde belirtilen değerler ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Şekil 1'de görüldüğü üzere 30 günlük depolama süresince üç farklı zamanda yapılan pH analizlerinde probiyotik yoğurt örneklerinde belirlenen değerlerin 1. gün sonunda 4.13-4.62, 15. gün sonunda 4.10-4.27 ve 30. gün sonunda 4.02-4.24 arasında değiştiği saptanmıştır. Depolamanın sonunda 37°C'de inkübe edilmiş süttten üretilen probiyotik yoğurt örneğinin 42 ve 45°C'lerde inkübe edilen süttlerden üretilen örneklere göre daha yüksek pH değerine sahip olduğu, bununla birlikte 42°C'de inkübe edilen süttten üretilen probiyotik yoğurt örneği ile 45°C'de inkübe edilen süttten üretilen probiyotik yoğurt örneklerinde belirlenen pH değerleri arasında önemli bir farklılık olmadığı (P>0.05) tespit edilmiştir. Ayrıca depolama süresince örneklere ait pH değerlerinin azaldığı ve söz konusu azalmanın istatistiksel olarak önemli (P<0.05) olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresince örneklerde görülen pH düşüşünün probiyotik yoğurt üzerine yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olduğu belirlenmiştir [40, 41].



Şekil 1. Probiyotik yoğurt örneklerine ait pH değerleri

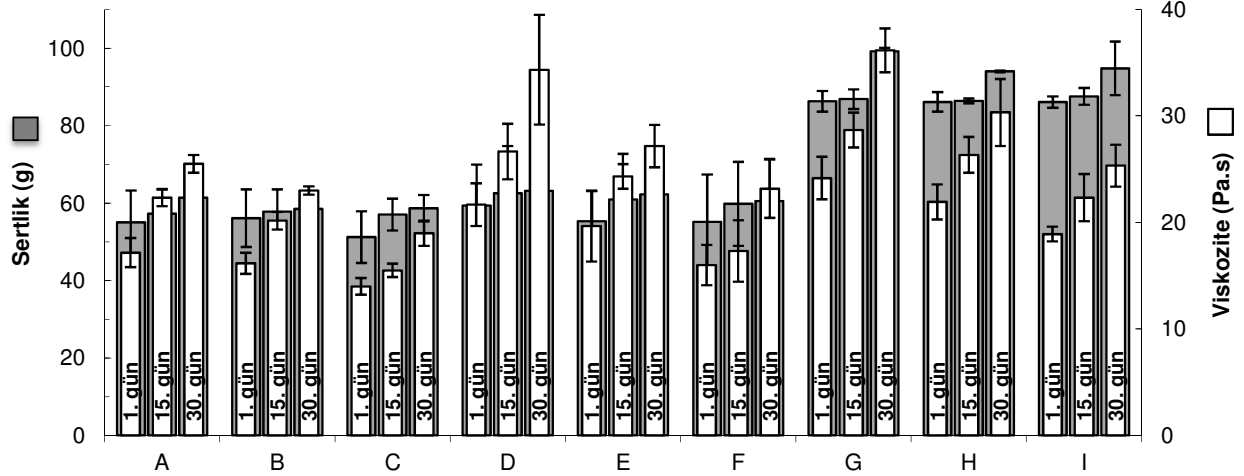
**A:** İnkübasyon sıcaklığı 37°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.4 olan probiyotik yoğurt, **B:** İnkübasyon sıcaklığı 37°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.6 olan probiyotik yoğurt, **C:** İnkübasyon sıcaklığı 37°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.8 olan probiyotik yoğurt, **D:** İnkübasyon sıcaklığı 42°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.4 olan probiyotik yoğurt, **E:** İnkübasyon sıcaklığı 42°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.6 olan probiyotik yoğurt, **F:** İnkübasyon sıcaklığı 42°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.8 olan probiyotik yoğurt, **G:** İnkübasyon sıcaklığı 45°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.4 olan probiyotik yoğurt, **H:** İnkübasyon sıcaklığı 45°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.6 olan probiyotik yoğurt, **I:** İnkübasyon sıcaklığı 45°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.8 olan probiyotik yoğurt. Her bir bar, probiyotik yoğurt örneklerinin farklı depolama günlerine ait ortalama pH değerlerini; hata çubukları ise standart sapma değerlerini göstermektedir.

Şekil 2'de de görüldüğü gibi yoğurt örneklerinin viskozite değerlerinin depolama süresince 14.0-36.2 Pa.s arasında değiştiği belirlenmiştir. En yüksek viskozite değerini (36.2 Pa.s) inkübasyon sıcaklığı 45°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.4 olan probiyotik yoğurt örneği depolamanın 30. gününde alırken, en düşük viskozite değerini (14.0 Pa.s) inkübasyon sıcaklığı 37°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.8 olan probiyotik yoğurt örneği depolamanın ilk gününde almıştır. İnkübasyonu

farklı pH değerlerinde sonlandırılan probiyotik yoğurt örneklerinin viskozite değerleri arasında önemli bir farklılık olduğu (P<0.05) ve inkübasyon sonlandırma pH'sı arttıkça probiyotik yoğurt örneklerine ait viskozite değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin viskozite değerlerinin depolama süresince arttığı, 4°C'de 30 gün depolanan probiyotik yoğurt örneklerinin en yüksek viskozite değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Depolama sürecince viskozite değerinde meydana gelen

artışın probiyotik yoğurt üretiminde kullanılan laktik asit bakterilerinin ve probiyotik bakterilerin ekzopolisakkarit, kısa zincirli yağ asitleri ve vitamin sentezlemeye devam etmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir [42]. İnkübasyonu farklı pH'larda sonlandırmanın yoğurdun viskoelastik özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada,

44°C'de pH 4.50 ve 4.25'e ulaşıncaya kadar inkübe edilen sütlerden üretilen yoğurt örneklerinde kompleks viskozite değerleri sırasıyla 18.4 ve 37.9 Pa.s olarak tespit edilmiştir [43]. Yoğurt üretiminde inkübasyonun sonlandırıldığı pH düşüğe viskozite değerinin arttığı bildirilmiştir [44].



Şekil 2. Probiyotik yoğurt örneklerine ait viskozite (Pa.s) ve sertlik (g) değerleri  
A-I: Kodların açıklaması için bakınız Şekil 1. Her bir bar, probiyotik yoğurt örneğinin farklı depolama günlerine ait ortalama viskozite ve sertlik değerlerini; hata çubukları ise standart sapma değerlerini göstermektedir.

İnkübasyon sıcaklığının artmasıyla kazein molekülleri arasındaki hidrofobik etkileşimler artmakta ve daha yoğun bir yapı oluşmaktadır [45]. İnkübasyon sıcaklığındaki azalma ile birlikte yoğurtta jelleşme için gerekli hemholtz aktivasyon enerjisi artmaktadır. Uygun fiziksel özelliklere sahip jel oluşumu için Hemholtz aktivasyon enerjisinin minimum seviyede olması istendiğinden, inkübasyon sıcaklığındaki azalma yoğurtta pıhtı stabilitesini zayıflatmaktadır. Yapılan bir çalışmada yoğurt üretimi için sütün kurumadresi, yağsız süt tozu kullanılarak, evaporasyon ve ultrafiltrasyon işlemleri uygulanarak %16'ya ayarlanmıştır. Starter kültür ile aşılana %16 kurumadeli sütler 30 ve 42°C'lerde pH 4.3'e ulaşana kadar inkübe edilerek üretilen ve 4°C'de 18 gün depolanan yoğurt örneklerinin fiziksel özellikleri incelenmiştir. En yüksek viskozite değeri (yaklaşık 250 Pa.s) ultrafiltrasyon ile kurumadresi %16'ya ayarlanan sütün 42°C'de inkübe edilmesi ile üretilen yoğurt örneğinde belirlenirken, en düşük viskozite değeri (yaklaşık 180 Pa.s) yağsız süt tozu ile kurumadresi %16'ya ayarlanan sütün 30°C'de inkübe edilmesi ile üretilen yoğurt örneğinde tespit edilmiştir [46]. Bununla birlikte inkübasyon sıcaklığı ile üretimde kullanılan starter kültür arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır. Bazı starter kültür çeşitleri 43°C'de inkübasyon sırasında yoğurtta yüksek viskoelastik özelliklerin oluşmasına olanak tanıırken, ekzopolisakkarit üretebilen bazı suşlar 37-39°C'de yoğurtta viskozitenin önemli oranda artmasını sağlamaktadır [23]. Yapılan bir çalışmada starter kültür olarak ekzopolisakkarit üreten ve üretmeyen laktik asit bakterileriyle aşılana sütlerin farklı sıcaklıklarda (32, 37 ve 45°C) inkübe edilmesi ile üretilen yoğurt örneklerinin fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. En düşük viskozite değeri ekzopolisakkarit üretmeyen laktik asit bakterileriyle aşılana 32°C'de inkübe edilen sütten

üretilen örneklerde belirlenirken, en yüksek viskozite değeri ekzopolisakkarit üreten laktik asit bakterileriyle aşılana 45°C'de inkübe edilen sütten üretilen yoğurt örneklerinde bulunmuştur [47]. Çalışmamızda üretilen probiyotik örneğe ait viskozite değerlerinin Lanke ve ark. [46]'nın bulduğu değerlerden düşük, Rönnegard ve ark. [43]'nin bulduğu değerler ile benzer olduğu belirlenmiştir. Söz konusu durum probiyotik yoğurt üretimlerinde kullanılan sütün bileşimi, üretim yöntemi ve starter kültürün mikroorganizma içeriğindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

Şekil 2'den de görüldüğü üzere örneğe ait sertlik değerleri 51.2-99.2 g arasında değişmiştir. Sertlik değeri açısından en yüksek değeri 4°C'de 30 gün süresince depolanan, inkübasyon sıcaklığı olarak 45°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı olarak 4.4 kullanılarak üretilen probiyotik yoğurt örneği alırken, en düşük değeri ise inkübasyon sıcaklığı olarak 37°C ve inkübasyon sonlandırma pH'sı olarak 4.8 kullanılarak üretilen probiyotik yoğurt örneği depolamanın ilk gününde almıştır. İnkübasyon sıcaklığı olarak 45°C'de üretilen probiyotik yoğurt örneğinin 37 ve 42°C'de inkübe edilerek üretilen örneğe göre daha yüksek sertlik değerine sahip olduğu, bununla birlikte 37 ve 42°C'de inkübe edilerek üretilen probiyotik yoğurt örneklerinin sertlik değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı (P>0.05) belirlenmiştir. Ayrıca farklı pH'larda inkübasyonu sonlandırılarak üretilen probiyotik yoğurt örneklerine ait sertlik değerleri arasında önemli bir farklılık olmadığı (P>0.05) saptanmıştır. Örneğe ait sertlik değerlerinin depolama süresince arttığı tespit edilmiştir. Haque ve ark. [33]'nin farklı inkübasyon sıcaklıklarının (37, 40, 43 ve 46°C) ve starter kültür çeşidinin (ekzopolisakkarit üreten ve üretmeyen)

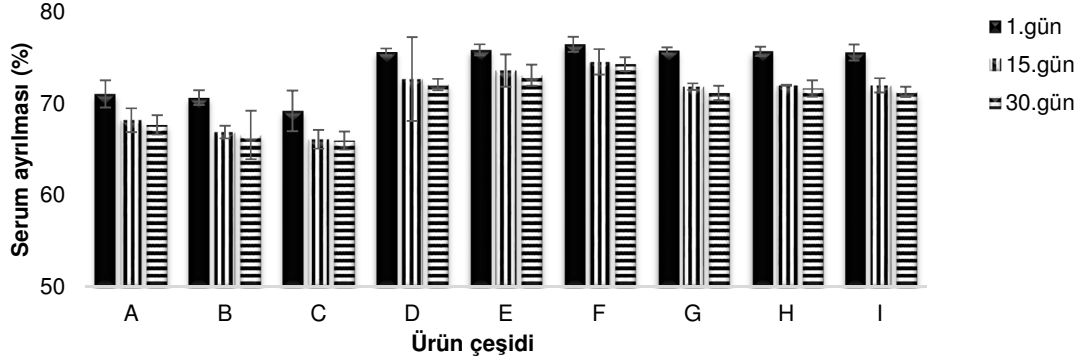
yoğurdun tekstürel ve reolojik özellikleri üzerine etkisinin inceledikleri çalışmaları sonucunda; her iki starter kültür çeşidi için de sertlik değerlerinin düşükten yükseğe sırasıyla 37, 40, 43 ve 46°C'lerde inkübe edilerek üretilen yoğurt örneklerinde olduğunu belirlemişlerdir. Starter kültür çeşidinin ve inkübasyon sıcaklığının katı tip yoğurtların fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisinin incelendiği başka bir çalışmada, ekzopolisakkarit üreten ve üretmeyen starter kültürlerin aşılandığı sütler pH değerleri 4.6'ya ulaşana kadar 37, 42 ve 45°C'lerde inkübe edilmiştir. En yüksek sertlik değeri (224 g) ekzopolisakkarit üreten starter kültürle aşılanan sütlerin 42°C'de inkübe edilmesiyle üretilen yoğurt örneklerinde bulunmuştur [21]. Üretiminde farklı inkübasyon sıcaklıklarının kullanılmasının probiyotik manda yoğurdunun fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; inkübasyon sıcaklığının, örneklerin sertlik değeri üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli ( $P < 0.05$ ) olduğu belirlenmiştir. İnkübasyonu 43°C'de gerçekleştirilerek üretilen yoğurt örneklerinin sertlik değerlerinin (ortalama 75 g), 37°C'de inkübe edilerek üretilen probiyotik yoğurt örneklerinin sertlik değerlerine (ortalama 67 g) göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin sertlik değerlerinin 28 günlük depolamanın sonunda %40 ile %50 oranında arttığı belirlenmiştir [48]. Çalışma sonunda tespit edilen farklı sıcaklıklarda inkübe edilerek üretilen probiyotik yoğurt örneklerine ait sertlik değerlerinin, Abbasi ve ark. [21]'nin bulduğu değerlerden düşük, Nguyen ve ark. [48]'nin bulunduğu değerler ile uyum içinde olduğu saptanmıştır.

Şekil 3'de görüldüğü üzere probiyotik yoğurt örneklerine ait serum ayrılması değerleri %65.9 ile %76.4 arasında değişmiştir. Örnekler için serum ayrılması değerleri incelendiğinde; en düşük serum ayrılması değerinin 37°C'de inkübe edilerek üretilen probiyotik yoğurt örneklerinde, en yüksek serum ayrılması değerinin ise 42°C'de inkübe edilerek üretilen probiyotik yoğurt örneğinde olduğu belirlenmiştir. Farklı sıcaklıklarda inkübe edilerek üretilen örnekler için serum ayrılması değerleri arasındaki farklılığın önemli olduğu ( $P < 0.05$ ) saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada; *S. thermophilus* ile aşılanan ve 37°C'de ilk jel oluşumu gerçekleşene kadar ( $G' > 5$  Pa) inkübe edilen sütler, her bir dakikada 1°C olmak üzere 30.0 ve 33.5°C'lere soğutulmuş ya da 40.5 ve 44.0°C'lere ısıtılarak pH 4.6'ya ulaşmaya kadar söz konusu sıcaklıklarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sıcaklıkları olarak 40.5°C ve 44.0°C kullanılarak üretilen yoğurt örneklerindeki serum ayrılması değerlerinin, diğer örnekler için daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. En yüksek serum ayrılması değeri 44.0°C'de inkübe edilerek üretilen yoğurt örneğinde saptanırken, en düşük serum ayrılması değeri ise inkübasyon sıcaklığı olarak 30°C kullanılarak üretilen yoğurt örneğinde belirlenmiştir [49]. Düşük inkübasyon sıcaklıklarında üretilen yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerlerindeki azalmanın, yoğurt üretiminde kullanılan bakterilerin fazla miktarda ekzopolisakkarit üretmesinden kaynaklandığı belirtilmektedir [21, 50]. Farklı ticari starter kültürler (Harmony 1.0 ve YF-L902) ile farklı inkübasyon sıcaklıklarında (38, 40 ve 43°C) inkübe edilerek üretilen

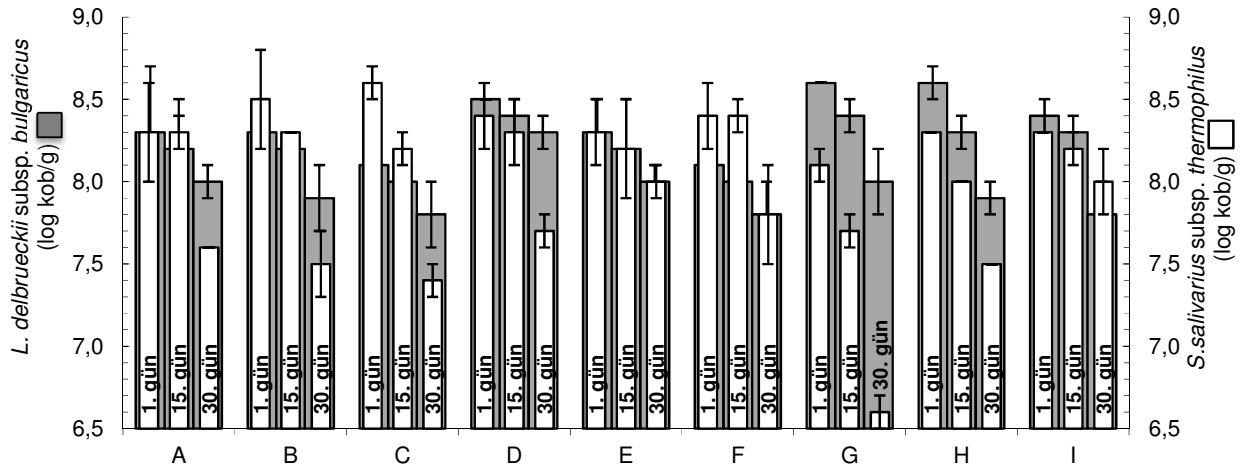
yoğurt örneklerinin 4°C'de 7 günlük depolama sonunda ekzopolisakkarit miktarı belirlenmiştir. Çalışmada, Harmony 1.0 starter kültürü (*S. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus fermentum*) ile üretilen yoğurt örneklerinin ekzopolisakkarit miktarı 38, 40 ve 43°C'lerde sırasıyla yaklaşık 150, 90 ve 240 mg/L olarak belirlenirken, YF-L902 starter kültürü (*S. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) ile üretilen yoğurt örneklerinin ekzopolisakkarit miktarı 38, 40 ve 43°C'lerde sırasıyla yaklaşık 390, 240 ve 250 mg/L olarak saptanmıştır [51]. Yoğurt örneklerindeki ekzopolisakkarit miktarı, yoğurt üretiminde kullanılan starter kültürün çeşidine, inkübasyon sıcaklığına ve örneklerin depolama süresine bağlı olarak değişebilmektedir [51, 52]. Depolama süresince probiyotik yoğurt örneklerine ait serum ayrılması değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte depolamanın 1. ve 15. günlerinde probiyotik yoğurt örneklerine ait serum ayrılması değerleri arasında önemli bir farklılık olmasına rağmen ( $P < 0.05$ ), depolamanın son 15 günlük döneminde probiyotik yoğurt örneklerine ait serum ayrılması değerlerindeki azalmanın önemli olmadığı ( $P > 0.05$ ) belirlenmiştir.

Farklı ısıtma işlem normlarının (95°C/80s, 95°C/256s, 110°C/40s, 110°C/80s, 130°C/20s ve 130°C/80s) ve inkübasyon sonlandırma pH değerlerinin (pH 4.4-4.8) yoğurdun fiziksel özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; inkübasyonları farklı pH'larda sonlandırılan yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerlerinin %75.7 ile %79.6 arasında değiştiği, inkübasyon sonlandırma pH'sı 4.4'den 4.8'e çıkarıldığında örneklerdeki serum ayrılması değerlerinin arttığı belirlenmiştir [34]. Çalışmamızda inkübasyonları farklı pH değerlerinde sonlandırılarak üretilen probiyotik yoğurt örneklerine ait serum ayrılması değerleri Küçükçetin [34]'in çalışmasında belirlediği değerlerle uyumluluk göstermekle birlikte, çalışmamızda farklı inkübasyon sonlandırma pH'ları kullanılarak üretilen probiyotik yoğurt örneklerine ait serum ayrılması değerleri arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı ( $P > 0.05$ ) saptanmıştır.

Mikrobiyolojik analizler sonucunda probiyotik yoğurt örneklerinde tüm depolama süresince *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının 7.8 ile 8.6 log kob/g arasında değiştiği saptanmıştır (Şekil 4). İnkübasyonu 45°C'de gerçekleştirilmiş probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı, 37°C ve 42°C'de inkübe edilmiş sütlerden üretilen probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısından yüksek bulunmuş, üretimlerinde 37°C ve 42°C inkübasyon sıcaklığı kullanılan probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayıları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ( $P > 0.05$ ) tespit edilmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının, inkübasyonun pH 4.4'de sonlandırılması ile üretilen probiyotik yoğurt örneklerinde inkübasyonun pH 4.8'de sonlandırılarak üretilen probiyotik yoğurt örneklerine göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının depolama süresince azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 3. Probiyotik yoğurt örneklerine ait serum ayrılması değerleri (%)  
**A-I:** Kodların açıklaması için bakınız Şekil 1. Her bir bar, probiyotik yoğurt örneklerinin farklı depolama günlerine ait ortalama serum ayrılması değerlerini; hata çubukları ise standart sapma değerlerini göstermektedir.

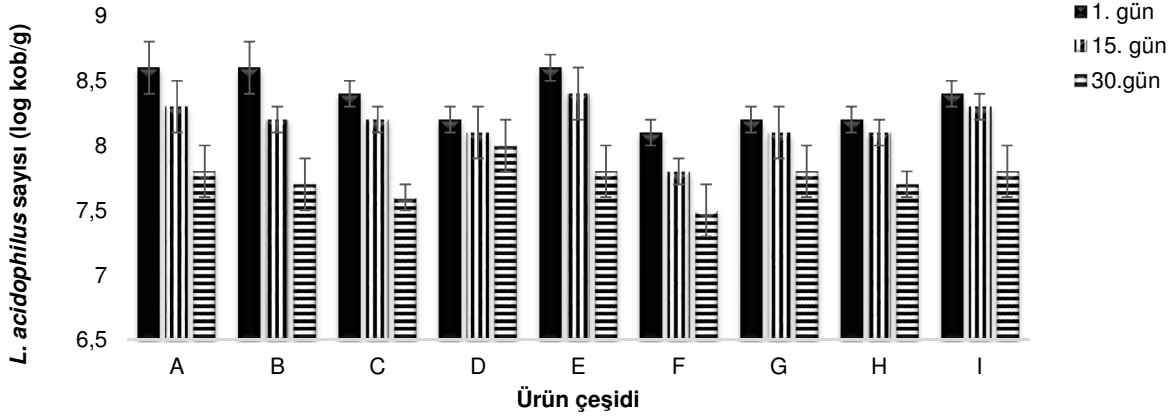


Şekil 4. Probiyotik yoğurt örneklerine ait *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayısı (log kob/g)  
**A-I:** Kodların açıklaması için bakınız Şekil 1. Her bir bar, probiyotik yoğurt örneklerinin farklı depolama günlerine ait ortalama *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayısını; hata çubukları ise standart sapma değerlerini göstermektedir.

Probiyotik yoğurt örneklerinde depolama süresince *S. thermophilus* sayısının 6.6 ile 8.6 log kob/g arasında değiştiği saptanmıştır (Şekil 4). İnkübasyonu 42°C'de yapılan süttten üretilen probiyotik yoğurt örneklerinde *S. thermophilus* sayısı, 37°C ve 45°C'de inkübe edilen süttlerden üretilen probiyotik yoğurt örneklerindeki *S. thermophilus* sayısından düşük bulunmuştur. İnkübasyon sonlandırma pH'sı 4.6 ve 4.8 olan probiyotik yoğurt örneklerindeki *S. thermophilus* sayıları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ( $P>0.05$ ), inkübasyonu pH 4.4'de sonlandırılan probiyotik yoğurt örneklerindeki *S. thermophilus* sayısının ise diğer örneklerle göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Probiyotik yoğurt örneklerindeki ortalama *S. thermophilus* sayısının depolama boyunca azaldığı, bu azalmanın istatistiksel açıdan önemli olduğu ( $P<0.05$ ) belirlenmiştir.

*L. acidophilus* sayısının probiyotik yoğurt örneklerinde tüm depolama süresince 7.5 ile 8.6 log kob/g arasında değiştiği saptanmıştır (Şekil 5). İnkübasyonu 37°C'de yapılan süttten üretilen probiyotik yoğurt örneklerindeki *L.*

*acidophilus* sayısı, 42°C ve 45°C'de inkübe edilmiş süttlerden üretilen probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. acidophilus* sayısından yüksek bulunmuş ( $P<0.05$ ), 42°C ve 45°C'de inkübe edilerek üretilen probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. acidophilus* sayıları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ( $P>0.05$ ) tespit edilmiştir. Farklı kurumadde, inkübasyon sıcaklığı ve inkübasyon sonlandırma pH'sının probiyotik yoğurdun biyokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, en yüksek *L. acidophilus* sayısı 37°C'de pH 4.5'a ulaşıncaya kadar inkübe edilerek üretilen yoğurt örneklerinde 7.31 log kob/g olarak belirlenirken, en düşük *L. acidophilus* sayısı 44°C'de pH 4.2'ye ulaşıncaya kadar inkübe edilerek üretilen probiyotik yoğurt örneklerinde 6.94 log kob/g olarak saptanmıştır [53]. *L. acidophilus* ve yoğurt starter kültürü ile yüksek inkübasyon sıcaklıklarında üretilen yoğurtlarda *L. acidophilus* sayısındaki azalmanın, yoğurt bakterilerinin *L. acidophilus* gelişimini baskılamasından kaynaklandığı belirtilmiştir [54].



Şekil 5. Probiyotik yoğurt örneklerine ait *L. acidophilus* sayısı (log kob/g)  
**A-I:** Kodların açıklaması için bakınız Şekil 1. Her bir bar, probiyotik yoğurt örneklerinin farklı depolama günlerine ait ortalama *L. acidophilus* sayısını; hata çubukları ise standart sapma değerlerini göstermektedir.

İnkübasyonları farklı pH'larda sonlandırılarak üretilen probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. acidophilus* sayıları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu ( $P < 0.05$ ); en yüksek ve en düşük *L. acidophilus* sayılarının sırasıyla inkübasyonu pH 4.4'de ve pH 4.8'de sonlandırılarak üretilen probiyotik yoğurt örneklerinde olduğu tespit edilmiştir. Donkor ve ark. [55] yaptıkları çalışmada *L. acidophilus* LAFTI® L10, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Lb1466 ve *S. thermophilus* St1342 ile inoküle edilen sütleri pH 4.60 ve 4.45'e kadar inkübe ederek probiyotik yoğurt üretmişlerdir. İnkübasyon sonlandırma pH'sı 4.60 ve 4.45 olan probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. acidophilus* sayısı sırasıyla 4°C'de depolamanın 1. gününde 8.34 ve 8.32 log kob/g, 14. gününde 7.68 ve 7.85 log kob/g ve 28. günde 8.17 ve 8.32 log kob/g olarak belirlenmiştir. Yoğurtta depolama süresince yoğurt bakterileri ve *L. acidophilus* proteolitik aktivitelerini sürdürmekte ve yoğurt örneklerinde proteoliz sonucunda oluşan metabolitler *L. acidophilus*'un canlılığını olumlu etkilemektedir. Yoğurt örneklerinde inkübasyon sonlandırma pH'sının düşmesi *L. acidophilus*'un gelişimini teşvik eden peptitler, aminoasitler gibi temel büyüme ürünlerinin oluşumuna neden olabileceği belirtilmiştir [55]. *L. acidophilus* sayısının depolama süresince azaldığı ( $P < 0.05$ ) ve örneklerde en düşük *L. acidophilus* sayısının depolamanın 30. gününde olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte çalışma sonucunda tüm probiyotik yoğurt örneklerinde depolama sonunda yeterli sayıda *L. acidophilus* ( $\geq 10^7$  kob/g) bulunduğu saptanmıştır.

## SONUÇ

Bu çalışmada, üretimlerinde farklı inkübasyon sıcaklıkları ve inkübasyon sonlandırma pH'larının kullanılmasının probiyotik yoğurt örneklerinin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine önemli etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur. Probiyotik yoğurt örneklerinde depolama süresi ile orantılı olarak serum ayrılması değerlerinde azalma, viskozite ve sertlik değerlerinde ise artış meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca örneklerdeki

en yüksek viskozite ve sertlik değerleri, üretiminde inkübasyon sıcaklığı olarak 45°C kullanılarak üretilen probiyotik yoğurtlarda, en düşük serum ayrılması değerleri ise 37°C'de inkübe edilerek üretilen probiyotik yoğurtlarda saptanmıştır. İnkübasyonu farklı pH'larda sonlandırmanın probiyotik yoğurdun sertlik ve serum ayrılması değerleri üzerine etkisi istatistiksel açıdan önemsiz ( $P > 0.05$ ) bulunurken, inkübasyon sonlandırma pH'sının artışıyla birlikte probiyotik yoğurt örneklerine ait viskozite değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Örneklerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus* ve *L. acidophilus* sayılarının farklı inkübasyon sıcaklığı ve inkübasyon sonlandırma pH'larına bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Depolama süresince probiyotik yoğurt örneklerindeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus* ve *L. acidophilus* sayısının azaldığı tespit edilmiştir. Üretilen probiyotik yoğurt örnekleri *L. acidophilus*'un bulunabilirliği açısından değerlendirildiğinde, örneklerin tüm depolama süresince  $\geq 10^7$  kob/g üzerinde probiyotik bakteri içerdiği saptanmıştır.

## KAYNAKLAR

- [1] Özcan, T., Erbil, F., Kurdal, E., 1998. Sütün insan beslenmesindeki önemi. İçme Sütü Sempozyumu Bildiri Kitabı. Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ.
- [2] Milci, S., 2008. Çiğ ve Pastörize Sütten Üretilen Beyaz Peynirlerin Üretimi Ve Olgunlaşma Döneminde Stafilokokal Enterotoksin Miktarının Belirlenmesi. Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [3] Yetişmeyen, A., Deveci, O., 2000. Üçüncü bin yılın başında Türkiye süt sektörünün durumu ve Avrupa'daki konumu. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, Tekirdağ.
- [4] Anonim, 2009. Türk Gıda Kodeksi-Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2009/25). Başbakanlık



- Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü, Ankara.
- [5] Anonymous, 2016. Yoghurt's health benefits. <http://www.foodnavigator.com/Science-Nutrition/Yoghurt-s-health-benefits>. Erişim Tarihi: 24.03.2016
- [6] Küçükçetin, A., Yaygın, H., 2003. Fermente süt ürünlerinin sağlık üzerine etkileri. *Akademik Gıda* 4: 7-13.
- [7] Shortt, C., 1999. The probiotic century: Historical and current perspectives. *Trends in Food Science and Technology* 10: 411-417.
- [8] Ghadimi, D., Ister-Holst, R.F., de Vrese, M., Winkler, P., Heller, K.J., Schrezenmeir, J., 2008. Effects of probiotic bacteria and their genomic DNA on TH1/TH2-cytokine production by peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of healthy and allergic subjects. *Immunobiology* 213: 677-692.
- [9] West, N.P., Horn, P.L., Pyne, D.B., Gebiski, V.J., Lahtinen, S.J., Fricker, P.A., Cripps, A.W., 2014. Probiotic supplementation for respiratory and gastrointestinal illness symptoms in healthy physically active individuals. *Clinical Nutrition* 33: 581-587.
- [10] Kim, H.S., Gilliland, S.E., 1983. *Lactobacillus acidophilus* as dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. *Journal of Dairy Science* 66: 959-966.
- [11] Tamime, A.Y., Robinson, R.K., 1988. Fermented milks and their future trends. Part II. Technological aspects. *Journal of Dairy Research* 55: 281-307.
- [12] Driessen, F.M., Boer, R., 1989. Fermented milks with selected intestinal bacteria; A healthy trend in new products. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 43: 367-382.
- [13] Rasic, J.L., Kurmann, I.J., 1983. Bifidobacteria and Their Role. Birkhäuser Verlag, Basel.
- [14] Eden, D.V., 1988. Growth of yoghurt consumption by the American consumer. *Cultured Dairy Products Journal* 23 (4): 26-37.
- [15] Casarotti, S.N., Penna, A.L.B., 2015. Acidification profile, probiotic in vitro gastrointestinal tolerance and viability in fermented milk with fruit flours. *International Dairy Journal* 41: 1-6.
- [16] Van de Castele, S., Vanheuverzwijn, T., Ruysen, T., van Assche, P., Swings, J., Huys, G., 2006. Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yoghurt or cheese starters. *International Dairy Journal* 16 (12): 1470-1476.
- [17] Erşan, S., 2011. *Bacillus indicus* HU36'nın Yoğurt Üretiminde Kullanımı ve Kalite Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 77ss, İstanbul.
- [18] Akalın, A.S., Göncü, S., 1995. Yoğurt benzeri ekşi süt mamullerinden biyoyoğurt, bifiyoğurt ve biyogarde üretim teknolojisi. 3. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 2-3 Haziran 1994. MPM Yayın No:548, 264-312, Ankara.
- [19] Gürsoy, O., Gökçe, R., Gökalp, H.Y., 1999. Yoğurt benzeri fermente süt ürünlerinden asidofilus-bifidus yoğurdunun üretim teknolojisi ve sağlık üzerine etkileri. *TMMOB Gıda Mühendisliği Dergisi* 3 (6): 19-24.
- [20] Atamer, M., Sezgin, E., 1987. İnkübasyon sonu asitliğinin yoğurt kalitesi üzerine etkisi. *Gıda* 12 (4): 213-220.
- [21] Abbasi, H., Mousavi, M.E., Ehsani, M.R., Jomea, Z.E., Vaziri, M., Rahimi, J., Aziznia S., 2009. Influence of starter culture type and incubation temperatures on rheology and microstructure of low fat set yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 62 (4): 549-555.
- [22] Köksöy, A., Kılıç, M., 2004. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. *Food Hydrocolloids* 18: 593-600.
- [23] Özer, B., 2006. Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi. Sidas yayınları, 486ss, Şanlıurfa.
- [24] Emirdağı, H., 2014. Resveratrolün Yoğurtta Tekstürel Nitelikleri Geliştirme Olanakları. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [25] Anonim, 2002. TS 1018 Çiğ İnek Sütü Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, 14ss, Ankara.
- [26] Anonim, 1995. TS 8189 Sütte Yağ Tayini-Gerber Metodu (Rutin Metod) Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- [27] Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A., 1993. Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi. Atatürk Üniversitesi Yayınları. No: 252, 238ss, Erzurum.
- [28] Anonymous, 1986. Milk determination of nitrogen content (Kjeldahl Method) and calculation of crude protein content. International IDF Standard, 20A, Belgium.
- [29] Anonymous, 1987. Milk, cream and evaporated milk. Determination of total solids content. Reference Method. International IDF Standard, 21B, Belgium.
- [30] Oysun, G., 1991. Süt Ürünlerinde Analiz Yöntemleri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, İzmir.
- [31] Anonymous, 1991. Yoghurt-determination of titratable acidity. International IDF Standard, Belgium.
- [32] Shihata, A., Shah, N.P., 2002. Influence of addition of proteolytic strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* to commercial ABT starter cultures on texture of yoghurt, exopolysaccharide production and survival of bacteria. *International Dairy Journal* 12 (9): 765-772.
- [33] Haque, A., Richardson, R.K., Morris, E.R., 2001. Effect of fermentation temperature on the rheology of set and stirred yogurt. *Food Hydrocolloids* 15 (4-6): 593-602.
- [34] Küçükçetin, A., 2008. Effect of heat treatment of skim milk and final fermentation pH on graininess and roughness of stirred yogurt. *International Journal of Dairy Technology* 61 (4): 385-390.
- [35] Anonymous, 2001. Milk and milk products-general guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination. International IDF Standard, 122, Belgium.
- [36] Tabasco, R., Paarup, T., Janer, C., Peláez, C., Requena, T., 2007. Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus*

- thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. *International Dairy Journal* 17 (9): 1107- 1114.
- [37] Phillips, M., Kailasapathy, K., Tran, L., 2006. Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. *International Journal of Food Microbiology* 108 (2): 276-280.
- [38] Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F., 1987. Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik II). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara.
- [39] Anonim, 2006., TS 1330 Yoğurt Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, 11ss, Ankara.
- [40] Kavaz, A., 2012. Farklı prebiyotik kombinasyonları ile üretilen probiyotik yoğurtların organik asit miktarı, aroma profili ve diğer kalite özelliklerinin tespiti. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [41] Ribeiro, M.C.E., Chaves, K.S., Gebara, C., Infante, F.N.S., Grosso, C.R.F., Gigante, M.L., 2014. Effect of microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 on physicochemical, sensory and microbiological characteristics of stirred probiotic yoghurt. *Food Research International* 66: 424-431.
- [42] da Silva, D.C.G., de Abreu, L.R., Assumpção, G.M.P., 2012. Addition of water-soluble soy extract and probiotic culture, viscosity, water retention capacity and syneresis characteristics of goat milk yogurt. *Ciência Rural* 42(3): 545-550.
- [43] Rönnegard, E., Dejmek, P., 1993. Development and breakdown of structure in yoghurt studied by oscillatory rheological measurements. *Le Lait* 73 (4): 371-379.
- [44] Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, S., Corrieu, G., 2004. The relative effect of milk base, starter, and process on yogurt texture: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44: 113-137.
- [45] Lee, W.J., Lucey J.A., 2004. Rheological properties, whey separation, and microstructure in set-style yogurt: Effects of heating temperature and incubation temperature. *Journal Texture Studies* 34: 515-536.
- [46] Lankes, H., Özer, H.B., Robinson, R.K., 1998. The effect of elevated milk solids and incubation temperature on the physical properties of natural yoghurt. *Milchwissenschaft* 53: 510-513.
- [47] Schellhaass, S.M., Morris, H.A., 1985. Rheological and scanning electron microscopic examination of skim milk gels obtained by fermenting with ropy and non-ropy strains of lactic acid bacteria. *Food Structure* 4 (2): 279-287.
- [48] Nguyen, H.T.H., Ong, L., Kentish, S.E., Gras, S.L., 2014. The effect of fermentation temperature on the microstructure, physicochemical and rheological properties of probiotic buffalo yoghurt. *Food Bioprocess Technology* 7 (9): 2538-2548.
- [49] Peng, Y., Horne, D.S., Lucey, J.A., 2010. Physical properties of acid milk gels prepared at 37°C up to gelation but at different incubation temperatures for the remainder of fermentation. *Journal of Dairy Science* 93 (5): 1910-1917.
- [50] Cerning, J., 1990. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology* 87: 113-130.
- [51] Feldmane, J., Ciprovica, I., Semjonovs, P., Linde, R., 2014. The Influence of Fermentation Temperature on the Development of Exopolysaccharides in Yoghurt Production. *Foodbalt 9th Baltic Conference on Food Science and Technology*, 266-270.
- [52] Rabha, B., Victor, L., Miguel, A., María, F., Ahmed, B., 2011. Effect of fermentation conditions (culture media and incubation temperature) on exopolysaccharide production by *Streptococcus thermophilus* BN1. *International Conference on Biology, Environment and Chemistry* 24: 433-437.
- [53] Shafiee, G., Mortazavian, A.M., Mohammadifar, M.A., Koushki, M.R., Mohammadi, A., Mohammadi, R., 2010. Combined effects of dry matter content, incubation temperature and final pH of fermentation on biochemical and microbiological characteristics of probiotic fermented milk. *African Journal of Microbiology Research* 4: 1265-1274.
- [54] Mortazavian, A.M., Ehsani, M.R., Mousavi, S.M., Reinheimer, J.A., Emamdjomeh, Z., Sohrabvandi, S., Rezaei, K., 2006. Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic microorganisms in freshly made yogurt. *International Journal of Dairy Technology* 59: 8-11.
- [55] Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N.P., 2006. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal* 16: 1181-1189.