

**AYRANIN KONJUGEL NOLE KAS T M KTARINA LAKT K
DESTEK KÜLTÜR KULLANIMININ ETK S**

**Pamukkale Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

Hilal ÇOLAKO LU


Danışman: Yrd. Doç. Dr. O uz GÜRSOY

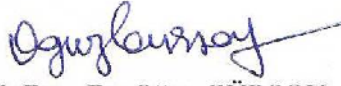
**ubat, 2010
DEN ZL**

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU

Hilal ÇOLAKOĞLU tarafından Yrd. Doç. Dr. Oğuz GÜRSOY yönetiminde hazırlanan "Ayranın Konjuge Linoleik Asit Miktarına Laktik Destek Kültür Kullanımının Etkisi" başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Özer KINIK
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON
Jüri Üyesi


Yrd. Doç. Dr. Oğuz GÜRSOY
Jüri Üyesi (Danışman)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun
19/02/2019 tarih ve 15/13.. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Halil KARAHAN
Müdür

TE EKKÜR


Yüksek lisans çalışmam sırasında beni yönlendiren ve deneyimlerinden yararlandığım danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Ouz GÜR SOY'a, analizlerin yapımı amacıyla yardımlarını esirgemeyen ve bana yol gösteren hocalarım sayın Yrd. Doç. Dr. Yusuf YILMAZ'a, Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON'a, Yrd. Doç. Dr. Ramazan GÖKÇE'ye, Araş. Gör. Dr. Oktay YEMİNE'ye, Araş. Gör. Engin DEMRAY ile Gıda Mühendisliği Bölümü'nün diğer öğretim üyelerine ve Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden sayın Uzm. Abdullah AKDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Gıda Müh. Aliye ERGİNE'ye, Gıda Müh. Rana SELÇUK'a, Gıda Müh. Serap ÖZEL ile diğer arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmayı destekleyen Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (PAÜ BAP Proje No: 2008FBE016) ve ayran üretiminlerinin yapıldığı Sümer Süt Ürünleri Ltd. Ti.'den sayın Mehmet KOYUNCUOLU ve Gıda Mühendisi İbrahim DEMİRBAŞ'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım boyunca bana maddi ve manevi açıdan destek olan aileme teşekkür ederim.

Hilal ÇOLAKOLU

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza : 

Öğrenci Adı Soyadı : Hilal ÇOLAKOĞLU

ÖZET**AYRANIN KONJUGE LINOLEİK ASİT MİKTARINA LAKTİK DESTEK KÜLTÜR KULLANIMININ ETKİSİ**

Çolakoğlu, Hilal
Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği ABD
Tez Yöneticisi: Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜRSOY

Ekim 2010, 49 Sayfa

Bu çalışmada ayran üretiminde destek kültür kullanımının ayranın konjuge linoleik asit (KLA) miktarına etkisini araştırılmıştır. Ayran üretimleri endüstriyel koşullarda yapılmıştır. Üretimde kullanılan ayran kültürüne (*Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) ilave olarak, ayranlara ayrı ayrı *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739 ve *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IO-1 bakterileri destek kültür olarak ekilmiş ve kontrol örneği de dahil olmak üzere 3 farklı ayran üretilmiştir. KLA üretimini desteklemek için her bir ayran grubuna son üründe 0.1g/L olacak şekilde ayçiçeği yağı (linoleik asit kaynağı substrat olarak) ilave edilmiştir. 4°C’de 10 günlük depolama süresi boyunca depolamanın belirli günlerinde rasgele alınan örneklerin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri belirlenmiştir. Genel olarak çalışmada verileri ilgili çalışmaları koşullarında destek kültür olarak *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739’un kullanımının ayranın KLA miktarını arttırdığını göstermiştir ($p<0.01$). Kullanılan destek kültürler ayranların duyuşal özellikleri üzerinde herhangi bir negatif etki meydana getirmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Ayran, Konjuge linoleik asit, Sağlık, Fonksiyonel süt ürünü, Destek kültür

Prof. Dr. Özer KINIK
Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON
Yrd. Doç. Dr. Özgür GÜRSOY

ABSTRACT**EFFECT OF LACTIC ADJUNCT CULTURES ON CONJUGATED LINOLEIC ACID CONTENT OF AYRAN, A YOGHURT DRINK**

Çolako lu, Hilal
M. Sc. Thesis in Food Engineering
Supervisor: Asst. Prof. Dr. O uz GÜRSOY

February 2010, 49 Pages

The effect of adjunct culture addition on conjugated linoleic acid contents of ayran, a yoghurt drink, was determined in this study. Ayran production was carried out under industrial conditions. Ayran samples produced by conventional cultures (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) were used as a control group while *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739 or *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IO-1 were used as adjunct cultures, which were added to ayran samples containing conventional cultures. Sunflower oil (as a substrate for linoleic acid) of 0.1g/L (in final products) was supplemented to each ayran group to accelerate CLA production. Chemical, microbiological and sensory properties of ayran samples were determined during a storage period of 10 days at 4°C. In general, the use of *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739 as an adjunct culture increased CLA concentration in ayran ($p<0.01$). The incorporation of adjunct culture in ayran product had no negative effect on sensory properties of ayran samples.

Keywords: Ayran, Conjugated linoleic acid, Health, Functional Dairy Product, Adjunct culture

Prof. Dr. Özer KINIK
Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON
Asist. Prof. Dr. O uz GÜRSOY

Ç İNDEK İLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| Yüksek Lisans Tezi Onay Formu..... | I |
| Teşekkür Sayfası..... | II |
| Bilimsel Etik Sayfası..... | III |
| Özet..... | IV |
| Abstract..... | V |
| Çindekiler..... | VI |
| Resimler Dizini..... | VIII |
| Tablolar Dizini..... | IX |
| | |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 1.1. Konjuge Linoleik Asit (KLA)..... | 1 |
| 1.2. KLA'nın Biyosentezi..... | 2 |
| 1.3. KLA'nın Sağlık Üzerine Etkileri..... | 4 |
| 1.3.1. Antikarsinojenik Etkisi..... | 4 |
| 1.3.2. Obezite Üzerine Etkisi..... | 7 |
| 1.3.3. Kolesterol Düzürücü Etkisi..... | 9 |
| 1.3.4. Bağımsızlık Sistemi Üzerine Etkisi..... | 10 |
| 1.3.5. Antidiyabetik Etkisi..... | 11 |
| 1.4. KLA'nın Kaynakları..... | 12 |
| 1.5. Süt Ürünlerinde KLA Miktarına Etki Eden Faktörler..... | 13 |
| 1.5.1. Starter Kültür Kullanımının KLA miktarına Etkisi..... | 14 |
| 1.5.1.1. Laktobasil, Laktokok Streptokoklar ile KLA oluşumu..... | 16 |
| 1.5.1.2. Bifidobakteriler ile KLA oluşumu..... | 20 |
| 1.5.1.3. Propiyonik Asit Bakterileri ile KLA oluşumu..... | 21 |
| 1.5.1.4. Immobilize Laktik Asit Bakterileri..... | 22 |
| 2. MATERYAL VE METOT..... | 23 |
| 2.1. Materyal..... | 23 |
| 2.1.1. Süt..... | 23 |
| 2.1.2. Bakteri Kültürleri..... | 23 |
| 2.2. Metot..... | 23 |
| 2.2.1. Laktik Destek Kültürlerin Aktivasyonu..... | 23 |
| 2.2.2. Laktik Destek Ağılama Kültürünün Hazırlanması..... | 24 |
| 2.2.3. Ayran Üretimi..... | 24 |
| 2.2.4. Kimyasal Analiz Yöntemleri..... | 26 |
| 2.2.4.1. Örnek Alma..... | 26 |
| 2.2.4.2. Çiğ Süt ve Ayran Örneklerinde Yapılan Kimyasal Analizler... | 26 |
| 2.2.4.3. Ayrandan Yağ Ekstraksiyonu ve Konjuge Linoleik Asit Miktarının Tespiti..... | 26 |
| 2.2.5. Mikrobiyolojik Analizler..... | 28 |
| 2.2.5.1. Mikrobiyolojik analizler için dilüsyonların hazırlanması..... | 28 |
| 2.2.5.2. Laktobasil Sayımı..... | 28 |
| 2.2.5.3. Laktokok Sayımı..... | 28 |
| 2.2.5.4. <i>Lactobacillus reuteri</i> Sayımı..... | 28 |
| 2.2.6. Duyusal Analiz..... | 29 |

| | |
|---|----|
| 2.2.7. statistikî Analizler..... | 29 |
| 3. ARA TIRMA BULGULARI VE TARTI MA..... | 30 |
| 3.1. nek Sütünün Bile imi ve Bazı Özellikleri..... | 30 |
| 3.2. Ayranların Bazı Kimyasal Özellikleri | 30 |
| 3.3. Ayran Örneklerinin Depolama Süresince pH De erlerinin De i imi..... | 31 |
| 3.4. Ayran Örneklerinin Depolama Süresince Titrasyon Asitli i De erlerinin De i imi..... | 33 |
| 3.5. Ayran Örneklerinin Depolama Süresince KLA Konsantrasyonu De i imi..... | 34 |
| 3.6. Ayran Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri..... | 36 |
| 3.7. Ayran Örneklerinin Duyusal Özellikleri..... | 40 |
| 4. SONUÇ..... | 42 |
| KAYNAKLAR..... | 43 |
| ÖZGEÇM | 49 |

EK LLER D Z N

| | Sayfa |
|--|--------------|
| ekil 1.1 Trans-10, cis-12 KLA, cis-9, trans-11 KLA ve linoleik asit..... | 2 |
| ekil 1.2 Rumen biyohidrojenizasyonu ve dokulardaki ⁹ -desaturaz enziminin ruminant ya larında cis-9, trans-11 KLA üretimindeki rolleri..... | 3 |
| ekil 2.1 Ayran üretimi akı eması | 25 |
| ekil 2.2 KLA için 233 nm’de çizilen standart kalibrasyon e risi..... | 27 |
| ekil 3.1 Kontrol ve destek kültür içeren ayran örneklerinin pH de erleri için destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksyonu..... | 32 |
| ekil 3.2 Kontrol ve destek kültür içeren ayran örneklerinin asitlik de eri için destek kültür kullanımı-depolama süresi interaksyonu..... | 34 |
| ekil 3.3 Ayran örneklerinin KLA konsantrasyonu üzerinde destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksyonunun etkisi..... | 35 |
| ekil 3.4 Ayran örneklerinin Laktobasil sayıları üzerinde destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksyonunun etkisi..... | 37 |
| ekil 3.5 Ayran örneklerinin Laktokok sayıları üzerinde destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksyonunun etkisi..... | 39 |
| ekil 3.6 Ayran üretiminde destek kültür olarak kullanılan <i>L. reuteri</i> ’ nin depolama süresince de i imi..... | 40 |

TABLolar D Z N

| | Sayfa |
|--|--------------|
| Tablo 1.1 KLA'nın antikanserojen aktivitesinin olası etki mekanizmaları..... | 6 |
| Tablo 1.2 Bazı süt, et ve deniz ürünlerinde KLA konsantrasyonları | 13 |
| Tablo 1.3 Linoleik asit eklenmi besiyeri ortamlarında (MRS, SLM) ve sütte KLA olu turabilen bakteriler..... | 15 |
| Tablo 1.4 Linoleik asit eklenmi besiyeri ortamlarında (MRS, SLM) ve sütte KLA olu turamayan bakteriler..... | 16 |
| Tablo 3.1 Ayran üretiminde kullanılan çi sütün kimyasal özellikleri..... | 30 |
| Tablo 3.2 Ayran örneklerinin depolamanın 1. gününde belirlenen kimyasal özellikleri..... | 31 |
| Tablo 3.3 Ayran örneklerinin laktobasil ve laktokok sayıları üzerinde destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksyonun etkisi..... | 38 |
| Tablo 3.4 Ayran örneklerinin duyuusal de erlendirme sonuçları (n=24)..... | 41 |

1. G R

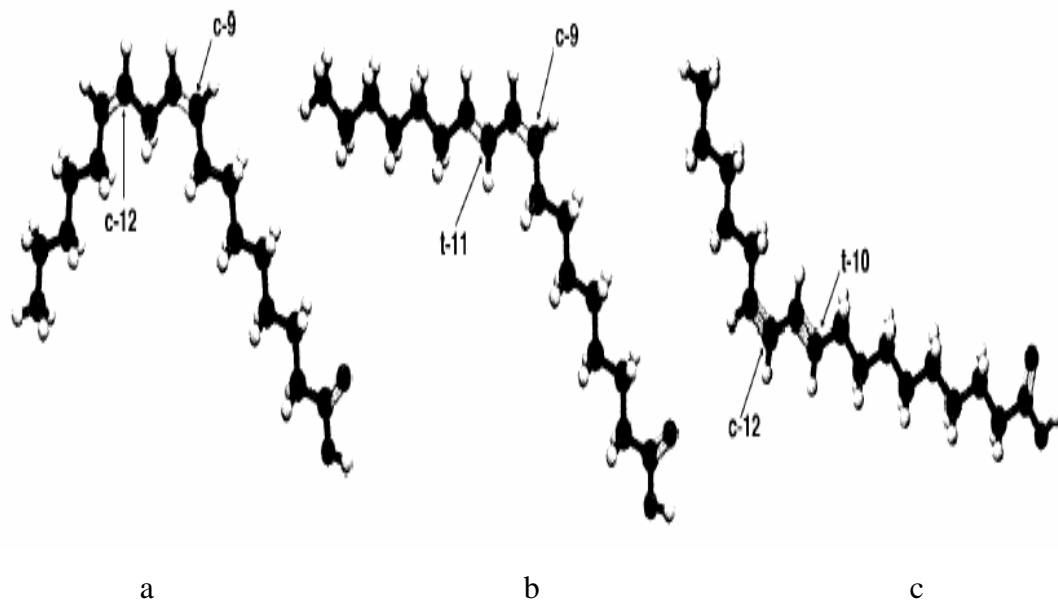
Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde ayran “Yoğurda su katılarak ya da kurumaddesi ayarlanan süte *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*’ un kültürleri katılarak hazırlanan fermente süt ürünüdür” şeklinde tanımlanmıştır (Anonim 2009a). TS 3810 sayılı ayran standardında ise ayran, “TS 1330’a uygun yoğurdu veya TS 1018’e uygun inek veya koyun, keçi ve manda sütlerinin tekniğine uygun olarak işlenmesiyle elde edilen kendine özgü tat, koku, kıvam ve görünümü olan süt ürünüdür” şeklinde tanımlanmaktadır (Anonim 1982).

Türkiye’de Devlet Planlama Teşkilatı’nın (DPT) 1998 yılı verilerine göre, yıllık içme sütü tüketimi 325 ton, beyaz peynir tüketimi 195 ton, kaşar ve diğer peynirlerin tüketimi 90 ton, tereyağı tüketimi 129 ton iken yoğurt ve ayran tüketimi 775 ton civarındadır (Anonim 2001). Süt yağında bulunan konjuge linoleik asitlerin (KLA) sağlıklı üzerindeki çok sayıda olumlu etkisinin belirlenmesinin ardından süt ve süt ürünlerinde doğal olarak bulunan KLA’lar ve bunların ürünlerdeki miktarlarının artırılmasına yönelik araştırmalar artmıştır. Bu bağlamda ülkemizde sevilen tüketilen ayranın KLA miktarının artırılmasıyla daha sağlıklı ve fonksiyonel bir gıda olarak üretilmesiyle ilgili çalışmalar son derece önemlidir.

1.1. KONJUGE LINOLEİK ASİT

Süt yağ gerek teknolojik gerekse insan beslenmesi açısından çok sayıda önemli fonksiyona sahiptir. Örneğin süt yağ peynir gibi fermente süt ürünlerinin aroma ve kalitesini artırırken, bütirat, sfingolipit ve KLA gibi bileşenler içermesiyle insan sağlığı üzerine faydalar sağlar. Bu bileşenler içerisinde belki de en dikkat çekicileri olan KLA’lar, 18 karbon atomuna sahip iki çift bağ içeren linoleik asidin konjuge olmuş pozisyonel ve geometrik izomerlerinin karışımlarıdır. KLA’da bulunan iki çift bağ, karbon zincirindeki 7 ve 9, 8 ve 10, 9 ve 11, 10 ve 12 veya 11 ve 13. pozisyonlarda değişik cis-trans konfigürasyonlarında farklı izomerler halinde sıralanmıştır (Cook ve Pariza 1998, Rainer ve Heiss 2000, Gürsoy vd 2003, Wang ve Jones 2004, Nieuwenhove vd 2006).

KLA'nın süt ürünlerinde 15'ten fazla izomeri bulunmu tur. Bu geometrik ve pozisyonel izomeri arasında cis-9, trans-11 ve trans-10, cis-12 izomerleri fizyolojik olarak en önemli izomerlerdir ve sırasıyla süt ya ında bulunan toplam KLA'nın %80-90 ve %3-5'ini olu turmaktadırlar. KLA' lardan cis-9, trans-11 KLA, rumenik asit veya cis-9, trans-11 oktadekadienoik asit olarak da isimlendirilmektedir. Oktadekadienoikler, zaman zaman KLA ile e anlamlı olarak da kullanılmaktadırlar (Roach vd 2002, Luna vd 2007).



ekil 1.1 a) linoleik asit (cis-9, cis-12) b) cis-9, trans-11 KLA, c) trans-10, cis-12 KLA

1.2. KLA' nın Biyosentezi

Daha önceki bilgilerin aksine yapılan son ara tırmalar ruminant olmayan hayvanların ve insanların ba ırsaklarında bulunan mikroorganizmaların da linoleik asitten çok sınırlı düzeyde de olsa KLA sentezleyebildi ini göstermi tir (Luna vd 2007). Ancak insan diyetleri için KLA'nın ana kayna ını ruminant hayvanlardan elde edilen et, süt, peynir, tereya ı, yo urt, krema ve dondurma gibi süt ürünleri olu turmaktadır (Muller ve Delahoy 2005).

KLA izomerleri, linoleik ve linolenik gibi çoklu doymamı ya asitlerinin rumende *Butyrivibrio fibrosolvans* mikroorganizması tarafından üretilen linoleik asit izomeraz

enzimi ile stearik aside (C18:0) biyohidrojenizasyonu sırasında meydana gelen ara ürünlerdir (Bauman vd 2001, Sebedio vd 2003).

Biyohidrojenizasyon, doymamı ya asitlerinin izomerizasyonla doymu ya asitlerine dönüşümü ve rumen bakterileri tarafından doymamı ya asitlerinin biyohidrojenizasyonunu içine alan genel bir terimdir (Çelik 2006).

KLA, linoleik asidin biyohidrojenizasyonu sırasında ara ürün olarak ya da vücutta trans-vaksenik asidin ⁹ desaturaz enzimi etkisiyle oluşur (Bauman vd 2001, Muller ve Delahoy 2005.). Ruminantlarda yemlerle alınan doymamı ya asitleri rumendeki bakteriler tarafından biyohidrojenizasyonla doyurulur. Rumendeki biyohidrojenizasyonun ilk adımı izomerizasyonla cis-12 çift bağının trans-11 ekline dönüşmesi ve böylece konjuge di veya trienoik ya asidinin oluşmasıdır. İkinci adım, cis-9 çift bağının redüksiyonu ile trans-11 (vaksenik asit) ya asidinin oluşmasıdır. Üçüncü adım ise, trans-11 (vaksenik asit) çift bağının redüksiyonu ile trans-11 (vaksenik asit) çift bağının hidrojenizasyonuna uğrayıp stearik aside dönüşmesidir. Rumenden biyohidrojenizasyonuna uğramadan geçen vaksenik asit dokularda ⁹-desaturaz enziminin etkisiyle KLA'ya dönüşür (Bauman vd 2001).

| RUMEN | DOKULAR |
|--|---|
| Rasyondaki Linoleik asit | |
| Cis-9, cis-12 C _{18:2} | Cis-9, cis-12 C _{18:2} |
| Cis-9, trans-11 C _{18:2} (KLA) | Cis-9, trans-11 C _{18:2} (KLA) |
| Trans-11 C _{18:1} (Vaksenik asit) | ⁹ -desaturaz Trans-11 C _{18:1} (Vaksenik asit) |
| C _{18:0} (Stearik asit) | C _{18:0} cis-9 C _{18:1} |

ekil 1.2 Rumen biyohidrojenizasyonu ve dokulardaki ⁹-desaturaz enziminin ruminant yağlarında cis-9, trans-11 KLA üretimindeki rolleri (Bauman vd 2001)

Bunun yanı sıra, gıdalarda linoleik asidin konjuge linoleik aside dönüşüm mekanizması tam olarak aydınlatılamamakla birlikte i kembede bulunan

mikroorganizmaların enzimatik faaliyetlerinin KLA olu umunda etkili oldu u dü ünülmektedir. KLA olu umunda, cis-9, cis-12 oktadekadienoik asitde hem çift ba ın karbon zinciri boyunca göçü hem de çift ba ın etrafındaki geometrik (cis, trans) izomerizasyon birlikte yeralmaktadır (Lavillonniere vd 1998).

Son yıllarda yapılan çalı malarda KLA' nın kanser, ateroskleroz ve eker hastalıklarını engelleyebildi i, vücut ya ı içeri ini azaltabildi i, kemik mineralizasyonunu arttırabildi i ve immün sistemini kuvvetlendirebildi i tespit edilmi tir (Pariza 1991, Cook ve Pariza 1998, Jiang vd 1998, Rainer ve Heiss 2000, Muller ve Delahoy 2005). KLA' nın bu etkileri doza, izomer çe idine, türe ve kullanıldı ı metabolik duruma göre de i mektedir. Diyet, insanda KLA' nın ana kayna ı olmakla birlikte günlük KLA tüketimi ile ilgili bilgilerimiz oldukça sınırlıdır. Hayvanlar üzerindeki çalı malarda yapılan ekstrapolasyondan tahmin edildi ine göre söz konusu etkilerin görülmesi için günde 3 g KLA' nın tüketilmesi gerekmektedir (Ip vd 1994). Yine yapılan bir çalı maya göre ise, 70 kg a ırlı ında sa lıklı bir insanın günde 1.3-3 g KLA tüketmesi önerilmektedir (Muller ve Delahoy 2005).

1.3. Konjuge Linoleik Asidin Sa lık Üzerine Etkileri

Yirmi yılı a kın bir süredir deney hayvanları üzerinde yapılan çalı malarda süt ürünlerinde bulunan çoklu doymamı ya asitlerinin bir grubu olan KLA izomerlerinin kanseri, diyabet ba langıcını, obeziteyi önlemeye ve kolesterolü dü ürmeye yardımcı etkileri oldu u belirlenmi tir (Wang ve Jones 2004, Mandir ve Goodlad 2008).

1.3.1. Antikarsinojenik Etkisi

Kanser; canlıyı olu turan hücrelerden herhangi bir türünün yapı ve fonksiyon bakımından normalden saparak kontrolsüz bir ekilde ço alması demektir. Hızla ço almaya ba layan bu atiptik hücreler bir yandan ait oldukları dokuda / organda i lev bozuklukları yaparken öte yandan da di er doku ve organları da istila ederler. Onlarında i levini bozmak suretiyle canlıyı hastalandırırılar (Akdur 1993). Alkol ve tütün kullanımı alı kanlıkları, çevre kirlili i, meslek türleri, jeofizik etkenler, çe itli enfeksiyonlar, ilaçlar, genetik yatkınlık ve beslenme alı kanlıkları hastalı ın nedenleri arasında yer alır. Dünya Sa lık Örgütü (WHO) 2007 yılı verilerine göre dünyadaki ölümlerin %13'ü

kanserden kaynaklanmaktadır. 2004 Yılı WHO verilerine göre de dünyada erkeklerde en sık rastlanılan kanser türleri sırayla; akci er, mide, prostat, kolon/rektum ve karaci er kanserleri iken, kadınlarda bu durum meme, serviks, kolon/rektum, akci er ve mide kanseri olarak sıralanmaktadır (Anonim 2009c). Farklı kaynaklara göre kanser olu umunun beslenme ile ilgisi %10-70, ortalama %35 olarak kabul edilmektedir (McGuire ve McGuire 2000). Tüketilen gıdaların kalite ve miktarları yeni olu an hücreler için çok büyük önem ta ımaktadır. Bireyin beslenme alı kanlıkları birçok kanserin olu umunda önemli bir etken olmaktadır. Tıp bir yandan hastalıkların tedavisinde yeni olanaklar ara tırırken, öte yandan da sa lıklı bir ya am sürdürme, hastalıkları önleme yolunda yo un çalı malar yapmaktadır. Bu alanda en yo un çalı malar beslenme üzerinde sürmektedir (Yazgüno lu 2004, Muhsiro lu 2007).

KLA'nın antikanserojen etkisi tek bir mekanizmaya ba lı olmayıp, de i ik etkile im ve mekanizmaların bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. KLA'nın antikanser aktivitesini açıklayan muhtemel mekanizmalar Tablo 1.1' de verilmi tir (O'Shea vd 1998). KLA'nın antikanserojenik etkisi fareler sıçanlar ve insan kanser hücreleri üzerinde yapılan çok sayıda deneysel çalı ma sonucunda izlenmi tir. KLA'in izomerleri içerisinde özellikle cis-9, trans-11 izomerinin antikanserojenik etkinli inin en yüksek düzeyde oldu u kabul edilmektedir. Çünkü KLA diyetiyle beslenen farelerin dokularında fosfolipit fraksiyonları ile birle en yalnız bu izomerlerdir (O'Shea vd 1998).

Sentetik KLA'nın antikanserojenik etkisi fareler üzerinde test edilmi ve sonuçta KLA'nın hayvanların çe itli kısımlarında (deri, kolon, meme bezleri) tümör olu umunu geciktirdi i ve azalttı ı gözlemlenmi tir. Ayrıca cis-9, trans-11 izomerlerinin kimyasal olarak indüklenmi sıçan meme kanseri üzerinde etkili bir inhibisyon gösterdi i bildirilmektedir (Pariza vd 2001)

KLA'nın meme kanserinin yanı sıra akci er, karaci er, kolon, ba ırsak ve prostat gibi di er kanser türlerine kar ı da koruyucu oldu u ifade edilmektedir. (Pariza vd 1999, Anonim 2009d) Hasta insanlarda KLA'nın antikanserojen aktivitesinin kesin olarak belirlenebilmesi için klinik bulguların tamamlanması zorunludur.

Tablo 1.1 KLA'nın antikanserojen aktivitesinin olası etki mekanizmaları (O'Shea vd 1998).

- İnsan tümör hücrelerinde güçlü stotoksik lipid peroksidasyon ürünlerine dönüşüm
- Nükleotit ve protein biyosentezinin inhibisyonu
- G0/G1 fazında hücre bölünmesinin bloke edilmesi yolu ile göğüs kanseri hücrelerindeki östrojenle düzenlenen mutajenik döngüde interferans ve protoonkojen baskı
- Lipoksigenaz ve/veya sikloksigenaz döngülerinin de i imine neden olan aradonik asit sentezinin inhibisyonu yolu ile büyümeyi stimüle eden eikosenoidlerin üretiminin azaltılması
- Lenfosit ve makrofaj aktivitesinin stimülasyonu ile hücresel sistemin düzenlenmesi
- Hepatik lipid kompozisyonu ve metabolizmasının düzenlenmesi

KLA izomerlerinin meme karsinogenezini inhibe etme mekanizmalarının belirlenmesiyle ilgili çalışmaların başlangıç aşamasında olduğu söylenebilir. Söz konusu mekanizmalar özetle (i) meme kanseri hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını stimüle eden serum vasküler epitel büyüme faktörü (VEGF) seviyesinde azalma, (ii) anjiogenik aktivitesi olan ve bu nedenle meme epitel hücrelerinin çoğalmasını stimüle edebilen plazma "leptin" (meme bezi meme epitel hücreleri ile bir çok doku ve yağ depo dokusu tarafından sentezlenen ve salgılanan bir hormon) seviyelerinde azalma ve (iii) insülin benzeri büyüme faktöründe (IGF-1 veya IGF-2) azalma veya eikosanoid metabolizmasındaki değişimler olarak ifade edilebilir (Ip vd 2003).

Kolon kanserinden ölümler sıklıkla sistemik metastazın (yayılma) sonucunda görülmektedir. Bu nedenle kolon kanseri tedavisindeki başarıda başlıca faktör metastazdır. Matriks metaloproteinazlar (MMPs) çinko içeren endopeptidazlardır ve anjiogenez, tümör istilası ve metastaz'da anahtar bir rol oynamaktadırlar. Metastazda sahip oldukları çok sayıda fizyolojik fonksiyondan dolayı diyetel faktörler ile MMPs'lerin aktivitelerinin inhibisyonu metastazın önlenmesi ve inhibisyonu için son derece ümit verici bir yaklaşımdır. Soel vd (2003) KLA izomerleri karışımının SW480

kolon kanseri hücrelerinin metastatik özelliklerini inhibe etti ini bildirmi tir. Benzer ekilde Visonneau vd (1997) diyetle alınan %1’lik KLA izomeri karı ımlarının farelere (mice) transplante edilmi insan MDA-MB 468 gö üs kanseri hücrelerinin ço almasını ve akci er metastazını azalttı ını tespit etmi tir. KLA izomeri karı ımlarının metastaz üzerindeki etkileri ile ilgili çalı malara kıyasla izomerlerin bireysel olarak metastaz inhibisyonu üzerindeki etkileri konusu daha az çalı ılan bir konudur. Konu ilgili olarak çok az sayıdaki çalı malardan en yenilerinden birinde cis-9, trans-11 ve trans-10, cis-12 KLA izomerlerinin *in vitro* ve *in vivo* ortamda kolon kanseri hücrelerinin metastazı üzerindeki etkileri ara tırılmı tır (Soel vd 2007). *In vitro* çalı malarda cis-9, trans-11 izomerinin MMP 9 enzimi aktivitesini ve kanser hücrelerinin göçünü azaltıcı etkisi tespit edilmi iken trans-10, cis-12 KLA izomerinin ilgili parametreler üzerine herhangi bir etkisinin olmadı ı belirlenmi tir. Bununla beraber her iki izomerin kolon kanseri hücreleri enjekte edilmi farelerde (mice) akci er nodüllerinin sayısını azaltmada e it etkiye sahip oldukları görülmü tür. *In vitro* ve *in vivo* çalı madaki sonuçların farklılıklarını daha net bir biçimde açıklayabilmek için daha detaylı çalı maların yapılması gerekli görülmektedir. Ancak yukarıdaki açıklanan ara tırmalardan elde edilen pozitif bulgular metastazın önlenmesi ve kolon kanserli hastaların tedavisinin iyile tirilmesi için diyetle yapılacak de i imlerin ve düzenlemelerin son derece önemli bir terapötik yakla ım olabilece ine i aret etmektedir.

1.3.2. KLA’nın Obezite Üzerine Etkileri

Obezite, yüksek kan kolesterolü, eker ve kalp-damar rahatsızlı ı ile ba lantılıdır. Buna ba lı olarak; obezitenin önlenmesi ile vücut a ırlı ı denetiminin ve sa lıklı kolesterol profilinin sa laması ayrıca kalp-damar hastalıklarının azaltılması da sa lanabilecektir (Wang ve Jones 2004).

KLA’nın en önemli ve ilginç olan etkilerinden birisi özellikle genç ve geli mekte olan hayvanlarda vücut ya ının metabolizması üzerinde etkili olmasıdır. Yapılan çalı malarda KLA’ nın vücut ya ını azaltıp, ya sız kas olu umunu arttırdı ı tespit edilmi tir. Vücut kompozisyonundaki bu de i im sıçan, fare, civciv gibi hayvanlarda yapılan birçok ara tırma ile tespit edilmi tir. Fareler üzerinde yapılan bir çalı mada ilginç sonuçlar elde edilmi tir. Diyetlerine trans-10, cis-12 ve sentetik KLA (cis-9,

trans-11 ve trans-10, cis-12 karışımı) ilave edilen diyetlerin vücut yağ miktarları azalırken, yağsız kütle miktarlarının arttığı görülmüştür (Halade vd 2009).

KLA'nın obeziteyi engelleme mekanizmaları; enerji yiyerek mekanizmasını azaltması ve enerji yakımını arttırması, preadipoz farklılaşmasını ve yaygınlaşmasını azaltması, lipogenezi azaltması ve ayrıca lipoliz ve yağ oksidasyonunu arttırması olarak sıralanmaktadır (Wang ve Jones 2004).

KLA, vücuttaki yağ hücreleri tarafından üretilen ve lipoprotein lipaz (LPL) denilen ve yağların vücut hücrelerinde depo edilmesini sağlayan enzimin çalışmasına engel olur ve bu özelliği ile vücutta karbonhidrat veya proteinlerden üretilen yağlar ile dışarıdan alınan ihtiyaç fazlası yağların depolanmasını engeller, ayrıca daha önceden depolanmış yağları kısmen serbest bırakarak mitokondriyal hücrelerde parçalanmak üzere kan akışına dönmesini sağlar (Anonim 2009b). Konuyla ilgili olarak Erciyes Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksek Okulu'nda yapılan bir çalışmada, yağları 24-48 arasında değişen 24 obez kadın iki gruba ayrılarak, birinci grup normal diyetle, ikinci grup ise diyetle ilave olarak günde 1.8 gr KLA verilerek 8 hafta boyunca beslenmiştir. Yürütülen araştırmada KLA verilen kadınların vücut ağırlığı, beden kitle indeksi, beden ve kalça çevresi ölçümlerinde diğer gruba göre önemli azalmaların sağlandığı ayrıca plazmadaki kolesterol düzeylerinin düşüğü belirtilmiştir (nanç 2006).

Bazı önemli araştırmalar diyetin yenilen yiyeceklerin kalorisine ek olarak içeriindeki yağ oranı ve yağ asidi bileşenleri ile ilgili olarak da sonuçları göstermektedir. Yağ hücreleri tarafından yapılan lipoprotein lipaz enzimi (LPL), aslında yağların hücrelerde depolanmasını sağlamaktadır. Yani ne kadar fazla LPL yapılırsa o kadar fazla yağ depolanmaktadır. LPL aynı zamanda üreme hormonları yani kadınlarda östrojen, erkekte ise testosteron tarafından kontrol edilebilmektedir. Bu sebeple cinsiyet farklılığına bağlı olarak diyetin manlamları da farklı olabilmektedir. Kadınlarda meme, kalça ve bacaklarda ki hücreler LPL üretirken, erkekte karın-bel bölgesi hücreleri LPL bakımından oldukça zengindir. Karın bölgesindeki yağlar acil enerji gerektiğinde hemen kullanılırken bacak ve kalçalardaki yağlar daha uzun vadeli gereksinimler için depolanmaktadır. LPL ayrıca verimli kiloların tekrar alınmasında da uyarıcı olmaktadır. Kilo kaybettiğinde kandaki LPL miktarı artarak bu kaybı önlemeye çalışır. Yani kilo kaybı bu enzimi üreten gen merkezini uyarmaktadır. Diyet

yapanların kaybettiği kiloları bu kadar kolay almalarında bu mekanizma ile ilgili olarak düşünülmektedir. Fakat istenilen kiloya inerken ve sonrasında KLA'larca zengin diyetlerle beslenmek LPL enziminin etkinliğini azaltmakta ve yeniden kilo alma gereksinimi sorununu çözmektedir (Anonim 2009b).

KLA'nın hayvanlarda vücut kompozisyonuna etkisi üzerine yapılmış pek çok çalışmada cis-9, trans-11 ve trans-10, cis-12 ana izomerleri ile ayrı ayrı yapılan çalışmalarda ise bu izomerlerin yağ metabolizması üzerine olan etkilerinin farklı olduğu görülmüştür, sıçan ve hamsterlerde vücut yağ miktarını azaltmakta trans-10, cis-12 izomerlerinin cis-9, trans-11 izomerinden çok daha etkili olduğu bildirilmiştir (Wang ve Jones 2004).

İnsan vücut kompozisyonundaki değişikliklerin KLA'ya cevabı yukarıdaki çalışmalarda görüldüğü gibi doza ve izomer çeşidine bağlı olarak genellikle vücut yağ miktarını denetlemeyen vücut yağ miktarını azaltma yönündedir.

1.3.3. Kolesterol Düşürücü Etkisi

Genel olarak KLA'nın bazı fizyolojik yararlı etkileri antioksidant özelliği ile değerlendirilmektedir. KLA'nın *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda antioksidant özelliğinin belirlenmesinin ardından konu ile ilgili çalışmalar KLA ve atherojenik etkileri olan okside kolesterol ve okside kolesterolün yüksek yoğunluklu lipoproteinler arasında nasıl bir etkileşim olacağı konusuna yönelmiştir. Atheroskleroz riski ve KLA arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada 2 grup halindeki 6'ar Yeni Zelanda beyaz tavani (her bir grupta 3 erkek, 3 dişi tavani olacak şekilde gruplandırılmış) %0.1 kolesterol içeren diyetle beslenmiştir. Birinci grubun diyetine ayrıca %0.5 oranında KLA ilave edilmiştir. 22 hafta sonra KLA ile beslenen tavani ve kontrol grubunun plazma kolesterol seviyeleri sırasıyla 1000 mg/dl ve 1175 mg/dl olarak belirlenmiştir. Tavani aortlarındaki plak kalınlığı, lipid birikimi ve ilgili doku kalınlıkları karşılaştırılmıştır; KLA ile beslenen tavani belirlenen değerlerin daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Kritchevsky 2000). Aynı şekilde 5 hafta boyunca besleme sırasında yemlerine KLA ilave edilen tavukların yumurtalarının sarısında kolesterolün önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. Bu azalmanın plazmadaki VLDL, LDL ve trigliserit konsantrasyonunun düşüşünden kaynaklandığı düşünülmektedir (Hur vd

2007). Yapılan başka bir çalışmada diğliserit ve KLA karışımı ile 5 hafta beslenen erkek farelerin toplam kolesterol seviyelerinin ve vücut ağırlıklarının önemli derecede azaldığı belirtilmiştir (Hue vd 2009). Moon vd (2009) tarafından yapılan bir araştırmada yüksek miktarda yağ ile beslenen obez farelerin diyetlerine 6 hafta boyunca polietilenglikol (PEG) ile birleştirilmiş KLA ilave edilmiştir. Yiyecek alımları arasında fark olmamasına rağmen PEG-KLA ile beslenen farelerin vücut ağırlıklarının kontrole göre önemli derecede düştüğü belirlenmiştir. Ayrıca kandaki düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolün (LDL) artışı büyük ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir (Moon vd 2009).

Ayrıca farklı KLA izomerleri ile yapılan bir çalışmada ise hamsterlerde kolesterol ve yüksek oranda yağ içeren diyetle KLA eklendiğinde trans-10, cis-12 izomerinin LDL ve VLDL-trigliseriti azalttığı cis-9, trans-11 izomerinin ise böyle bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Bu çalışmada plazma lipid seviyelerinde etkili anahtar izomerin trans-10, cis-12 olduğunu göstermesi açısından önemlidir (Deckere vd 1999).

1.3.4. Bağımsızlık Sistemi Üzerine Etkisi

Büyümeyi baskılamadan bağımsızlığı (immüniteyi) arttıran KLA'nın yapısı esansiyel yağ asidi olan linoleik aside benzemektedir ve aynı zamanda yağ metabolizmasında çok önemli olan prostaglandin PGE₂'nin ön bileşeni olarak görev yapmaktadır (Kim vd 2001).

Bu alanda yapılan bazı öncül çalışmalarda KLA'nın büyümeyi baskılamadan immün sistemini güçlendirdiği belirlenmiştir. İmmün sistem üzerinde herhangi bir baskı olmaksızın büyüme yardımcı olması yanında immün sistem tepkilerinde bir artış sağlanması KLA için büyük bir avantaj olmaktadır. KLA'nın bağımsızlık sistemini güçlendirmekte olduğu ve ayrıca çok sayıda dokulardaki gen yapısı, lipid metabolizması ve yağ asidi özellikleri ile immün sistemi ve kemik gelişmesi üzerine etkin olduğu ifade edilmiştir (Cook ve Pariza 1998, Küçüköner ve Küçük 2004).

1.3.5. Antidiyabetik Etkisi

De i ik laboratuvar hayvanlarında yapılan çalı malarla KLA'nın kan ekerini normal seviyede tutma veya azaltma etkisi göstererek özellikle tip II diyabet olu umunu önledi i tespit edilmi tir (Cook ve Pariza 1998).

KLA, yem tüketim kontrolünden sorumlu olan ve adipozitler tarafından üretilen leptin hormonunun plazmadaki düzeyini azaltarak diabetin önlenmesi veya kontrolünde rol oynamaktadır. Di er taraftan KLA izomerleri türe, izomerin tipine ve konsantrasyonuna ba lı olarak adipoz ya birikimini ve leptin üretimini ya inhibe etmekte yada te vik etmektedir. Daha çok trans-10, cis-12 izomeri leptin salgılanmasını azaltırken, cis-9, trans-11 izomeri ise daha çok insülin direncinin geli mesinde rol oynamaktadır (Çelik 2006).

KLA izomerlerinin sahip oldu u çe itli biyolojik aktivitelerin tek bir biyokimyasal mekanizmaya sahip olup olmadı ının belirlenmesi ve izomerler arasındaki interaksyonlar hala önemli bir çalı ma konusudur. Bununla beraber cis-9, trans-11 ve trans-10, cis-12 KLA izomerleri arasındaki yapısal farklılıklar, bunların fizyolojik etkilerinin tek bir biyokimyasal mekanizmaya ba lı olmadı ı savını kuvvetlendirmektedir. Nitekim elde edilen bazı veriler trans-10, cis-12 KLA izomerinin spesifik etkilerinin birden çok biyokimyasal mekanizmaya ba lı oldu unu göstermektedir (Pariza vd 2001). Yapılan çalı maların KLA izomerlerinin karı ımlarını içeren preparatlar kullanılarak yapılması, hangi KLA izomerinin hangi fizyolojik etkiden sorumlu oldu unun belirlenmesini engellemektedir. Ancak son yıllarda yapılan bazı çalı malarda bu eksiklik giderilmeye ba lanmı tir. Örne in trans-10, cis-12 KLA izomerinin vücut ya ı da ılımı/de i imi (Ip vd 2003) ve in vitro artlarda lenfosit üretiminin artı ı ile ili kili oldu u belirlenmi tir (Kritchevsky 2000, Pariza vd 2001).

Sonuç olarak; KLA' nın vücut ya ını azaltmaktan ziyade vücutta ya birikimini azaltma, ateroskleroza geli imini azaltma, eker hastalı nda insülin direnci ile glukoz konsantrasyonunu azaltma, immüniteyi arttırma ve özellikle meme kanserinde oldu u gibi antikanserojen etkileri çok önemlidir görölmektedir. Bu etkileri yukarıda bahsedilen ara tırmaların sonuçlarından da görüldü ü gibi doza, izomer çe idine, türe ve kullanıldı ı metabolik duruma göre de i mektedir.

Sa lı ımız aısından oldukça önemli etkileri olan KLA'ların etkileri hakkında bilgilerimizin kesinleşmesi ve spesifik izomer çeşitleri hakkında bilgi sağlamak için insanlar üzerinde daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

1.4. KLA' nın Kaynakları

KLA doğal olarak belirli miktarlarda birçok gıda da bulunmakla birlikte, insan diyetleri için ana kaynağı ruminant (gevi getiren) hayvanlardan elde edilen et ve özellikle peynir, tereyağı, yoğurt, krema, dondurma ve ayran gibi süt ürünleri olmaktadır. Ancak bu ürünlerde bulunan KLA miktarları hayvanların beslenme durumuna bağlı olarak değişmektedir. Mesela, çayır-mera ve yeşil yemlerle beslenen hayvanların ürünlerindeki KLA miktarı, suni yemle beslenenlerinkinden çok daha yüksektir (Sebedio vd 2003, Zlatanov vd 2008).

Ruminant hayvanlardan elde edilen ürünlerin KLA içerikleri, domuz gibi ruminant olmayan hayvanların etinden ve kanatlılardan elde edilen et ve yumurtalarındaki KLA içeriğinden daha yüksektir. Hindi eti tavuk etinden daha fazla KLA içermektedir. Bitkisel yağlar ve deniz ürünleri ise bu bakımdan daha fakirdirler. Çoğu süt ürünü yağları 2.5-7 mg/g yağ arasında değişen ve %75 veya daha fazlası cis-9, trans-11 KLA izomeri içerirken, bitkisel yağlar 0.1-0.7 mg/g düzeyinde KLA içermekte ve bunun %50'sinden daha azı cis-9, trans-11 izomeridir. Tablo 1.2'de bazı gıdaların KLA içerikleri verilmiştir (Pariza 1991, O'Shea vd 1998, Alonso vd 2003, Muller ve Delahoy 2005, Çelebi ve Kaya 2008).

Tablo 1.2 Bazı süt, et ve deniz ürünlerinde KLA konsantrasyonları (Muller ve Delahoy 2005)

| Gıda Maddeleri | Toplam KLA (mg/g ya) |
|-----------------------|--------------------------|
| <u>Süt ürünleri</u> | |
| Homojenize süt | 4.5 |
| Tereya ı | 6.0 |
| Dondurma | 3.6 |
| Yo urt | 4.8 |
| Cheddar peyniri | 3.6 |
| Mozzarella peyniri | 4.9 |
| <u>Et</u> | |
| Sı ır eti | 4.3 |
| Kuzu eti | 5.6 |
| Tavuk eti | 0.9 |
| <u>Deniz ürünleri</u> | |
| Balık (salmon) | 0.3 |
| Karides | 0.6 |

1.5. Süt Ürünlerinde KLA Miktarına Etki Eden Faktörler

Süt ürünlerindeki KLA miktarı üzerine iki faktör etkilidir. Bunlardan ilki i lenmemi sütteki ba langıç KLA miktarı, ikincisi ise proses ko ullarına ve etkilerine ba lı olarak KLA konsantrasyonundaki de i imlerdir (ahin vd 2003).

lenmemi sütlerdeki KLA miktarının geni bir de i im göstermesi büyük ölçüde tür farklılıkları, farklı beslenme ve mevsimsel de i iklilere ba lı olmaktadır. Buna göre ruminant hayvanların beslenmesinde rasyona bitkisel ya lar ve balık ya ı katılması KLA miktarını arttırmaktadır. Rasyona rumen mikrobiyal aktivitesini etkilemeyecek ekilde linoleik asitce zengin ya lar eklendi inde, rumene gelen linoleik asit miktarı ve bundan dolayı da ara ürün olan KLA ve vaksenik asit oranı artar. Rasyona ilave edilen bitkisel ya lar rumendeki bakteriyel izomerizasyon ve/veya biyohidrojenizasyona kaynak olu turan çoklu doymamı ya asitleri sa ladıkları için etteki ve sütteki KLA miktarını etkilemektedir (Sebedio vd 2003, Bauman vd 2001).

Süt ve vücut ya larının KLA içeriklerini rasyona ilave edilecek do al veya sentetik yolla elde edilmi KLA ile 8-10 kat attırmak mümkündür. Rasyona ilave edilen tüm KLA izomerlerinin süt ya ına transfer edildi i belirlenmi tir. KLA miktarı mera ve

otlaklarda linolenik asit bakımından zengin ye il otlarla beslenenlerde daha yüksektir. Ayrıca genetik olarak farklı s ı ırların meme dokusundaki delta-9 desatüraz aktivitesindeki farklılıklara ba lı olarak sütteki KLA'nın miktarı arttırılabilir. Genetik seleksiyon programı ile optimum kapasitede KLA üreten hayvanlar üretilebilir. Proses ko ullarından KLA üretimine etki eden faktörler ise üretimde kullanılan starter kültür, Na-kazeinat, serum proteini ve süt tozu gibi katkı maddelerinin ilavesi, son üründeki ya miktarı, ya globüllerinin fiziksel durumu, uygulanan ısıl i lemler, olgunla ma süresi ve oksidatif reaksiyonlardır (O'Shea vd 1998, Sebedio vd 2003, Nieuwenhove vd 2006, 2007).

Genel olarak rumen bakterilerinin aktivitelerinin sonucu olarak sütte KLA bulundu u, fermente süt ürünlerindeki KLA miktarındaki artı n da kullanılan laktik starterlerin faaliyetlerine ba lı oldu u söylenebilir. Burada, ürünlerin olgunla ma süresinden çok olgunla tırma artları ve kullanılan starter ve/veya destek kültürler önemli rol oynamaktadır.

1.5.1. Starter Kültür Kullanımının KLA Miktarına Etkisi

KLA'nın gevi getiren hayvanların i kembesinde bulunan *Butyrivibrio fibrisolvens* bakterisi tarafından sentezlenen izomeraz enziminin linoleik asit izomerizasyonunda etkili olması, bu enzimin bazı destek kültür çe itlerinde de bulunmasıyla KLA'nın süt ürünlerindeki varyasyonunun kayna ı olabilece i görü ünü ortaya çıkarmı tır. KLA miktarını artırmada bakterilerin etkisinin belirlenmesiyle ilgili olarak kontrollü ko ullar altında laboratuvar ortamlarında ve model sistemlerde çok sayıda çalı ma yapılmaktadır (Bisig vd 2007). Yapılan ara tırmalarda linoleik asit izomeraz enzimine sahip olan bakterilerin *in vitro* ortamlarda serbest linoleik asidi konjuge linoleik aside dönü türürken (Tablo 1.3), bazı bakterilerin ise bu dönü ümü sa layamadıkları belirlenmi tir (Tablo 1.4). Bakterilerin bu dönü ümü gerçekte tirmesinin nedeni tam olarak açıklanamamasına ra men yapılan bir çalı mada bunun ya asitlerinin geli imi engelleyici etkilerinden kaçınmak için bir detoksifikasyon metabolizması olabilece i öne sürülmü tür (Jiang vd 1998).

Tablo 1.3 Linoleik asit eklenmi besiyeri ortamlarında (MRS, Sodyum Laktat ortamı) ve sütte KLA olu turabilen bakteriler

| KLA olu turabilen Bakteriler | nkübasyon Ko ulları | Kaynak |
|---|--|---------------------|
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> 96 | 0.1g/l LA + MRS 0.1g/l LA +Tam ya lı süt | Kim ve Liu 2002 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> 56 ATCC 43121 | 0.1g/l LA +Tam ya lı süt | Kim ve Liu 2002 |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> 4191 | 0.1g/l LA + MRS 0.1g/l LA +Tam ya lı süt | Kim ve Liu 2002 |
| <i>Lactobacillus casei</i> Y2 | 0.1g/l LA + MRS 0.1g/l LA +Tam ya lı süt | Kim ve Liu 2002 |
| <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>Freudenreichii</i> ATCC6207, Propioni-6 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> 9093 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>freudenreichii</i> (CGMCC 1.2236) | 12 mg/ml ayçiçe i ya 1 + MRS 12 mg/ml ayçiçe i ya 1 + SLM 12 mg/ml ayçiçe i ya 1 + Ya sız süt | Wang vd 2007 |
| <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> (CGMCC 1.2227) | 12 mg/ml ayçiçe i ya 1 + MRS 12 mg/ml ayçiçe i ya 1 + SLM 12 mg/ml ayçiçe i ya 1 + Ya sız süt | Wang vd 2007 |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> CRL 728 | 200µg/ml LA + manda sütü 200µg/ml LA + MRS broth | Nieuwenhove vd 2007 |
| <i>Lactobacillus casei</i> CRL 431, CRL 87 | 200µg/ml LA + manda sütü 200µg/ml LA + MRS broth | Nieuwenhove vd 2007 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> CRL 730, Q42 | 200µg/ml LA + manda sütü 200µg/ml LA + MRS broth | Nieuwenhove vd 2007 |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> C14 | 200µg/ml LA + manda sütü 200µg/ml LA + MRS broth | Nieuwenhove vd 2007 |
| <i>Bifidobacterium bifidum</i> CRL 1399 | 200µg/ml LA + manda sütü 200µg/ml LA + MRS broth | Nieuwenhove vd 2007 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> L1 ve O16 | 50, 100, 200, 500µg/ml LA + MRS broth 200µg/ml LA + Ya sız süt | Alonso vd 2003 |
| <i>Lactobacillus casei</i> E5 ve E10 | 50, 100, 200, 500µg/ml LA + MRS broth 200µg/ml LA + Ya sız süt | Alonso vd 2003 |
| <i>Lactobacillus johnsonii</i> 88 | 0.1g/l LA + MRS 0.1g/l LA +Tam ya lı süt | Kim ve Liu 2002 |
| <i>Lactobacillus lactis</i> M23,400 | 0.1g/l LA +Tam ya lı süt | Kim ve Liu 2002 |
| <i>Lactobacillus lactis</i> 210, IO-1 | 0.1g/l LA + MRS 0.1g/l LA +Tam ya lı süt | Kim ve Liu 2002 |

Tablo 1.4 Linoleik asit eklenmi besiyeri ortamlarında (MRS, SLM) ve sütte KLA olu turamayan bakteriler

| KLA olu turamayan bakteriler | nkübasyon Ko ulları | Kaynak |
|--|---|---------------------|
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356 | 0.1g/l LA + MRS 0.1g/l LA +Tam ya lı süt | Kim ve Liu 2002 |
| <i>Lactobacillus bulgaricus</i> | 0.1g/l LA + MRS 0.1g/l LA +Tam ya lı süt | Kim ve Liu 2002 |
| <i>Lactobacillus helveticus</i> ATCC15009 | 0.1g/l LA + MRS 0.1g/l LA +Tam ya lı süt | Kim ve Liu 2002 |
| <i>L. bulgaricus</i> CRL 423 | 200µg/ml LA + manda sütü 200µg/ml LA + MRS broth | Nieuwenhove vd 2007 |
| <i>Propionibacterium thoenii</i> ATCC 4874 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Propionibacterium jensenii</i> ATCC 4867 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Lactobacillus helveticus</i> ATCC 15009 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Lactobacillus bulgaricus</i> | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Lactobacillus casei</i> F-19 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Lactobacillus fermentum</i> | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 23272 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> NCFB 176,ATCC 19435 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> ATCC 19257, NCFB 924 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> ve ATCC 19258 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |
| <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> PS-1 | 25µg/ml LA + MRS broth | Jiang vd 1998 |

Özetle; laktik asit bakterileri tarafından KLA üretimine etki eden temel faktörler; ortamdaki linoleik asit konsantrasyonu, linoleik asidin bulun u ekli, su özelli i olarak sayılabilir.

1.5.1.1. Laktobasil, Laktokok ve Streptokoklar ile KLA Olu umu

Laktik asit bakterileri; düzgün çubuk, kokobasil, zincir olu turan çubuk veya oval, sferik yapıda, özellikle yo urt ve benzeri süt ürünleri yapımında ve sert peynirlerin olgunla tırılmasında, tat, aroma olu umunda önemli rolleri olan bakterilerdir (Kılıç

2001). Serbest linoleik asidin KLA' ya mikrobiyal dönüümü konusunda yapılan çalımlar, bahsedilen fonksiyonel özelliklerinden dolayı laktik asit bakterileri üzerinde yo unla mı tır (Collomb vd 2006). Bu çalımların birinde Jiang vd (1998) süt endüstrisinde starter kültür olarak kullanılan 19 farklı laktobasil, laktokok, streptokok ve propionik asit bakterisinin *in vitro* ortamda linoleik asitten KLA üretme yeteneklerini test etmişlerdir. Yapılan çalımla ile 25 mg/mL serbest linoleik asit içeren MRS broth ve ya sız süt ortamlarında çalımlan laktobasil, laktokok ve streptokok türlerinin serbest linoleik asidi KLA' ya dönüümüne potansiyeline sahip olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca bazı araştırmacılar tarafından linoleik asidin bakteri gelişimi üzerine engelleyici etkisinin bulunduğu ve bakterilerin linoleik aside farklı toleransları olduğu kanıtlanmıştır (Jiang vd 1998, Lin 1999). Yine Coakley vd (2003) tarafından yapılan araştırmada da 550 mg/mL linoleik asit eklenmiş MRS ortamında kullanılan laktobasil, laktokok ve propionik asit bakterilerinin KLA üretilmediği bulunmuştur (Coakley vd 2003).

Bazı çalımlarda düşük konsantrasyonda linoleik asit kullanımıyla bakteriyal gelişimi engellenirken, bazı çalımlarda ise birçok bakterinin daha yüksek konsantrasyonda (5000 µg/ml) geliştiği görülmüştür (Sieber vd 2003, Nieuwenhove vd 2007). Lin (1999) yaptığı çalımda 1000 µg/ml linoleik asit eklenmiş sterilize ya sız sütte 6 laktik asit bakterisinin (*Lactobacillus acidophilus* CCRC14079, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L.delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCRC12586, *L.lactis* subsp. *lactis* CCRC10791 ve *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*) linoleik asidi %6.3 (*L.lactis* subsp. *cremoris*) ile %10.5 (*L.acidophilus*) oranında KLA' ya dönüümünü gözlemiştir (Lin 1999). Aynı zamanda bu çalımda linoleik asit ilavesinin 1000 µg/mL den 5000 µg/mL'ye artırılması ve inkübasyon süresinin 24 saatten 48 saate yükselmesi KLA miktarını arttırmamıştır (Lin 1999). Konu ile ilgili başka bir araştırmada 0.9g/L linoleik asit ve %1.67 (hacim/hacim) Tween 80 içeren MRS besiyerinde *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739'nin kultivasyonu ile ortamdaki KLA miktarı 24 saat içinde 300 mg/L'ye ulaşmıştır. Bu çalımda ortamdaki serbest KLA de il toplam KLA (bakteri hücreesindeki de dahil) miktarındaki değişimi belirlenmiştir (Lee vd 2003). Ancak starter kültür hücrelerinin içerisinde bulunan KLA'nın sindirim sisteminden absorpsiyonu serbest KLA ile karıştırdığında daha zor olacaktır. Bu nedenle mikroorganizmaların ortamda ürettiği "serbest KLA miktarı"nın belirlenmesi fonksiyonel gıda yaklaşımları açısından daha doğrudur.

olacaktır. Bu yaklaşımdan hareketle Alonso vd (2003) insan intestinal sisteminden izole edilen 4 farklı laktik kültürün (*Lactobacillus acidophilus* L1 ve O16, *Lactobacillus casei* E5 ve E10) linoleik asit ilave edilmiş MRS broth ve yağsız süt ortamında serbest KLA üretim potansiyellerini çalışmışlardır. Çalışmalar sonunda %0.02 linoleik asit içeren ortamlarda (MRS broth ve yağsız süt) gelişen *L.acidophilus* L1'in toplam serbest KLA üretim kapasitesi açısından 24 saatlik inkübasyonun ardından sırasıyla 131.63 µg/mL ve 116.53µg/mL KLA üretimiyle en yüksek potansiyele sahip oldukları bulunmuştur. Konu ile ilgili bir çalışmada Kim ve Liu (2002) ayçiçek yağı ilave edilmiş tam yağlı sütte 14 laktik asit bakterisinin KLA üretim kabiliyetlerini araştırmıştır. Tam yağlı süte 0.1g/L ayçiçek yağı ilavesi optimal konsantrasyon olarak belirlenirken, en yüksek KLA üretimini sağlayan *Lactococcus lactis* I-01 suyu katkılı yağlı süt ortamında (SO+%6 süt tozu+glukoz), ilave yapılmayan ortama göre (kontrol grubu) 2.3 kat daha fazla üretim sağlamıştır (Kim ve Liu 2002). Son yıllarda yapılan bir çalışmada ise farklı konsantrasyonlarda linoleik asit eklenmiş manda sütünde ve MRS broth ortamında laktobasil, streptokok ve bifidobakterilerden bazılarının linoleik asitten KLA üretebilme potansiyeline sahip oldukları belirtilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda linoleik asit eklenmiş manda sütünde en yüksek linoleik asit üretimi; *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum* ve *Streptococcus thermophilus* ile sağlanmıştır. Bu bakteriler 200µg/mL linoleik asit bulunan ortama inoküle edildiğinde serbest linoleik asidin KLA'ya %39 (*Streptococcus thermophilus*) ile %95 (*Bifidobacterium bifidum*) oranında dönüşümünü sağlamıştır. 200µg/mL linoleik asit konsantrasyonunda en fazla dönüşümü sağlayan *Bifidobacterium bifidum* yüksek linoleik asit konsantrasyonuna (1000 µg/mL) en az toleransı olan bakteri olarak bulunurken linoleik asite en fazla toleranslı olan bakterilerin *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus rhamnosus* olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca protein gibi bazı süt bileşenlerinin bakteri metabolizması üzerinde yağ asitlerinin engelleyici etkilerini nötralize etmeleri sebebiyle linoleik asit eklenmiş sütteki KLA üretiminin, MRS broth ortamındaki miktardan 2-3 kat daha fazla olduğu görülmüştür (Nieuwenhove vd 2006).

Bazı fermente süt ürünleri fermente olmayan sütlere göre daha fazla KLA içemektedir. Bu konuda Nieuwenhove vd (2006) tarafından yapılan çalışmada 4 farklı kültürün (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum* *Streptococcus thermophilus*), son üründe 20 mg/mL linoleik asit eldesi için ayçiçeği yağı eklenmiş manda peynirinde KLA dönüşümüne kabiliyetleri incelenmiştir.

L.casei, *S.thermophilus* ve *B.bifidum* ile üretilen peynirlerde olgunla madan sonraki KLA de eri, çi süt ile kar ıla tırıldı nda 1.43 kat artmı tır. Bununla birlikte yapılan bazı ara tırmalarda ne kullanılan starter kültürlerin ne de olgunla tırmanın Cheddar peyniri yapımında toplam KLA seviyesini arttırmada önemli rolü olmadı ı ancak KLA izomerleri da ılımlarını etkiledi i belirtilmi tir (Werner vd 1992). Yine Gnadig vd (2004) tarafından yapılan bir ara tırmada kullanılan propiyonik asit bakterilerinin, olgunla tırmanın, pi irme ve mayalama sıcaklıklarının toplam KLA miktarını de i tirmedi i gözlenmi tir. Fermente süt ürünlerinde kullanılan starter kültürlerin KLA miktarını etkilemeleri ürünün yapıldı ı bölgeye göre de de i ebilmektedir. Çünkü ço u fermente süt ürünü batı ülkelerinde tatlandırılırken, orta do u ülkelerinde tuzlandırılır.

eker ve tuz starter kültür metabolizmasını etkileyebilir. Lin (2000) yaptı ı ara tırmada linoleik asit eklenmi ya sız süt ortamında daha önceki ara tırmasında kullandı ı laktik asit bakterilerinin cis-9, trans-11 KLA üretimleri üzerine tatlandırıcıların (sükroz, laktoz, fruktoz) ve tuzun etkisini incelemi tir. 60 g/L fruktoz bulunan ortamda *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCRC12586 cis-9, trans-11 KLA miktarını %22 oranında artırırken, kullanılan tatlandırıcıların tamamı di er kültürlerin geli imini önemli derecede engelleme tir. Özellikle sükroz kullanımında *L.acidophilus*'un üretti i cis-9, trans-11 KLA miktarı %28 azalmı tır. Sükrozun di er ekerlere göre daha fazla engelleyici etki göstermesinin sebebi; inversiyonla olu an glukoz ve fruktozun, ya sız sütteki çözünmü madde miktarını arttırması ve kültürlerin KLA izomerizasyon aktivitesini dü ürmesinden kaynaklanmaktadır. Bu ara tırmada 10 g/L sodyum klorür bütün kültürlerin cis-9, trans-11 KLA miktarını %13-32 oranında azaltmı tır. 60 g/L tatlandırıcı ve 10 g/L tuz ile desteklenmi ya sız süt ortamlarında test edilen altı laktik kültür arasından en yüksek cis-9, trans-11 KLA miktarını *Lactobacillus acidophilus* CCRC14079 olu turmu tur (Lin 2000).

Gıdalardaki KLA içeri inin artırılmasında, sadece bakterilerin de il, onlardan elde edilen enzim ekstraktlarının da etkinli inin ara tırılması konusunda *in vitro* ko ullarda çok sayıda ara tırma yapılmaktadır. Yapılan bir ara tırmada *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* CCRC11076 ve *Lactobacillus acidophilus* CCRC14079 bakterilerinden ekstrakte edilen enzimlerin *in vitro* ortamda linoleik asidi KLA' ya dönü türme yetenekleri ara tırılmı tır. Sonuçta *L. acidophilus*'dan elde edilen enzimin, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*'den elde edilen enzimden daha çok linoleik asit izomeraz aktivitesine sahip oldu u bulunmu tur (pH=5'de toplam KLA' da

2.9 kat fark) (Lin vd 2002). Yapılan bir başka araştırmada farklı doymamış yağ asitleri eklenmiş MRS broth ortamlarında *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (CCRC14009) hücrelerinin ve onlardan elde edilen enzim ekstraktlarının KLA üretim kabiliyetleri araştırılmıştır. Ortama ilave edilen linoleik asidin yakanmış bakteri hücreleri tarafından üretilen KLA'yı önemli oranda arttırması *L.bulgaricus*'un linoleik asit izomeraz aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu bakteriden ekstrakte edilen enzimin linoleik asit kadar olmasa da linolenik ve oleik asidi desaturaz enzim aktivitesiyle KLA'ya dönüştürmesi enzim ekstraktının desaturaz aktivitesi varlığına da işaret etmektedir (Lin 2006). Konuyla ilgili Lin vd (2003) tarafından yapılan bir çalışmada 50 mg linoleik asit ilave edilmiş *in vitro* ortamda *L.acidophilus*'un enzim ekstratıyla elde edilen toplam KLA miktarı (305 µg), bahsedilen çalışmada 25 mg linoleik asitle desteklenmiş ortamda *L. bulgaricus*'un enzim ekstratıyla elde edilen KLA miktarından daha yüksek bulunmuştur. Buradan hareketle *L.bulgaricus*'un enzim aktivitesinin *L.acidophilus*'dan daha düşük olduğunu düşünülmektedir. Ancak bu çalışmada KLA veriminin artmasındaki neden enzim aktivitesi değil, substrat olarak kullanılan daha fazla miktarda linoleik asit kullanımı da olabilir. Enzim aktiviteleri hakkında kesin bir kıyaslama yapılabilmesi için bu çalışmanın 50 mg veya daha yüksek linoleik asit varlığında test edilmesi gerekmektedir (Lin vd 2003).

1.5.1.2. Bifidobakteriler ile KLA Oluşumu

Bazı türleri ile sağlık açısından bir çok yararlı özellikleri ortaya konulan probiyotik süt ürünlerinin hazırlanmasında tek veya diğer türler ile birlikte kullanılan bifidobakteriler, çeşitli hayvan türlerinin sindirim sisteminde, insanların vajinasında, ağızda, yetimlerin ve özellikle bebeklerin bağırsak sisteminde doğal olarak bulunmaktadır (Kılıç 2001). İnsanların bağırsak sisteminden izole edilen bu bakterilerin sağlık açısından büyük önemi olan KLA üretim kapasitelerinin belirlenmesi konusunda çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Oh vd (2003) tarafından anne sütüyle beslenen bebeklerin intestinal sisteminden izole edilen *Bifidobacterium breve* ve *Bifidobacterium pseudocatenulatum*'un %0.05 L-sistein, %0.05 linoleik asit ve %0.5 Tween 80 içeren MRS broth ortamında KLA üretim kapasiteleri araştırılmıştır. *B.breve* ve *B.pseudocatenulatum*'un 500 mg/L linoleik asit içeren ortamda sırasıyla 160 ve 135 mg/L KLA ürettikleri belirlenmiştir. Yine benzer şekilde Coakley vd (2003) yaptıkları bir çalışmada 550 mg/L linoleik asit ve sistein içeren MRS broth ortamında test edilen 5

farklı *B.breve* suunun serbest linoleik asidi yüksek oranda KLA'ya dönüştürdüğü bulunmuştur (%28-%66). Aynı çalışmada *B.dentium* NCFB 2243 ve *B.pseudocatenulatum* NCIMB 8811'in de %23 ve %28 oranında dönüştürme saadını tespit edilmiştir.

1.5.1.3. Propiyonik Asit Bakterileri ile KLA Oluşumu

Linoleik asidin KLA'ya dönüştürme yeteneklerinin test edilmesi ile ilgili araştırmalarda kullanılan diğer bir bakteri grubu ise; propiyonik ve asetik asit üretimleriyle süt ürünlerinin karakteristik tat ve aromasının oluşumu için oldukça önemli olan propiyonik asit bakterileridir (Kılıç 2001). Bu konuda Jiang vd (1998) yaptığı çalışmada 25µg/mL serbest linoleik asit içeren MRS broth ve yağsız süt ortamlarında 6 farklı propiyonik asit bakterisinden *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii* ATCC 6207 ve PFF-6 suşları ve *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* ATCC 9093'ün serbest linoleik asidi konjuge linoleik aside dönüştürme potansiyeline sahip olduğunu belirlenmiştir. Her bir suş için optimum konsantrasyonda linoleik asit ilave edilmiş MRS broth ortamında PFF6 suşu 265 µg/mL toplam KLA (750µg/ml linoleik asit varlığında) ile en yüksek üretimi göstermiştir. Aynı çalışmada linoleik asidin bakteri metabolizması üzerinde engelleyici etkisinin sodyum laktat ortamında (SLM) arttığı ve bu sebeple üretilen KLA miktarının azaldığı görülmüştür (Jiang vd 1998). Benzer sonuçlar Wang vd (2007) tarafından yapılan aynı tür bakterilerin farklı suşlarının test edildiği araştırmada da elde edilmiştir. Buna göre SLM ortamında bakteriler üzerine linoleik asidin engelleyici etkisinin MRS ve yağsız süt ortamındaki etkiden daha güçlü olduğunu belirtilmiştir. Bunun sebebi, hala çok açık olmamakla birlikte, ortamda bulunan bileşenlerin linoleik asit gibi yağ asitlerinin antimikrobiyal etkilerini nötralize etmesine bağlıdır. Örneğin MRS broth %0.1 Tween 80, yağsız süt ise %3 süt proteini içermektedir. Tween 80 sadece bakteri gelişiminde kalmayıp, süt proteinleri gibi yağ asitlerinin antimikrobiyal etkisini nötralize etmektedir (Wang vd 2007). Aynı çalışmada yüksek miktarda linoleik asit içeren (%44-75), ekonomik ve sıcaklıklara karşı toleransı olan ayçiçeği yağı eklenmiş (12 mg/mL) MRS broth ortamında *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* CGMCC 1.2227 ve *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii* (CGMCC 1.2236) en yüksek KLA üretimini sağlamıştır (sırasıyla 78.8 µg/mL ve 24.8 µg/mL). Ayrıca bu çalışmada anaerobik koşulların -oksidasyonu engelleyip, konjuge çift bağları

koruyarak KLA üretimine fayda sağlarken, inkübasyon süresinin fazla uzatılmasının, KLA'nın doymuş yağlara dönüşümüne ve bazılarının da okside olmasına neden olarak KLA miktarını azalttığı görülmüştür (Wang vd 2007).

1.5.1.4. İmmobilize Laktik Asit Bakterileri

İmmobilize enzimlerin birçok avantajı bulunmaktadır. Örneğin enzimler tekrar tekrar kullanılabilirler. Özellikle üretimi zor ve pahalı enzimler için bu önemlidir. Ürün enzimle kontamine olmaz, çünkü enzim matrikste tutulur. Matriks enzimi fiziksel bir bariyer olarak koruduğundan, enzim ekstrem pH ve sıcaklık gibi etkilere dayanıklı hale gelir. Sürekli fermentasyonlar için enzimi daha kullanılabilecek hale getirir. İmmobilize hücrelerle birçok enzim de immobilize olacağından aynı anda birden fazla reaksiyon gerçekleşebilir. Reaksiyon sonunda ortamdaki kolaylıkla uzaklaştırılabilirler. Ürün olumsuz kontrol altında tutulabilir (Anonim 2008). Bu amaçla immobilize edilmiş laktik asit bakterilerinin süt ürünlerinde kullanılmasıyla, bu bakterilerde daha yüksek enzim aktivitesi sağlanarak, üretilen KLA miktarı önemli ölçüde artırılabilir. Bu konuda yapılan bir çalışmada, kitosan ve poliakrilamid ile immobilize edilen laktik asit bakteri hücrelerinin (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CCRC14009 ve *Lactobacillus acidophilus* CCRC14079) 0.9 g/mL linoleik asit eklenmiş *in vitro* ortamlarda KLA üretim yetenekleri araştırılmıştır. Poliakrilamid ile *L.bulgaricus* hücrelerinin immobilizasyonu, üretilen KLA'yı serbest hücrelerinin ürettiklerine kıyasla 227 kat arttırırken (2211 µg), *L.acidophilus*'un immobilizasyonu miktarı 10 kat arttırmıştır (218 µg). *L.bulgaricus*'un poliakrilamid veya kitosan ile immobilizasyonunun sonucu *L. acidophilus*'dan daha fazla KLA üretimini sağlamanın nedeni, kültürler arasındaki protein ve iyon kompozisyonunun farklılığına bağlı olarak linoleik asit izomeraz aktivitesindeki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmüştür (Lin vd 2005).

Bu çalışmada yukarıda da belirtildiği gibi sağlık üzerine çok sayıda yararı olan KLA'nın ülkemizde sevilerek tüketilen bir süt ürünü olan ayrandaki miktarının destek kültür kullanımı yoluyla artırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Süt

Ara tırmada kullanılan inek sütü Sümer Süt Ürünleri Ltd. ti.'den (Gümü ler, Denizli) temin edilmi tir.

2.1.2. Bakteri Kültürleri

Ara tırmada LGC Srandards-ATCC®'den (LGC Standards GmbH, Germany) temin edilen *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739 ve Japon Mikroorganizma Koleksiyonu'ndan (Japan Collection of Microorganisms, Microbe Division, RIKEN BioResource Center, Japan) temin edilen *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IO-1 (JCM-7638) destek kültür olarak kullanılmı tir. Ayran üretiminde *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* karıımı kültürleri içeren YO-MIX™ 496 ve CHOOZIT™ TM 82 marka (Danisco, Fransa) ticari kültürler 2:1 oranında karı tırılarak kullanılmı tir. Ayran kültürlerinin aktifle tirilmesi üretici firmanın önerileri do rultusunda yapılmı tir.

2.2. Metot

2.2.1. Laktik destek kültürlerin aktivasyonu

Dondurularak kurutulmu (freze-dried) formdaki *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739 aseptik artlarda MRS broth'a (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Switzerland), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IO-1 ise aseptik ko ullarda M17 broth'a (Merck, Germany) aktarılmı tir. *L.reuteri* ATCC 55739 37°C'de anaerobik ko ullarda inkübe edilirken, *L.lactis* subsp. *lactis* IO-1 37°C'de aerobik ko ullarda bir gece inkübasyona bırakılarak ço altılmı tir. Kullanılan kültürler an az iki defa aktive edilmi tir.

2.2.2. Laktik Destek A ılama K ült ür ünün Hazırlanması

Daha önce iki kez aktive edilmi *L.reuteri* ATCC 55739 ve *L.lactis* subsp. *lactis* IO-1 destek k ült ürleri sırasıyla ayrı ayrı 300'er ml MRS broth ve M17 broth besiyerinde anaerobik ve aerobik ko ullarda 37°C'de 18 saat ink be edilmi tir. 6000 rpm'de 6 dakika santrif j edilerek elde edilen pellet %0.85'lik NaCl z ltisi ile 2 defa yıkanmı tir. Elde edilen yıkanmı h cre pelletlerinin optik yo unlukları (OD) spektrofotometrede (T80 Double Beam UV Spectrophotometer, PG Instruments Ltd., United Kingdom) 600 nm dalga boyunda l  lm  t r. Çalı mamızda kullandı ımız destek k ült rlerden *L. reuteri* ATCC 55739'un OD de eri 0.8 ve *L. lactis* subsp. *lactis* IO-1'in OD de eri ise 1 olarak belirlenmi ve ayran rtimi sırasında bu k lt rlerden ayran s tlerine sırasıyla %0.4 ve %1 oranında a ılama yapılmı tir.

2.2.3. Ayran rtimi

Ayran rtimleri S Ömer S t r nleri Ltd. ti.'de yapılmı tir. Ayran retim a amaları ekil 2.1'de verilmi tir. Üretimde ncelikle 90°C'de 10-15 dk ısıl i leme maruz bırakılan standardize ayran s t  plakalı ısı de i tiricide 38-40°C'ye kadar so utulmu tur. Daha sonra %0.6-0.7 oranında tuz ilave edilen s t 44-45°C'de 180-200 bar basın  altında homojenize edilip mayalama tankına alınmı tir. Aktive edilen ayran k lt r  %2.5 oranında ayran s t ne ilave edilmi ve karı tırma i leminin ardında s t 3 gruba ayrılmı tir. Ardından her   gruba da son r nde 0.1 g/L olacak ekilde ay  e i ya ı (Ona Ay  e i Ya ı, Gıdasa Sabancı Gıda San. ve Tic. A. ., Adana) ilave edilmi tir. Kontrol rne ine herhangi bir destek k lt r ilave edilmezken, di er gruplardan birine *L.reuteri* ATCC 55739 di erine de *L.lactis* subsp. *lactis* IO-1 daha önce belirtilen oranlarda a ılanmı tir. A ılanması tamamlanan ayran örneklere 200 mL hacimli polipropilen plastik bardaklara doldurularak paketlenmi tir. Paketlenen ayranlar 43-44°C de ink basyona bırakılarak pH=4.60-4.70 oluncaya kadar ink be edilmi tir. Daha sonra so utmaya alınan ayranlar 4°C'de 10 g n s üre ile depolanmı tir. Depolamanın 1. g n nde ayran örneklere genel kompozisyonu belirlenmi tir. Depolamanın 1, 2, 3, 4, 8 ve 10. g önlerinde ayran örneklere pH, asitlik, ya ve KLA analizleri yapılmı ken, 0 , 1, 3, 8 ve 10. g önlerinde mikrobiyolojik, 1. ve 10. g nlerde de duyusal analizler yapılmı tir.

Çi Süt

Klarifikasyon

Standardizasyon

Pastörizasyon (90°C'de 10-15 dk)

Tuz lavesi (% 0.6-0.7)

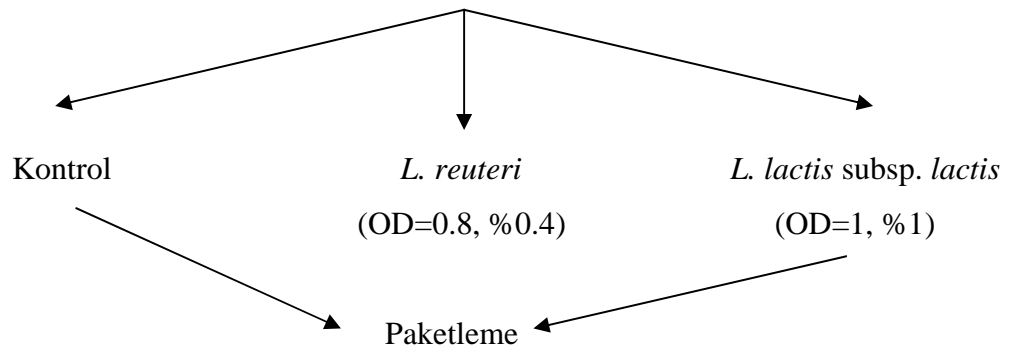
So utma (38-40°C)

Homojenizasyon (44-45°C'de 180-200 bar)

Yo urt Kültürü lavesi (% 2.5)



Ayçiçe i Ya ı lavesi (0.1 g/L)



nkübasyon (42-43°C'de pH=4.6-4.7'ye kadar)

Depolama (+ 4°C'de 10 gün)

ekil 2.1 Ayran üretimi akı eması

2.2.4. Kimyasal Analiz Yöntemleri

2.2.4.1. Örnek Alma

Ayrana içilecek süt ve ayran örneklerinin kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri için örnek alma, Uluslararası Sütçülük Federasyonu'nca (IDF Standard 50 A) belirtilen kurallara uygun olarak yapılmıştır (Anonim 1980).

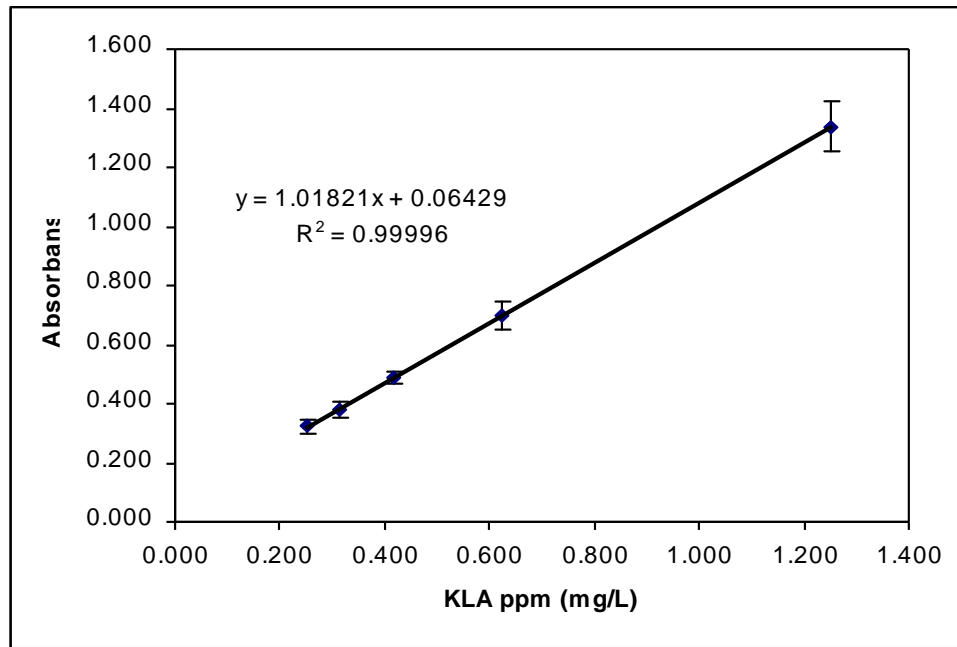
2.2.4.2. Çi Süt ve Ayran Örneklerinde Yapılan Kimyasal Analizler

Ayrana içilecek sütte ve ayranlarda kurumadde ve asitlik değerlerinin tespiti TS 1018'e göre (Anonim, 1981), yağ ve kül miktarları analizleri de Metin ve Öztürk (2002) tarafından bildirilen yöntemlere göre yapılmıştır. Protein miktarı Oysun (2001) tarafından bildirilen formol titrasyon yöntemiyle yapılmıştır. Örneklerin pH değeri HANNA HI8314 marka (HANNA Instruments®, USA) pH metre ile tespit edilmiştir (Metin ve Öztürk 2002). Laktoz miktarı toplam kurumaddeye protein, yağ ve kül miktarlarının çıkarılması suretiyle hesaplanmıştır.

2.2.4.3. Ayrandan Yağ Ekstraksiyonu ve KLA Miktarının Tespiti

Ayran örneklerinden yağ ekstraksiyonu ve ekstratlardaki toplam kükürtü linoleik asit miktarı analizleri Wang vd (2007)'nin belirttikleri yöntemin modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Buna göre 10 mL ayran örneği 20 mL kloroform (GC grade, Riedel-Haen, Germany):metanol (Sigma-Aldrich, Germany) (2:1) çözeltisi ile Micra D-8 marka homojenizatör (ART Prozess- & Labortechnik GmbH & Co. KG, Müllheim, Germany) kullanılarak 39000 rpm'de 1 dakika karıştırılmış ve karışım 4°C'de 8500 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj (Hettich Universal 30 RF, Germany) edilmiştir. Santrifüj sonunda alt ve üst fazlar arasında ve alt fazda oluşan katı faz dikkatli bir biçimde uzaklaştırılmış ve örnekler tekrar 4°C'de 8500 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonunda altta kalan organik faz (solvent + yağ karışımı) pastör pipetleri kullanılmak suretiyle dikkatli bir biçimde balonlara aktarılmıştır. Organik fazdaki kloroform ve metanol karışımı rotary evaporatörde (BÜCHER, Rotavapor R-114, Switzerland) 40°C'de vakum altında uzaklaştırılmıştır. Konsantrattaki kalıntı solvent azot gazı kullanılarak ortamdan uzaklaştırılmıştır. KLA

miktar tayini için örnekler 10 mL hekzan (GC grade, Riedel-Haen, Germany) ile karıştırıldı ve hemen ardından yağın tamamının etkin bir biçimde çözünmesini sağlamak için 30°C'de ultrasonik su banyosunda (Sanomak Ultrasonik Su Banyosu, Sonamak Mak. San. Tic. Ltd. ti., Küçükçekmece, İstanbul) 1 dk ultrasonikasyona maruz bırakıldı. Ardından hekzan yağ karışımlarında safsızlıkların neden olduğu bulanıklığın giderilmesi amacıyla 6500 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Santrifüj işlemi sonunda üstte kalan fazdan uygun seyreltmeler yapıldı ve çözeltilerin absorbansları oda sıcaklığında 1 cm'lik quartz küvetler kullanılarak 233 nm dalga boyunda spektrofotometrede (T80 UV/VIS Spectrophotometer, PG Instruments Ltd., United Kingdom) belirlendi. Saf KLA standardı (Sigma-Aldrich, Germany) ile hekzan içerisinde farklı konsantrasyonlarda KLA çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Şekil 2.2'de çalışmaları sırasında kullanılan standart kalibrasyon eğrisi verilmiştir. Standart kalibrasyon eğrisi kullanılarak her bir örnekteki KLA konsantrasyonları mg/g süt yağı cinsinden ifade edilmiştir.



Şekil 2.2 KLA için 233 nm'de çizilen standart kalibrasyon eğrisi

2.2.5. Mikrobiyolojik Analizler

2.2.5.1. Mikrobiyolojik analizler için dilüsyonların hazırlanması

Mikrobiyolojik sayımlar için ayranlardan depolamanın 1, 3, 8 ve 10. günlerinde aseptik olarak örnek alınmış ve ringer çözeltisi (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) kullanılarak uygun seyreltiler (seyreltme oranı= 1:10) hazırlanmıştır.

2.2.5.2. Laktobasil Sayımı

Laktobasil sayımı MRS agarda (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) yayma yöntemiyle yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 100 µL örnek alınıp katı besiyerinin üzerine drigalski spatülü ile yayılarak ekim gerçekleştirilmiştir. Petri kapları 37±1°C' ta 48 saat süre ile 2.5 L hacimli anaerobik jarlar (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) içerisinde inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik ortam Anaerocult® A (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) marka anaerobik kitler ile sağlanmıştır. Kitler üretici firmanın önerdiği şekilde kullanılmıştır. Petrilerde gelişen tüm koloniler laktobasil olarak değerlendirilmiştir (Anonim 2004).

2.2.5.3. Laktokok Sayımı

Laktokok sayımı M17 agarda (Merck KGaA, Darmstadt, Germany Germany) yayma yöntemiyle yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 100 µL alınıp katı besiyerine ekimi yapıldıktan sonra petri kapları 37±1°C' ta 48 saat süreyle aerobik olarak inkübe edilmiştir. Petrilerde gelişen tüm koloniler laktokok olarak değerlendirilmiştir (Anonim 2004).

2.2.5.4. *Lactobacillus reuteri* Sayımı

L.reuteri sayımı 50 µL/mL tetrasiklin (Sigma-Aldrich, Germany) içeren MRS Agar (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) besiyeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Hekmat vd 2009). Uygun dilüsyonlardan 100 µL alınmış ve MRS-tetrasiklin içeren petrilere yayma ekim yapılmıştır. Petriler 37±1°C'de 48 saat Anaerocult® A ile sağlanmıştır.

anaerobik ortamda inkübasyona bırakılmış ve petrillerdeki gelişen tüm koloniler *L.reuteri* olarak değerlendirilmiştir.

2.2.6. Duyusal Analiz

Ayran örneklerinin duyusal olarak değerlendirilmesinde hedonik sıkala kullanılmıştır. Duyusal analizler Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğrencileri ve personelinin oluşturulan grup ile gerçekleştirilmiştir ve örnekler bezenlilik açısından değerlendirilmiştir. Ayran örnekleri panelistlere rasgele üç rakamdan oluşan kodlar kullanılarak sunulmuştur. Panelistlerin örnekler arasındaki tadımdan sonra oluşan ağızdaki yağlılık hissi ve tuzlu tadın giderilmesi için su içmeleri sağlanmıştır. Panelistlerin değerlendirme formlarına duyusal özelliklerle ilgili ilave tanımlamalarını ve yorumlarını da yazmalarını istenerek bezenilmesinde önemli kalite faktörleri tespit edilmeye çalışılmıştır.

2.2.7. Statistikî Analizler

Araştırma 3 farklı uygulama (kontrol, *L.reuteri* ve *L.lactis* subsp. *lactis* ilaveli ayranlar) ile üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Üretimi takiben ayran örnekleri depolamanın belirli günlerinde analizlere alınmıştır. Uygulama ve depolamanın etkisini belirlemek amacıyla varyans analizi (ANOVA) (PROC GLM, SAS Version 9.0, SAS Institute, ABD) kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki istatistikî farklılıkların tespit edilmesinde ANOVA sonrası teknik olarak Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Farklılıkların harflendirilmesinde ise PDGLM800.SAS makro programı (Saxton, A., the University of Knoxville, Tennessee, USA) kullanılmıştır.

3. ARA TIRMA BULGULARI VE TARTI MA

3.1. inek Sütünün Bile imi ve Bazı Özellikleri

Süt ürünlerinin özellikleri hammadde olarak kullanılan sütlerin bile imine göre de i mektedir. Bu nedenle ara tırmada kullanılan inek sütünün bile imi ve bazı özellikleri belirlenmi ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.1’de verilmi tir.

Tablo 3.1 Ayran üretiminde kullanılan çi sütün kimyasal özellikleri

| Özellik | Ortalama De er (n=3) |
|-------------------------|----------------------|
| Kurumadde (%) | 12.08±0.09 |
| Ya (%) | 3.9±0.06 |
| Asitlik (% Laktik Asit) | 0.156±0.01 |
| pH | 6.74±0,00 |
| Protein (%) | 3.2±0.06 |
| Kül (%) | 0.745±0.02 |
| Laktoz (%) | 4.2±0.01 |

Konu ile ilgili olarak 22.08.2006 tarih ve 26267 nolu Resmi Gazete’de yayınlanan Türk Gıda Kodeksi-Çi Süt ve Isıl İlem Görmü çme Sütleri Tebli i’nde De i iklik Yapılması Hakkında Tebli ’de (Tebli No: 2006-38); çi inek sütünün protein oranının en az % 2.8 ve titrasyon asitli inin de % 0.135-0.2 olması gerekti i bildirilmi tir (Anonim 2006). Elde edilen verileri tebli de bildirilen de erlerle kar ıla tırdı mızda, ara tırmada kullanılan çi sütün ilgili tebli e uygun oldu u görölmektedir.

3.2. Ayranların Bazı Kimyasal Özellikleri

Çalı mada üretilen ayranların depolamanın 1. gününde belirlenen kimyasal özellikleri Tablo 3.2’de verilmi tir.

Tablo 3.2 Ayran örneklerinin depolamanın 1. gününde belirlenen kimyasal özellikleri (n=3)

| Özellikler | Kontrol | <i>L.reuteri</i> laveli Ayran | <i>L.lactis</i> subsp. <i>lactis</i> laveli Ayran |
|--------------------------|------------|----------------------------------|---|
| Kurumadde (%) | 11.15±0.05 | 11.15±0.08 | 11.14±0.07 |
| Ya (%) | 3.2±0.06 | 3.1±0.00 | 3.2±0.06 |
| pH | 4.21±0.04 | 4.31±0.04 | 4.25±0.04 |
| Titrasyon Asitli i (%LA) | 0.729±0.01 | 0.681±0.01 | 0.72±0.01 |
| Protein (%) | 3.1±0.06 | 3.1±0.00 | 3.2±0.06 |
| Kül (%) | 1.25±0.02 | 1.24±0.02 | 1.28±0.01 |
| Laktoz (%) | 3.6±0.07 | 3.7±0.00 | 3.5±0.08 |

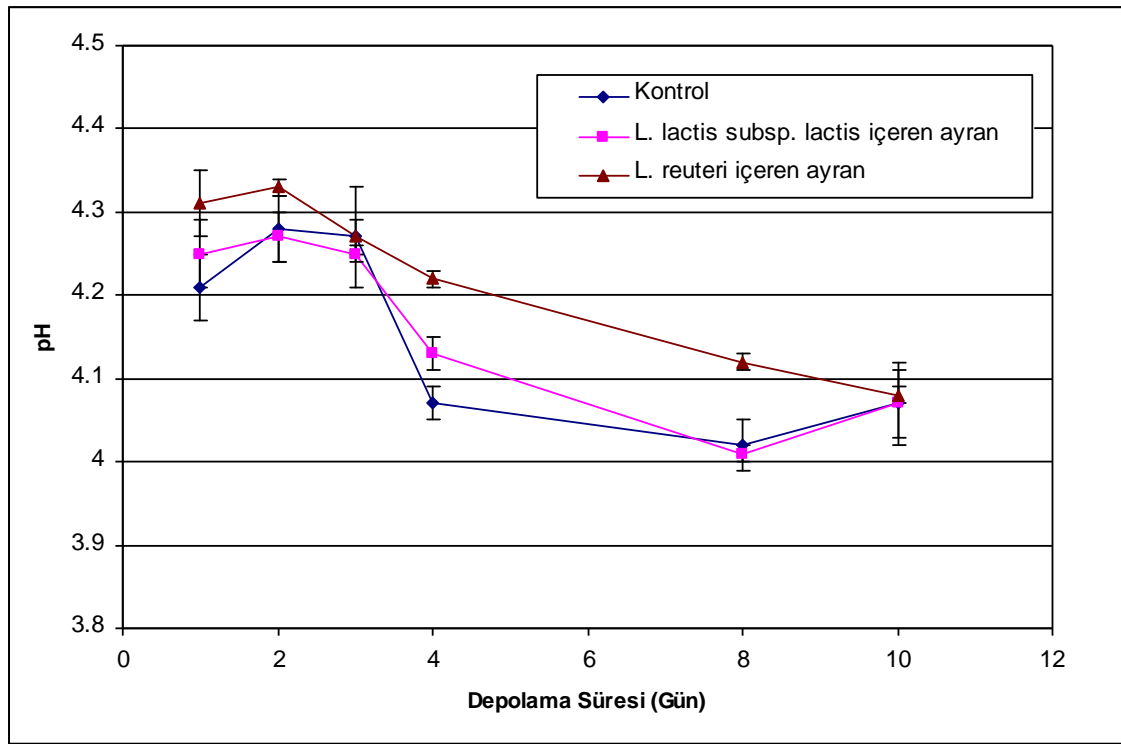
Türk Gıda Kodeksi-Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde (Tebliği No: 2009-25); ayranlarda protein oranının en az % 2.0 ve titrasyon asitli i de % 0.5-1.0 olması gerektiği bildirilmiştir (Anonim 2009a). Protein miktarı ve titrasyon asitli i de erleri açısından üretilen ayranların ilgili tebliğe uygun olduğu belirlenmiştir. Yine aynı tebliğdeki ayranlardaki yağ oranlarına göre sınıflandırma dikkate alındığında, çalınan maddelerde üretilen ayranların tamamı ayran sınıfında olduğu görülmektedir.

3.3. Ayran Örneklerinin Depolama Süresince pH Değerlerinin Değişimi

Süt ve süt ürünlerinde aktüel asitlik olarak bilinen pH değerini serbest ve aktif hidrojen iyonu ile dengede bulunan diğer bileşikler meydana getirir. Bu tip bileşikler; serbest bazik bileşikler, serbest nötral tampon bileşikler, proteine bağlı asidik ve bazik gruplar ile serbest organik asitler olabilir (Walstra vd 2002). Fermente süt ürünleri teknolojisinde ürünlerin olgunlaşma ve olgunlaşma basamaklarının izlenmesi pratik olarak pH değeri tespit edilerek yapılmaktadır. Diğer fermente süt ürünlerinde olduğu gibi ayranlarda da olgunlaşma sırasında meydana gelen kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin açıklanmasında pH değeri önemli bir kriter olarak kullanılmaktadır.

Araştırmada üretilen ve 10 gün depolanan ayran örneklerinde belirlenen pH değerleri üzerinde destek kültür kullanımının, depolama süresinin ve destek kültür kullanımı-depolama süresi etkileşiminin etkili olduğu belirlenmiştir ($p<0.01$). Depolama süresi boyunca örnek grupları değerlendirildiğinde (her bir grup için $n=18$) *L.reuteri* içeren ayranın ortalama pH değerinin (4.21 ± 0.10), kontrol (4.15 ± 0.11) ve *L.lactis* subsp. *lactis* içeren ayran örneklerinin ortalama pH değerinden (4.16 ± 0.11) yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.01$). Her ne kadar depolamanın ilk günlerinde ayranların

pH de erinde küçük artı lar meydana gelse de (ekil 3.1) depolamanın ilk 3 günündeki pH de erleri arasındaki farklılıklar önemsiz bulunmu tur ($p>0.05$). Kontrol ve *L. lactis* subsp. *lactis* içeren ayranların pH de erlerinin depolama süresinde de i im e ilimleri birbirine benzerdir (ekil 3.1). *L. reuteri* içeren ayranın pH de eri depolamanın 2. gününden itibaren düzenli bir azalma göstermektedir (ekil 3.1).



ekil 3.1 Kontrol ve destek kültür içeren ayran örneklerinin pH de erleri için destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksyonu

Yo urt starter kültürleri buzdolabı sıcaklıklarında bile aktif kalarak laktik asit fermantasyonu sonucu laktik asit üretmeye devam etmekte ve pH de erlerinde belirgin bir dü ü e sebep olmaktadır. Konu ile ilgili yapılan çalı maların birinde Özünlü (2005) yaptığı çalı mada üretti i ayranların depolamanın 14. günündeki pH de erlerini 4.15, 4.13 ve 4.09 olarak tespit etmi tir. Yapılan bir di er çalı mada da yo urt kültürü içeren geleneksel ayranın pH de erinin depolamanın 10. gününde 4.10'a dü tü ü, probiyotik destek kültürler içeren probiyotik ayranlarda ise pH de erinin 4.20'nin altına dü medi i belirlenmi tir (Tonguç 2006).

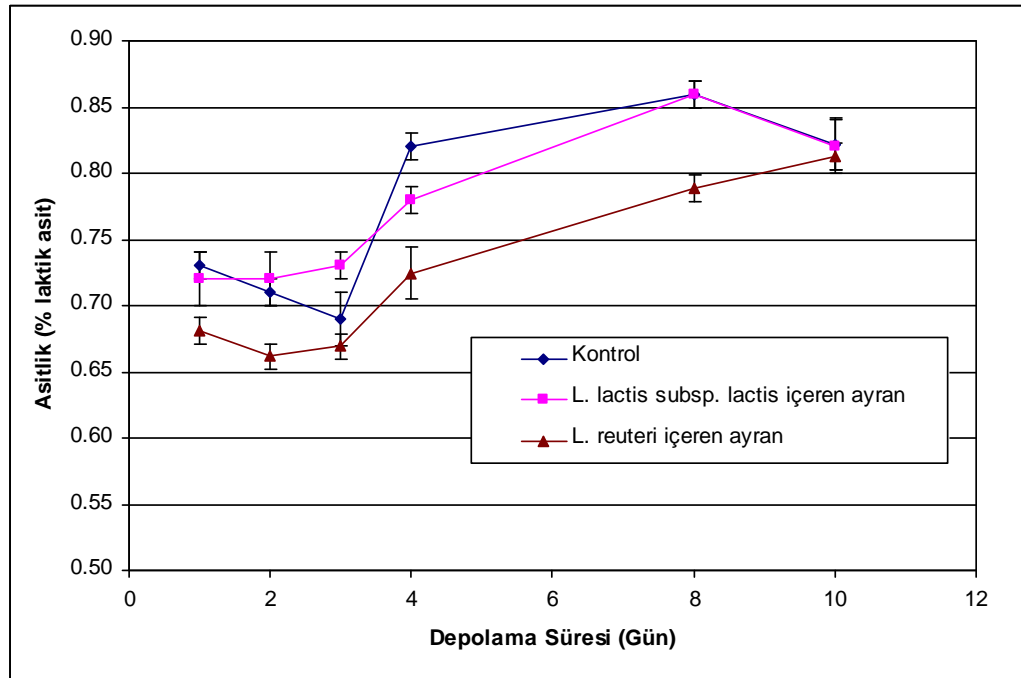
Ara tırma bulgularımız ile di er çalı ma bulguları arasındaki farklılıklar üretimde kullanılan starter ve/veya destek kültür farklılıklarından kaynaklanmı olabilir. *L. reuteri*

içeren ayranın pH değerinin daha yavaş bir düşüş göstermesinin sebebi daha yavaş asitlik oluşumuna karakteristiğinden kaynaklanabilir.

3.4. Ayran Örneklerinin Depolama Süresince Titrasyon Asitlik Değerlerinin Değişimi

Fermente süt ürünlerinin üretimi ve olgunlaştırılmasında son derece önemli rol oynayan süt asidi fermantasyonu mayalama tankında başlatılmakta, üretimin diğer aşamalarında ve depolama süresince de devam etmektedir.

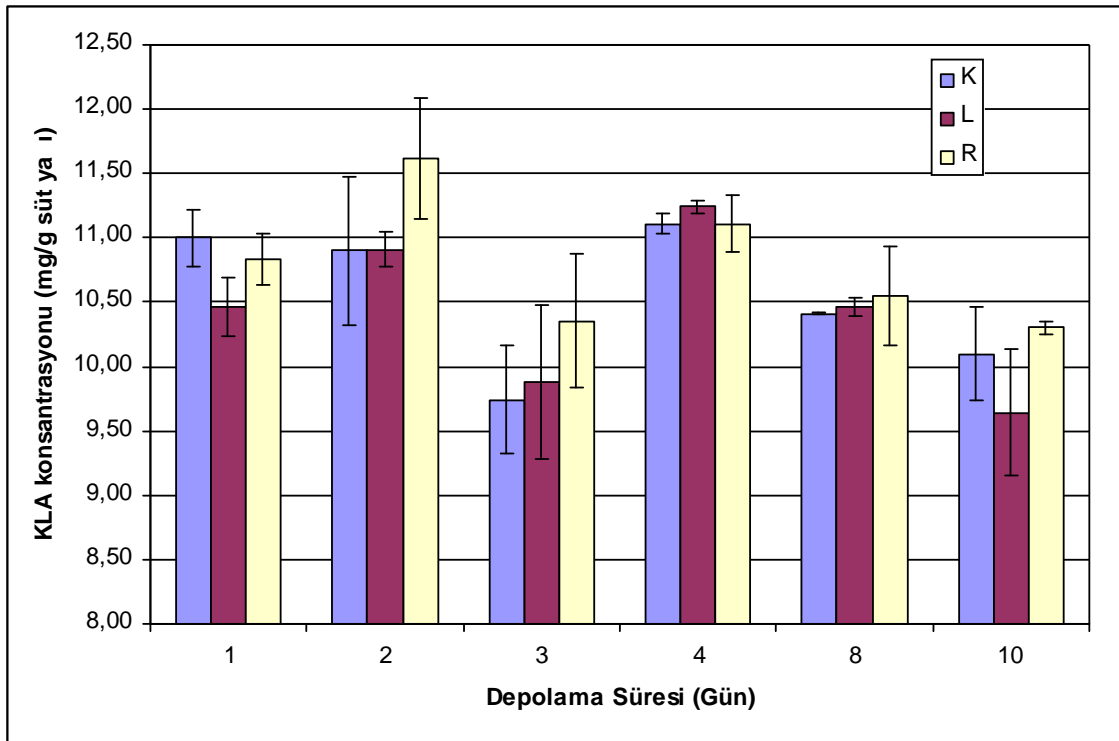
Çalışmada üretilen ayran örneklerinde belirlenen titrasyon asitlik değerleri üzerinde destek kültür kullanımı ve depolama süresinin etkili olduğu belirlenmiştir ($p < 0.01$). Örnek grupları içerisinde (her bir grup için $n=18$) kontrol ve *L.lactis* subsp. *lactis* içeren ayranların ortalama titrasyon asitlik değerlerinin birbirine benzer (sırasıyla 0.77 ± 0.07 ve 0.77 ± 0.06), *L.reuteri* içeren ayran örneklerinin ortalama titrasyon asitlik değerinin (0.73 ± 0.06) ise diğer iki gruptan düşük olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.01$). pH değerinde elde edilen verilerle paralel olarak depolamanın ilk 3 günündeki ayranların asitlik değerleri arasındaki farklılıklar önemsiz ($p > 0.05$) bulunmuşken depolamanın 4, 8 ve 10. günlerindeki titrasyon asitlik değerlerinin birbirinden farklı olduğu ($p < 0.01$) ve depolamanın 8. gününe kadar artış eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Bununla beraber kontrol ve *L.lactis* subsp. *lactis* içeren ayranların titrasyon asitlik değerleri depolamanın 10. gününde tekrar düşmüştür. Yine pH'da olduğu gibi titrasyon asitlik değerleri üzerinde de destek kültür kullanımı x depolama süresi etkileşiminin önemli olduğu belirlenmiştir ($p < 0.01$) (ekil 3.2). Genel olarak *L.lactis* subsp. *lactis* ve *L.reuteri* içeren örneklerin asitlik değerleri depolamanın 2. gününden itibaren kademeli olarak 8. güne kadar artmıştır. Depolama süresinde kontrol örneğindeki titrasyon asitlik değerindeki değişimler daha keskin olmuştur (ekil 3.2).



ekil 3.2 Kontrol ve destek kültür içeren ayran örneklerinin asitlik de eri için destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksyonu

3.5. Ayran Örneklerinin Depolama Süresince KLA Konsantrasyonu De i imi

Ara tırmamızda ayran üretiminde destek kültür kullanımının ve depolama süresinin KLA konsantrasyonu üzerinde etkili oldu u belirlenmi tir ($p < 0.01$). Bununla beraber KLA konsantrasyonu üzerinde destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksyonu istatistiksel olarak önemli bulunmamı tir ($p > 0.05$) (ekil 3.3). 10 günlük depolama süresince kontrol ile (destek kültür olarak) *L.reuteri* ve *L.lactis* subsp. *lactis* içeren ayran örneklerinin ortalama KLA konsantrasyonlarının (her bir örnek grubu için $n=18$) sırasıyla 10.55 ± 0.60 , 10.79 ± 0.56 ve 10.43 ± 0.63 mg/g süt ya ı oldu u tespit edilmi tir. Destek kültür olarak *L.reuteri* içeren ayrandaki KLA miktarının di er iki ayran örne indeki KLA miktarlarından fazla oldu u ($p < 0.01$), bununla beraber kontrol ve *L.lactis* subsp. *lactis* içeren ayranların KLA miktarlarının istatistiksel olarak benzer oldu u ortaya konulmu tur. Her bir örnek grubu için belirlenen ortalama KLA miktarları göz önüne alındı nda ayran üretiminde *L.reuteri* kullanımının KLA miktarını kontrol grubuna göre yakla ık %2.3 arttırdı ı görülmektedir. Genel olarak, depolamanın erken dönemlerinde KLA konsantrasyonununun yüksek oldu u ve depolamanın son günlerinde konsantrasyonda bir azalma e ilimi oldu u belirlenmi tir (ekil 3.3).



ekil 3.3 Ayran örneklerinin KLA konsantrasyonu üzerinde destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksiyonunun etkisi (K: Kontrol, L: *L. lactis* subsp. *lactis* içeren ayran, R: *L. reuteri* içeren ayran)

Konu ile ilgili bir ara tırmada Kim ve Liu (2002) ayçiçek ya ı ilave edilmi tam ya lı sütte, 14 laktik asit bakterisinin KLA üretim kabiliyetlerini ara tırmı tır. Tam ya lı süte 0.1g/L ayçiçek ya ı ilavesi optimal konsantrasyon olarak belirlenirken, en yüksek KLA üretimini sa layan *Lactococcus lactis* I-01 su u katkılı ya lı süt ortamında (ayçiçe i ya ı+%6 süt tozu+glukoz), ilave yapılmayan ortama göre (kontrol grubu) 2.3 kat daha fazla üretim sa lamı tır. Ayrıca bu çalı mada süt tozu ilavesinin de KLA üretimini arttırdı ı belirtilmi tir. nkübasyon süresinin 24 saatin üzerine çıkması KLA miktarını etkilemezken, pH de erinin 5.5'in altına dü mesi ise KLA miktarının dü mesine sebep olmu tur. Lin (1999) yaptı ı çalı mada 1000 µg/ml linoleik asit eklenmi sterilize ya sız sütte *L.lactis* subsp. *lactis* (CCRC10791) bakterisinin linoleik asidi KLA' ya dönü türdü ünü gözlemi tir. Bu çalı mada da inkübasyon süresinin 24 saatten 48 saate yükselmesi KLA miktarını arttırmamı tır. Xu vd (2008) genel olarak dü ük pH de erinde KLA üretebilen bakterilerin geli iminin yava laması sonucu linoleik asidin KLA' ya izomerizasyonunun azaldı ını bildirmi tir. Yukarıda özetlenen çalı malardan anla ılaca ı gibi *L.lactis* farklı ortamlarda farklı miktarlarda KLA üretimi sa larken ortamın dü ük pH de eri sonucu olumsuz olarak etkileyebilmektedir.

Bulgularımız ile di er bazı çalı ma verileri arasındaki farklılıklar, ortamda farklı bile enlerin bulunması ve fermente süt rnlerinin d k pH de eri dolayısıyla destek kültürlerin bakteriyel geli imini ve enzim aktivitesini etkilemesinden kaynaklanabilir.

Ara tırmadaki bulgularımıza paralel olarak yapılan bir çalı mada 25 µg/ml serbest linoleik asit içeren MRS broth ortamında bazı laktokok türlerinin linoleik asidi konjuge linoleik aside dn türme potansiyeline sahip olmadı ı belirlenmi tir (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 ve *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCFB 176) (Jiang vd 1998). Lin (1999) 1000µg/ml linoleik asit edilmis ya sız süt ortamında *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCRC10791'in KLA dn m yetene i üzerine ilave edilen tuzun etkisini ara tırmı tir. Çalı ma do rultusunda 10 g/L sodyum klorürün ya sız süt ortamında KLA konsantrasyonu %13 oranında azalttı ı gözlenmi tir.

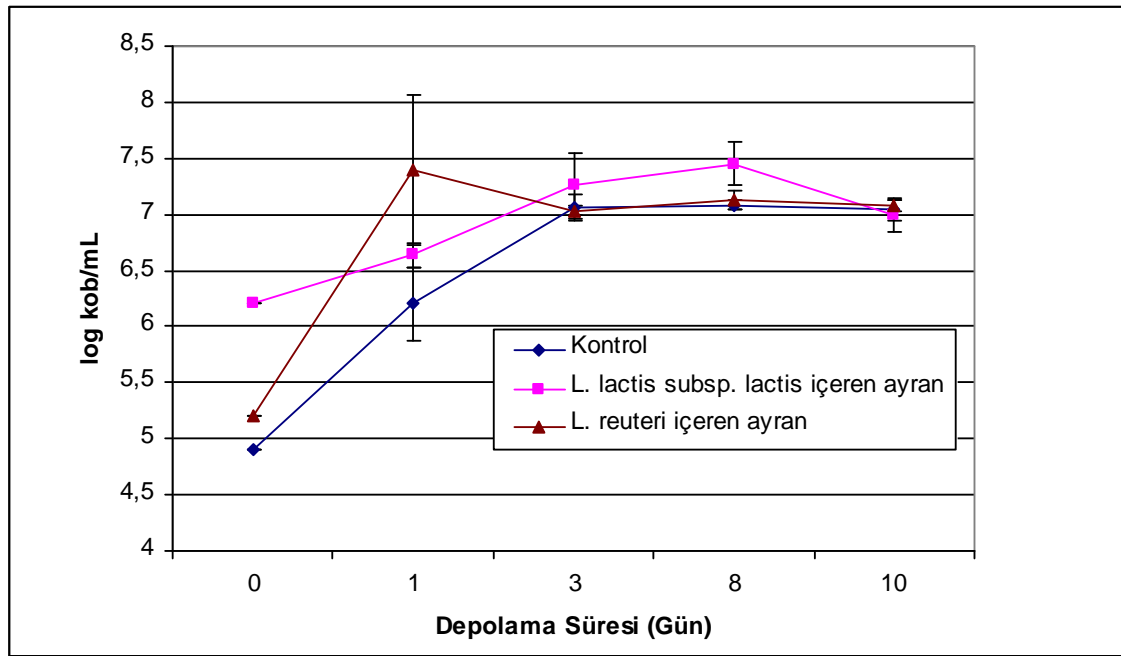
L.reuteri bakterisi kullanılarak yapılan bir ara tırmada ise bulgularımıza paralel sonuçlar bildirilmi tir. Örne in linoleik asidin KLA' ya biyokatalizi üzerine yapılan bir ara tırmada farklı laktik asit bakterileri içerisinde en yüksek retim *L. reuteri* ATCC739 su undan ekstrakte edilen linoleik asit izomeraz enzimi ile linoleik asidin %10 oranında KLA' ya dn myle sa lanmı tir (Irmak vd 2006).

Genel olarak ortam bile enleri, tuz, ve pH ko ulları ve ortama ilave edilen linoleik asit konsantrasyonu bakteri metabolizmasını etkileyerek linoleik asitten KLA dn mn sa layan linoleik asit izomeraz enziminin aktivitesini etkileyebilir. Ayrıca enzim aktivitesi bakterilerin farklı su ları arasında da farklılık gösterebilmektedir. Bu amaçla laboratuvar ortamlarında linoleik asidin KLA' ya dn mnde yüksek potansiyele sahip olan bakterilerin fermente süt ürünlerindeki aktivitelerin tespit edilmesi, ürünlerdeki bile enlerin ve ortam ko ullarının bakteri metabolizması üzerine etkilerinin belirlenmesi ve KLA üretimini sınırlayacak faktörlerin ortadan kaldırılması konusunda ara tırmaların yapılması gereklidir.

3.6. Ayran rneklerinin Mikrobiyolojik zellikleri

Çalı mada üretilen kontrol ve destek kültür içeren ayran örneklerinin laktobasil sayıları üzerinde destek kültür ilavesi, depolama süresi ve destek kültür ilavesi x

depolama süresi interaksiyonlarının önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0.01$). Ayran örneklerinin laktobasil sayıları üzerinde destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksiyonu ekil 3.4 ve Tablo 3.3’de verilmiştir. Kontrol, *L.lactis* subsp. *lactis* ve *L.reuteri* içeren ayran örneklerindeki ortalama laktobasil sayıları sırasıyla 6.45, 6.91 ve 6.76 log kob/mL olarak belirlenmiştir (her bir örnek grubu için $n=15$). Destek kültür içeren ayranlardaki ortalama laktobasil sayılarının birbirine benzer ve kontrol grubundaki laktobasil sayısından fazla olduğu belirlenmiştir ($p < 0.01$). Tüm örneklerin ($n=9$) depolama süresi boyunca ortalama laktobasil sayılarındaki değişim incelendiğinde depolamanın 3, 8 ve 10. günlerindeki ortalama laktobasil sayılarının birbirine benzer ($p > 0.05$) ve 0 ve 1. günlerdeki ortalama sayılardan yüksek oldukları görülmüştür ($p < 0.01$). Bu durumda genel olarak ayranlardaki laktobasil sayılarının depolama süresinin 3. gününe kadar bir artış eğilimi gösterdiği ve sonrasında değişim göstermediği söylenebilir (ekil 3.4).

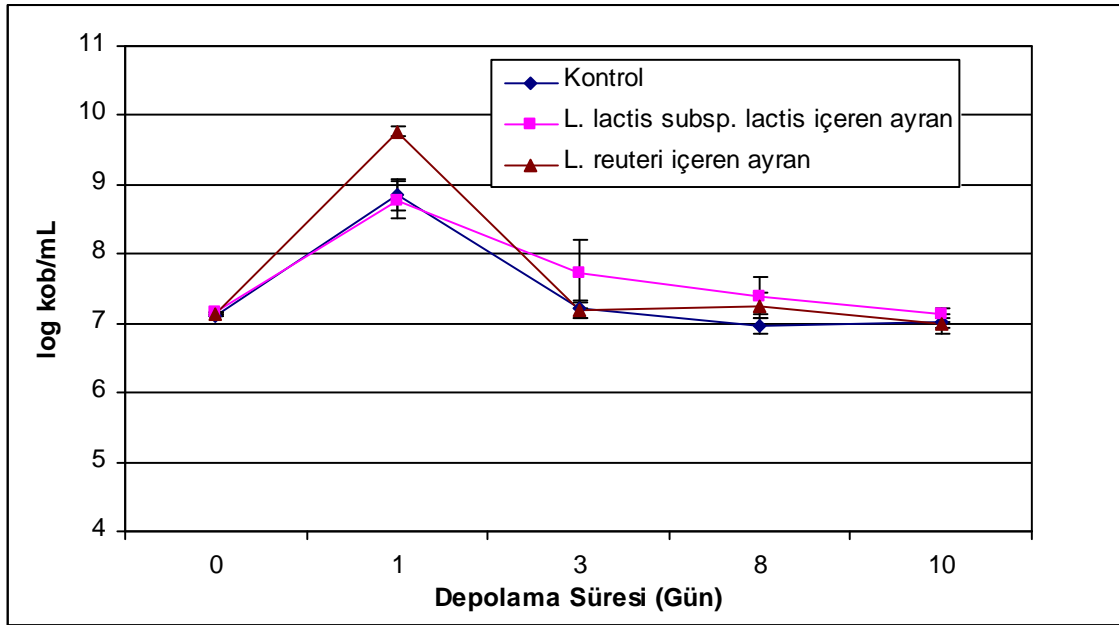


ekil 3.4 Ayran örneklerinin laktobasil sayıları üzerinde destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksiyonunun etkisi

Tablo 3.3 Ayran örneklerinin laktobasil ve laktokok sayıları üzerinde destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksyonunun etkisi

| Depolama süresi (gün) | Ayran çe idi | Mikroorganizma sayısı (log kob/g) | |
|-----------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|-------------|
| | | Laktokok | Laktobasil |
| 0 | Kontrol | 7.10±0.00de | 4.90±0.00d |
| | <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | 7.16±0.00de | 6.21±0.00c |
| | <i>L. reuteri</i> | 7.12±0.00de | 5.20±0.00d |
| 1 | Kontrol | 8.85±0.23b | 6.20±0.32c |
| | <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | 8.78±0.26b | 6.64±0.11bc |
| | <i>L. reuteri</i> | 9.77±0.07a | 7.39±0.67a |
| 3 | Kontrol | 7.21±0.13de | 7.06±0.12ab |
| | <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | 7.72±0.49c | 7.27±0.27a |
| | <i>L. reuteri</i> | 7.19±0.11de | 7.02±0.06ab |
| 8 | Kontrol | 6.95±0.12de | 7.08±0.04ab |
| | <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | 7.41±0.28cd | 7.45±0.19a |
| | <i>L. reuteri</i> | 7.25±0.18de | 7.13±0.08ab |
| 10 | Kontrol | 7.09±0.07e | 7.04±0.09ab |
| | <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | 7.12±0.11de | 7.00±0.15ab |
| | <i>L. reuteri</i> | 7.00±0.14de | 7.07±0.05ab |

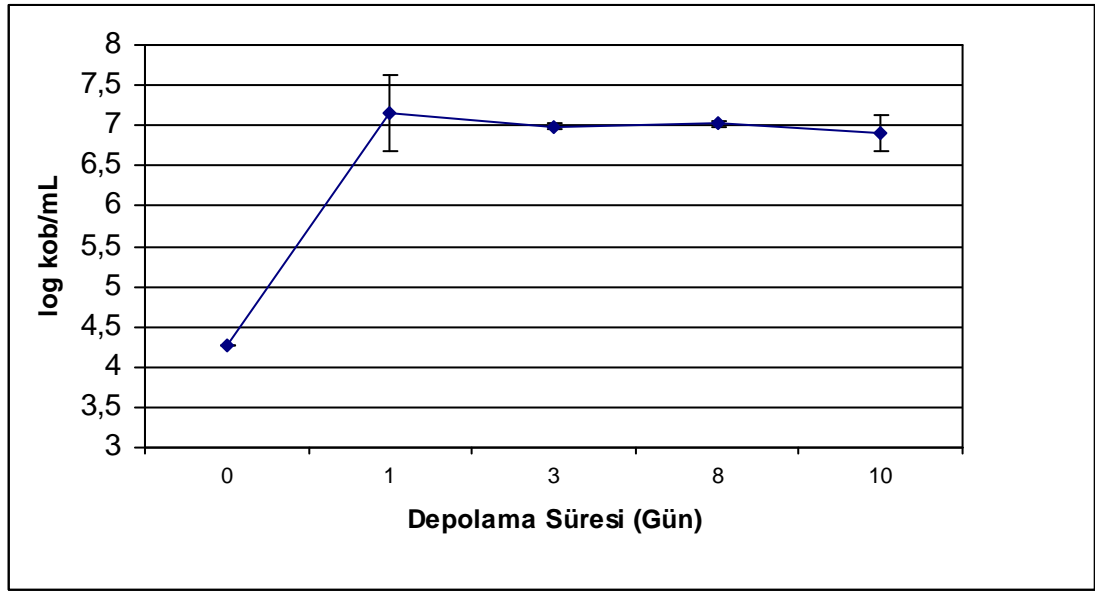
Laktobasil sayısı ile ilgili istatistiksel sonuçlarla benzer olarak kontrol ve destek kültür içeren ayran örneklerinin laktokok sayıları üzerinde de destek kültür ilavesi, depolama süresi ve destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksyonlarının önemli oldu u tespit edilmi tir ($p<0.01$). Ayran örneklerinin laktokok sayıları üzerinde destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksyonu Tablo 3.3’de ve ekil 3.5’de verilmi tir. Kontrol, *L.lactis* subsp. *lactis* ve *L.reuteri* içeren ayran örneklerindeki ortalama laktokok sayıları sırasıyla 7.44, 7.64 ve 7.52 log kob/mL olarak belirlenmi tir (her bir örnek grubu için $n=15$). Kontrol ve *L.lactis* subsp. *lactis* içeren ayranlardaki ortalama laktokok sayılarının birbirinden farklı ($p<0.01$) ve *L.reuteri* içeren ayran grubundaki ortalama laktokok di er örnek gruplarıyla benzer bulunmu tur. Tüm örneklerin ($n=9$: 3 farklı örnek x 3 tekrür) depolama süresi boyunca ortalama laktokok sayılarındaki de i im incelendi inde; depolamanın 1. gününde artan laktokok sayısının daha sonra kademeli olarak dü tü ü ve depolamanın 10. gününde 0. gündeki ortalama laktokok sayısına dü tü ü görülmü ür ($p<0.01$) (ekil 3.5).



ekil 3.5 Ayran örneklerinin laktokok sayıları üzerinde destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksiyonunun etkisi

Ara tırmada destek kültür olarak kullanılan *L.reuteri*'nin depolama süresince de i imi ekil 3.6'da gösterilmi tir. Yapılan istatistiksel analizde depolama süresince *L.reuteri* sayısında meydana gelen de i imlerin önemli oldu u bulunmu tur ($p<0.01$).

ekil 3.6'dan da görüldü ü gibi depolamanın 1, 3, 8 ve 10. günlerindeki *L.reuteri* sayısı birbirine benzer bulunmu , depolamanın 0. günündeki *L.reuteri* sayısının ise di erlerinden farklı ($p<0.01$) ve dü ük oldu u tespit edilmi tir.



ekil 3.6 Ayran üretiminde destek kültür olarak kullanılan *L. reuteri*'nin depolama süresince de i imi

3.7. Ayran Örneklerinin Duyusal Özellikleri

Duyusal de erlendirme, gıdaların çe itli karakteristiklerine kar ı görme, koklama, tat alma, dokunma ya da i itme duyularının tepkilerini olu turan, ölçen, analizleyen ve açıklayan multidisipliner bir bilim dalı olarak tanımlanmaktadır (Uysal vd 2004). Günümüzde duysal analizler gıda endüstrisinde yeni ürünlerin geli tirilmesinde, ürün kalitesinin kontrolünde ve kalitenin artırılmasında kullanılan standard araçlar haline gelmi tir (Gallerani vd 2000). Fermente süt ürünleri üretiminde geni kullanım alanı bulan duysal de erlendirme, satılmakta olan bir ürünün karakteristiklerini geli tirme, satı potansiyelini artırma, günlük üretimde kaliteyi koruma, yeni ürün geli tirme ve pazarlama analizlerinin bütününde önemli roller üstlenmektedir (Uysal vd 2004).

Ara tırmamızda üretilen ayran örnekleri hedonik sıkala ile depolamanın 1. ve 10. günlerinde de erlendirilmi tir. Ayran örneklerinin duysal de erlendirme sonuçları Tablo 3.4'de verilmi tir. Örneklerin duysal özellikleri üzerinde destek kültür kullanımının, depolama süresinin ve destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksiyonunun önemli olmadığı bulunmu tur ($p>0.05$). Bir ön çalı ma niteli inde olan ve ayranın KLA içeri inin *L. reuteri*'nin destek kültür olarak kullanımı ile artırılabilce ini gösterdi imiz çalı mamızın umut verici sonuçlarını dikkate alacak

olursak, KLA miktarını artırmak amacıyla kullanılan destek kültürlerin ayranların duyuşal özellikleri üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin olmaması sevindiricidir.

Tablo 3.4 Ayran örneklerinin duyuşal de erlendirme sonuçları (n=24)

| Örnek | Depolama Süresi (Gün) | Puan \pm Standart sapma |
|--|-----------------------|---------------------------|
| Kontrol | 1 | 5.26 \pm 1.54 |
| | 10 | 4.63 \pm 1.71 |
| <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> içeren ayran | 1 | 5.71 \pm 1.33 |
| | 10 | 5.25 \pm 1.48 |
| <i>L. reuteri</i> içeren ayran | 1 | 5.54 \pm 1.38 |
| | 10 | 5.38 \pm 1.47 |

4. SONUÇ

Genel olarak çalı ma sonuçları de erlendirildi inde ayran üretiminde destek kültür olarak *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739 kullanımının ayranın KLA miktarını yakla ık %2.3 oranında arttırdı ı tespit edilmi tir ($p<0.01$). Destek kültür olarak *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IO-1 kullanımını mevcut ko ullarda KLA miktarının artırılmasında etkili olmamı tır ($p>0.05$). Destek kültür kullanımı, depolama süresi ve destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksyonu ayranların pH ve titrasyon asitli i de erleri üzerinde etkili olmu tur. Ancak gerek pH ve asitlik de erlerindeki bu de i imler ve gerekse destek kültür kullanımı tüketicilerin ayranlarla ilgili be enilerini etkilememi tir ($p>0.05$). Genel olarak destek kültür kullanılan ayranların laktokok ve laktobasil sayıları beklenildi i gibi kontrol grubundan yüksek çıkmı tır.

Bir ön çalı ma niteli inde olan bu ara tırma ile destek kültür kullanımı ile ayranların KLA miktarının artırılabilce i gösterilmi tir. Sa lık açısından yararları bulunan KLA'ların ayran ve yo urt üretimi sırasında laktik destek kültür kullanımı ile artırılmasına yönelik olarak yapılacak bundan sonraki çalı malarda;

- Ayranlara ilave edilen destek kültürlerin farklı inokulasyon oranlarında kullanımının KLA miktarına etkilerinin ara tırılması,
- Linoleik asit kayna ı olarak ilave edilen ayçiçe i ya ının farklı konsantrasyonlarının KLA üretimi üzerine etkilerinin belirlenmesi,
- Bu çalı mada kullanılan destek kültürlerin dı nda özellikle geleneksel süt ürünlerimizden izole edilen laktik asit bakterinin linoleik asitten KLA olu turma kabiliyetlerinin model sistemlerde ve ayran üretimi a amalarında ara tırılması,

konu ile ilgili soru i aretlerinin ortadan kaldırılmasına katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

- Akdur, R. (1993) Kanser Epidemiyolojisi ve Kanserden Korunma İlkeleri. *Sa Ğlık ve Sosyal Yardım Vakfı Dergisi*, 3(4): 28-32.
- Alonso, L., Cuesta, E. P., Gilliland, S. E. (2003) Production of Free Conjugated Linoleic Acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of Human Intestinal Origin. *J. Dairy Sci.*, 86: 1941-1946.
- Anonim (1980) International Dairy Federation “Milk and Milk Products: Guide to Sampling Techniques”, *IDF Standard 50A*, Belgium.
- Anonim (1981) TS 1018 Çi Ğ Süt Standardı, *Türk Standardları Enstitüsü*, Ankara.
- Anonim (1982) TS 3810 Ayran Standardı, *Türk Standardları Enstitüsü*, Ankara.
- Anonim (2001) Devlet Planlama Te Ğkilatı, Sekizinci Be Ğ Yıllık Kalkınma Planı “Gıda Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu: Süt ve Süt Ürünleri Sanayi Alt Komisyon Raporu”, DPT: 2636-OIK:644, Ankara, 75s.
- Anonim (2004). TS ISO 7889 Yo Ğ urt-Karakteristik Mikroorganizmaların Sayımı-37oC’de Koloni Sayım Tekni Ği. *Türk Standardları Enstitüsü*, Ankara.
- Anonim (2006) Türk Gıda Kodeksi, Çi Ğ Süt ve Isıl İlemler Görmü Ğü Ğme Sütleri Tebli Ği’nde De Ği Ğiklik Yapılması Hakkında Tebli Ğ, Tebli Ğ No: 2006-38, Ankara.
- Anonim (2008) Tosun, H. Biyoteknolojide Enzimler. <http://www.bayar.edu.tr/~gida/unite%206%20enzim%20teknolojisi.doc> (10.04.2008).
- Anonim (2009a) Türk Gıda Kodeksi, Fermente Süt Ürünleri Tebli Ği, Tebli Ğ No: 2009/25, Ankara, 4s.
- Anonim (2009b) Life Extension Foundation, www.lef.org (02.01.2009).
- Anonim (2009c) World Health Organisation. Cancer, <http://www.who.int> (02.01.2009).
- Anonim (2009d) National Dairy Council, Emerging Health Benefit of CLA. <http://www.nationaldairycouncil.org/nationaldairycouncil/health/digest/dcd71-4page4.htm> (02.01.2009).
- Bauman, D. E., Peterson, D. G., Corl, B. A., Baumgard, L. H., and Perfield, J. W. (2001) Update On Conjugated Linoleic Acid. http://www.ansci.cornell.edu/bauman/cla/conference_proceedings/articles/2001_cnc_bauman_et_al.pdf (15.01.2010).
- Bisig, W., Eberhard, P., Collomb, M., Rehberger, B. (2007) Influence of Processing on the Fatty Acid Composition and Content of Conjugated Linoleic Acid in Organic and Conventional Dairy Product. *Dairy Science and Technology*, 87: 1-19.

- Coakley, M., Ross, R. P., Nordgren, M., Fitzgerald, G., Devery, R. and Stanton, C. (2003) CLA Biosynthesis by Human-Derived Bifidobacterium Species. *Journal of Applied Microbiology*, 94: 138-145.
- Collomb, M., Schmid, A., Sieber, R., Wechsler, D., Ryhanen, E. L. (2006) Conjugated Linoleic Acid in Milk Fat: Variation and Physiological Effects. *International Dairy Journal*, 16: 1347-1361.
- Cook, M., Pariza, M. (1998) The Role of Conjugated Linoleic Acid in Health. *Int. Dairy Journal*, 8: 459-462.
- Çelebi, ., Kaya, A. (2008) Konjuge Linoleik Asidin Biyolojik Özellikleri ve Hayvansal Ürünlerde Arttırmaya Yönelik Bazı Çali malar. *Hayvansal Üretim Dergisi*, 49(1):62-68.
- Çelik, L. (2006) Konjuge Linoleik Asidin Ruminantlarda Biyosentezi, Fizyoloji ve Lipid Metabolizması Üzerine Etkileri. *Hayvansal Üretim Dergisi*, 47 (1): 1-7.
- Deckere, E. A., Van Amelsvoort, J. M., Mcneill, GP., Jones, P. (1999) Effects of Conjugated Linoleic Acid Isomers on Lipid Levels and Peroxisome Proliferation in the Hamster. *Br. J. Nutr.*, 82: 309-17.
- Gallerani, G., Gasperi, F., Monetti, A. (2000) Judge Selection for Hard and Semi-Hard Cheese Sensory Evaluation. *Food Quality and Preference*, 11: 465-474.
- Gnadig, S., Chamba, J. F., Perreard, E., Chappaz, S., Chardigny, J. M., Rickert, R., Steinhart, H., Sebedio, J. L. (2004) Influence of Manufacturing Conditions on the Conjugated Linoleic Acid Content and the Isomer Composition in Ripened French Emmental Cheese. *Journal of Dairy Research*, 71: 367-371.
- Gürsoy, O., I ık, F., Kınık, Ö. (2003) Fonksiyonel Gıda Bile eni Olarak Süt ve Süt Ürünlerinde Konjuge Linoleik Asit ve zomerleri. *Akademik Gıda*, 1(2): 26-32.
- Halade, G. W., Rahman, M. M., Fernandes, G. (2009) Differential Effects of Conjugated Linoleic Acid Isomers in Insulin-Resistant Female C57 B1/6J. *Journal of Nutritional Biochemistry*, in press, Available online 7 May 2009.
- Hekmat, S., Soltani, H., Reid, G. (2009) Growth and Survival of *Lactobacillus Reuteri* RC-14 and *Lactobacillus Rhamnosus* GR-1 in Yogurt for Use as A Functional Food. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 293-296.
- Hue, J. J., Lee, K. N., Jeong, J. H., Lee, S. H., Jeong, S., Nam, S.Y., Yun, Y., Lee B.J. (2009) Antiobesity Activity of Diglyceride Containing Conjugated Linoleic Acid in C57BL/6J Ob/Ob Mice. *J. Vet. Sci.*, 10: 189-195.
- Hur, S. J., Park, G. B., Seon, T. J. (2007) Biological Activities of Conjugated Linoleic Acid(CLA) and Effects of CLA on Animal Products. *Livestock Science*, 110: 221-229.
- Ip, C., Singh, M., Thompson, H. J., Scimeca, J. A. (1994) Conjugated Linoleic Acid Suppresses Mammary Carcinogenesis and Proliferative Activity of the Mammary Gland in the Rat. *Cancer Research*, 54: 1212-1215.

- Ip, M. M., Masso-Welch, P. A., Ip, C. (2003) Prevention of Mammary Cancer with Conjugated Linoleic Acid: Role of the Stroma and the Epithelium. *J. Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 8: 103-118.
- Irmak, S., Dunford, N. T., Gilliland V. B., Eisenmenger, M. (2006) Biocatalysis of Linoleic acid to Conjugated linoleic acid. *Lipids*, 41: 771-776.
- nanç, N. (2006) Konjuge Linoleik Asit: Obezitede Etkileri. *Sa lık Bilimleri Dergisi*, 15(2): 137-141.
- Jiang, J., Björck, L., Fonden, R. (1998) Production of Conjugated Linoleic Acid by Starter Culture. *Journal of Applied Microbiology*, 85: 95-102.
- Kılıç, S. (2001) Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, 542, *Ege Üniversitesi Ziraat Fak. Yayınları*, zmir, 451s.
- Kim, I., Yoon, C., Cho, S., Lee, K., Chung, S., Tae, B. (2001) Lipase-Catalyzed Incorporation of CLA into Tricaprylin. *JAACS*, 78: 547-551.
- Kim, Y. J., Liu, R. H. (2002) Increase of Conjugated Lioleic Acid Content in Milk by Fermentation with Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Science*, 67: 1731-1737.
- Kritchevsky, D. (2000) Conjugated Linoleic Acid Effects on Experimental Artherosclerosis. Dairy Foods and Cardiovascular Health. *Bulletin of IDF* 353: 22-36.
- Küçüköner, E., Küçük, M. (2004) Konjuge Linoleik Asit ve Sa lık Üzerine Etkileri. *Bilimsel Gıda*, 2: 15-20.
- Lavillonniere, F., Martin, J. C., Bougnoux, P., Sebedio, J. L. (1998) Analysis of CLA Isomers and Content in French Cheeses. *JAACS*, 75: 343-352.
- Lee, S. O., Kim, C. S., Cho, S. K., Choi, H. K., Ji, G. E., Oh, D. K. (2003) Bioconversion of Linoleic Acid During Fermentation and by Washed Cells of *Lactobacillus Reuteri*. *Biotechnology Letters*, 25: 935-938.
- Lin, T. Y., Lin C. W., Lee C. H. (1999) Conjugated Linoleic Acid Concentration as Affected by Lactic Cultures and Added Linoleic Acid. *Food Chemistry*, 67: 1-5.
- Lin, T. Y. (2000) Conjugated Linoleic Acid Concentration as Affected by Lactic Cultures and Additives. *Food Chemistry*, 69: 27-31.
- Lin, T. Y., Lin, C. W., Wang, Y. J. (2002) Linoleic Acid Isomerase Activity in Enzyme Extracts from *Lactobacillus acidophilus* and *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. *Journal of Food Science*, 67: 1731-1737.
- Lin, T. Y., Lin, C. W., Wang, Y. J. (2003) Production of Conjugated Linoleic Acid by Enzyme Extract of *Lactobacillus acidophilus* CCRC 14079. *Food Chemistry*, 83: 27-31.

- Lin, T. Y., Hung, T. Y., Cheng, T. S. J. (2005) Conjugated Linoleic Acid Production by Immobilized Cells of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus*. **Food Chemistry**, 92: 23-28.
- Lin, T. Y. (2006) Conjugated Linoleic Acid Production by Cells and Enzyme Extract of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* with Additions of Different Fatty Acids. **Food Chemistry**, 94: 437-441.
- Luna, P., Juarez M., Fuente M. (2007) Fatty Acid and Conjugated Linoleic Acid Isomer Profiles in Human Milk Fat. **Eur. J. Lipid. Sci. & Technol.**, 109: 1160-1166.
- Mandir, N., Goodlad, R. (2008) Conjugated Linoleic Acids Differentially Alter Polyp Number and Diameter in The Apc Min +/- Mouse Model of Intestinal Cancer. **Cellprolif**, 41: 279-291.
- Metin, M., Öztürk G. F. (2002) Süt Ve Muamülleri Analiz Yöntemleri, Duyusal Fiziksel ve Kimyasal Analizler, 24, **Ege Meslek Yüksek Okulu Basımevi**, zmir, 439s.
- Moon, H., Hong, G., Seo, J. H., Chung, C., Kim T.G., Choi Y.J., Cho C. S. (2009) Antiobesity Effect of Pegylated Conjugated Linoleic Acid on High-Fat Diet-Induced Obese C57BL/6J (Ob/Ob)Mice: Attenuation of Insulin Resistance And Enhancement of Antioxidant Defenses. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 20: 187-194.
- McGuire, M. A., McGuire M. K. (2000) Conjugated Linoleic Acid : A Ruminant Fatty Acid with Beneficial Effects on Human Health. **Journal of Animal Science**, 77: 1-8.
- Muhsiro lu, Ö. (2007) Beslenme ve Kanser, Hasta Bilgilendirme Kitapçı 1, **Gata Basımevi**, Ankara, 50s.
- Muller, L. D., Delahoy, J. E. (2005) Conjugated Linoleic Acid Implications for Animal Production and Human Health. Dairy and Animal Science, DAS 04-88, www.das.psu.edu/teamdairy (02.01.2009).
- Nieuwenhove C. P., Oliszewski R., Gonzales S. N., Chaia A. B. (2006) Influence of Bacteria Used as Adjunct Culture and Sunflower Oil Addition on Conjugated Linoleic Acid Content in Buffalo Cheese. **Food Research International**, 40: 559-564.
- Nieuwenhove, C.P., Oliszewski, R., Gonzales, S. N., Chaia, A.B. (2007) Conjugated Linoleic Acid Conversion by Dairy Bacteria Cultured in MRS Broth and Buffalo Milk. **Letters in Applied Microbiology**, 44: 467-474.
- Oh, D. K., Hong, G. H., Lee, Y., Min, S., Sin, H., Cho, S. K. (2003) Production of Conjugated Linoleic Acid by Isolated Bifidobacterium Strains. **World Journal of Microbiology**, 19: 907-912.
- O'Shea, M. O., Lawless, F., Stanton, C., Devery, R. (1998) Conjugated Linoleic Acid in Bovine Milk Fat: A Food-Based Approach to Cancer Chemoprevention. **Trends in Food Science and Thecnology**, 9: 192-196.

- Oysun, G. (2001) Süt ve Ürünlerinde Analiz Yöntemleri, 504, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi*, zmir, 306s.
- Özünlü, B. T. (2005) Ayran Kalitesinde Etkili Bazı Parametreler Üzerine Ara tırmalar, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 109s.
- Pariza, M. W. (1991) CLA: A New Cancer Inhibitor in Dairy Products. *Bulletin of the IDF* 257: 29-30.
- Pariza, M. W., Park, Y., Cook, M. E. (1999) Conjugated Linoleic Acid and the Control of Cancer and Obesity. *Toxicological Sciences*, 52 (Supplement): 107-110.
- Pariza, M. W. , Park, Y., Cook, M. E. (2001) The Biologically Active Isomers of Conjugated Linoleic Acid. *Progress in Lipid Research*, 40: 283-295.
- Rainer, L., Heiss, J. (2004) Conjugated Linoleic Acid: Health Implications and Effects on Body Composition. *Journal of The American Dietetic Association*, 104: 963-968.
- Roach, J. A. G., Mossoba, M. M., Yurawecz, M. P., Kramer, J. (2002) Chromatografic Separation and Identification of Conjugated Linoleic Acid Isomers. *Analytica Chimica Acta*, 465: 207-226.
- Sebedio, J. L., Cristie W. W., Adlof, R. (2003) Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, 2, **AOCS Press**, USA, 325s.
- Sieber, R., Collomb, M., Aeschlimann, A., Jelen, P., Eyer, H. (2004) Impact of Microbial Cultures on Conjugated Linoleic Acid in Dairy Product. *International Dairy Journal*, 14: 1-15.
- Soel, S. M., Bang, M. H., Choi, O. S., Park, J. H. Y., Kim, W. K. (2003) Effects of Conjugated Linoleic Acid (CLA) on Matrix Metalloproteinases (MMP) Activity and Cell Motility in Human Colon Cancer Cell Lines. *Korean J. Nutrition*, 36: 280-283.
- Soel, S. M., Choi, O. S., Bang, M. H., Park, J. H. Y., Kim, W. K. (2007) Influence of Conjugated Linoleic Acid Isomers on the Metastasis of Colon Cancer Cells *in vitro* and *in vivo*. *J. Nutritional Biochemistry*, 18: 650-657.
- ahin, N., Özçelik, B., Karaali, A. (2003) Peynir Ürünlerinde Konjuge Linoleik Asit Miktarı ve Sa lık Üzerine Etkileri”, *Süt Endüstrisinde Yeni E ilimler Sempozyumu*, zmir, s. 29-33.
- Tonguç, . E. (2006) Probiyotik Ayran Üretimi Üzerine Bir Ara tırma, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Süt Teknolojisi Anabilim Dalı), Bornova, zmir, 133s.
- Uysal, H., Kınık, Ö., Kavas, G. (2004) Süt ve Ürünlerinde Uygulanan Duyusal Test Teknikleri, 560, *Ege. Üniv. Basımevi*, zmir, 101s.
- Visonneau, S., Cesano, A., Teper, S. A., Scimeca, J. A., Santoli, D., Kritchevsky, D., (1997) Conjugated Linoleic Acid Suppresses the Growth of Human Breast Adenocarcinoma Cells in SCID Mice. *Anticancer Research*, 17: 969-973.

- Walstra, P., Geurts, T. J., Noomen, A., Jellema, A., Van Boekel, M. A. J. S. (2002) Dairy Technology: Principles off Milk Properties and Processes, **Marcel Dekker Inc.**, USA, 727s.
- Wang, Y. W. and Jones P. J. H. (2004) Conjugated Linoleic Acid and Obesity Control: Efficacy and Mechanisms. **International Journal of Obesity**, 28: 941-955.
- Wang, L. M., Lv, J. P., Chu, Z. Q., Cui, Y. Y., Ren, X. H. (2007) Production of Conjugated Linoleic Acid by *Propionibacterium freudenreichii*. **Food Chemistry**, 103: 313-318.
- Werner, S. A., Luedecke, L. O., Shultz, T. D. (1992) Determination of Conjugated Linoleic Acid Content and Isomer Distrubution in Three Cheddar-Type Cheese: Effects of Cheese Cultures Processing and Aging. **J. Agric. Food Chem.**, 40: 1817-1821.
- Xu, H., Lee, H. Y., Hwang, B., Nam, J. H., Kang, H. Y., Ahn, J. (2008) Kinetics of Microbioal Hydrogenation of Free Linoleic Acid to Conjugated Linoleic acids. **Journal of Applied Microbiology**, 105: 2239-2247.
- Yazgüno lu, Y. (2004) Beslenme ve Kanser. <http://www.bilkent.edu.tr/~bilheal/aykonu/ay2004/ocak2004/kanserkorunma.html> (Eri im Tarihi: 15.04.2008).
- Zlatanov, S., Laskaridis K., Sagredos A. (2008) Conjugated Linoleic Acid Content of Human Plasma. Biomed Central. **Lipids in Health and Disease**, 34: 1-6.

ÖZGEÇM

Hilal ÇOLAKO LU 1984 yılında Denizli' de do du. İlk, orta ve lise öğrenimini Denizli'de tamamladıktan sonra 2002-2006 yıllarında Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisli Bölümü'nde lisans öğrenimine devam etti. Lisans öğreniminin 6 aylık döneminde ERASMUS Öğrenci De i im Programı kapsamında Yunanistan Selanik Teknik Eğitim Enstitüsü'nde bulundu. Yüksek lisans öğrenimine ise 2007 yılında Süleyman Demirel Üniversitesinde baş lamı olup eğ itiminin kalan kısmına Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisli i Bölümü'de devam etmektedir