

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**LİPİD SİNDİRİM ETKİNLİĞİ ARTTIRILMIŞ SÜT BAZLI SIVI VE TOZ
FORMDA BESLENME FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

Şeyma AĞIRAL AKGÜN

SÜT TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2020**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

LİPİD SİNDİRİM ETKİNLİĞİ ARTTIRILMIŞ SÜT BAZLI SIVI VE TOZ FORMDA BESLENME FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ

Şeyma AĞIRAL AKGÜN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Süt Teknolojisi Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr.Hamdi Barbaros ÖZER
Eş Danışman: Prof.Dr.Nuray YAZIHAN

Bu tez çalışması kapsamında ısıtma işleminin homojenizasyondan önce ya da sonra yapılmasının yağ globül boyutu ve yüzey yüklerine etkisi olduğu ve buna bağlı olarak da yağların sindirim ve emilim etkinliklerinin değişebileceği öngörüsü test edilmiştir. Bu amaçla; *in vitro* gastrik sindirim çalışmaları pH 2 ve 6'da yürütülmüştür. Çalışma iki aşamalı olarak yürütülmüştür. Birinci aşamada süt yağının sindirim ve emilim etkinliğinin homojenizasyon basıncına ve ısıtma işleminin homojenizasyondan önce ya da sonra uygulanmasına bağlı olarak değişimi araştırılmıştır. İkinci aşamada ise evapore ve instant çözünür süttozu formunda üretilen homojenize sütlerde lipid sindirim etkinliği değişimleri takip edilmiştir. Süt lipidleri ve proteinlerinin birlikte buldukları sistemlerde süt yağının gastrik ve pankreatik sindirim ve hücre emilim düzeylerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. %65 yağlı kremanın ısıtma işlem öncesi ya da sonrası homojenizasyonu sonucunda süt yağının sindirim ve emilim etkinliği bakımından örnekler arasında belirgin farklılık tespit edilmemiştir. Benzer şekilde; %65 yağlı kremanın homojenize edildikten sonra ısıtma işlem görmesi ve ardından da yağsız pastörize süt ile karıştırılması sonunda da yağ sindirim etkinliği açısından farklılık tespit edilmemiştir. Homojenizasyon basıncının artması ile birlikte yağ globül boyutu azalmış ve zeta potansiyellerinde de düşme kaydedilmiştir. Ayrıca, tüm örnek gruplarında pankreatik sindirim aşamasında lipid sindiriminin gastrik sindirim aşamasına oranla daha yüksek gerçekleştiği ve pH 6'da gerçekleşen gastrik sindirimin pH 2'ye oranla daha etkin olduğu ancak yağların hücre emilim düzeyinin sindirim pH'sından etkilenmediği belirlenmiştir. Evapore edilmiş süt örneklerinde süt yağı sindirim etkinliğinin rekonstitüye edilmiş instant yağlı süttozu örneklerine oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Haziran 2020, 97 sayfa

Anahtar Kelimeler: Homojenizasyon, lipid, sindirim, emilim, ısıtma işlem, süt

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DEVELOPMENT OF DAIRY-BASED NUTRITION FORMULATIONS IN LIQUID and POWDER FORMS WITH IMPROVED LIPID DIGESTION

Şeyma AĞIRAL AKGÜN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Dairy Technology

Supervisor: Prof.Dr.Hamdi Barbaros ÖZER
Co-Supervisor: Prof.Dr.Nuray YAZIHAN

This study aimed to investigate the potential roles of homogenization and heat treatment, on *in vitro* digestion and absorption efficiency of milk lipids. For this purpose *in vitro* gastric digestion and absorption studies were achieved at pH 2 or 6. The trial was run at two successive stages. In the first trial, the effects of homogenization pressure and homogenization sequence (prior to or after heat treatment) on the lipid digestion and absorption capacity were investigated. In the second stage, lipid digestion levels were monitored in evaporated or reconstituted milk samples. When heat treatment was applied in the presence of lipids and proteins, the lipid digestion efficiency was lower than the digestion level of 65% milk fat which was digested alone. This situation was thought to stem from adsorption of caseins onto newly formed small fat globules and/or physical interactions between serum proteins/casein complexes with milk fat globule membrane proteins through disulfide bridges. Both protein-lipid interactions may have hindered the human gastric and pancreatic lipases to contact with lipid droplets and hence decelerated the lipid digestion. With the increase in homogenization pressure, the size and surface charges of the fat globules decreased. Additionally, in all experimental samples, the lipids were digested in the pancreatic digestion stage far more than gastric digestion step. *In vitro* gastric digestion at pH 6 yielded more lipid hydrolysis materials than that of pH 2. However, absorption of free fatty acids was not affected from gastric digestion pH.

June 2020, 97 pages

Key Words: Homogenization, lipids, digestion, absorption, heat treatment, milk

TEŞEKKÜR

Çalışmanın her aşamasında değerli bilgi, birikimlerini ve desteklerini esirgemeyen saygıdeğer danıőmanım Prof. Dr. H. Barbaros Özer ve saygıdeğer eş danıőmanım Prof. Dr. Nuray Yazıhan hocalarıma, çalışmanın yapılmasına katkıda bulunan Ankara Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Süt Teknolojisi bölümü öğretim eőemanları Doç. Dr. őebnem Budak, Araç. Gör. Dr. H. Ceren Akal ve Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakóltesi Farmasötik Teknoloji bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Sibel İlbasmış Tamer hocalarıma, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Süt Teknolojisi bölümü öğretim üyelerine ve tüm bölüm çalıőanlarına, bölüm arkadaşlarıma, bu süreçte her zaman yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

şeyma AĒIRAL AKĒÜN
Ankara, Haziran 2020

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	4
2.1 Enteral Beslenme.....	4
2.2 Süt Yağı	5
2.3 Süt Yağının Sindirim Mekanizması	6
2.4 Süt İşleme Teknolojisi ve Süt Yağı Sindirimine Olası Etkileri.....	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1 Örnek Hazırlama.....	14
3.2 Metot.....	20
3.2.1 Bileşim analizleri.....	20
3.2.2 Süt yağ globüllerinin ayrıştırılması ve boyut esasına göre gruplandırma.....	20
3.2.3 Homojenizasyon uygulaması.....	21
3.2.4 Evaporasyon ve sprej kurutma uygulamaları.....	21
3.2.5 Partikül boyutu ve zeta potansiyeli (- ζ -) ölçümü.....	21
3.2.6 Doğal ve homojenize süt yağlarının globül membran protein dağılımlarının belirlenmesi.....	22
3.2.7 Süt lipidlerin in vitro sindirimi.....	22
3.2.8 Süt lipidlerinin ince bağırsak emilim simülasyonu	23
3.2.9 Yağ sindirim ürünlerinin analizi.....	24
3.2.10 İstatistiksel analizler.....	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	25

4.1 Homojenize Krema Örneklerine Ait Partikül Boyutu ve Zeta Potansiyeli (- ζ -) Değişimleri.....	25
4.2 Krema Örneklerinin <i>in vitro</i> Gastrik Sindirim Sonrası Lipid Sindirim Ürünleri Profili.....	29
4.2.1 Homojenizasyondan önce ya da sonra ısı işlem uygulanan süt örneklerinin <i>in vitro</i> gastrik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri.....	29
4.2.2 Homojenizasyon öncesi ya da sonrası ısı işlem uygulanmış %65 yağlı krema örneklerinin <i>in vitro</i> gastrik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri.....	33
4.2.3 Homojenizasyon sonrası ısı işlem görmüş %65 yağlı krema ile ısı işlem görmüş yağsız süt karışım örneklerinin <i>in vitro</i> gastrik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri	35
4.3 Krema Örneklerinin <i>in vitro</i> Pankreatik Sindirim Sonrası Lipid Sindirim Ürünleri Profili.....	38
4.3.1 Homojenizasyondan önce ya da sonra ısı işlem uygulanan süt örneklerinin <i>in vitro</i> pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri.....	38
4.3.2 Homojenizasyon öncesi ya da sonrası ısı işlem uygulanmış %65 yağlı krema örneklerinin <i>in vitro</i> pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri.....	43
4.3.3 Homojenizasyon sonrası ısı işlem görmüş %65 yağlı krema ile ısı işlem görmüş yağsız süt karışım örneklerinin <i>in vitro</i> pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri.....	45
4.4 Homojenizasyon sonrası ısı işlem uygulanan süt, pastörize %65 yağlı krema ve pastörize %65 yağlı krema ile pastörize yağsız süt karışım örneklerinin bağırsak emilim sonrası serbest yağ asitleri konsantrasyonları.....	48
4.5 %35 kurumaddeli Evapore Süt (EV) ve %13 kurumaddeli Rekonstitüye Süt (RS)'ün <i>in vitro</i> gastrik ve pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asitleri konsantrasyonları.....	52
4.6 Deneme örneklerine ait elektroforetogramlar.....	54
5. SONUÇ.....	65
KAYNAKLAR.....	67
EKLER.....	77
EK 1 Homojenize edilmemiş pastörize inek sütünden santrifüj yoluyla ayrıştırılan yağ örneklerinin partikül boyutları.....	77

EK 2	Homojenize edilmemiş pastörize inek sütünden santrifüj yoluyla ayrıştırılan yağ örneklerinin yüzey yük dağılımları.....	78
EK 3	Homojenize edilmemiş çiğ inek sütü, UHT ticari süt ve 100 kg/cm² basınç altında homojenize edilen çiğ ve pastörize inek sütünden santrifüj yoluyla ayrıştırılan yağ örneklerinin partikül boyutları	79
EK 4	Homojenize edilmemiş çiğ inek sütü, UHT ticari süt ve 100 kg/cm² basınç altında homojenize edilen çiğ ve pastörize inek sütünden santrifüj yoluyla ayrıştırılan yağ örneklerinin zeta potansiyelleri.....	81
	ÖZGEÇMİŞ.....	83



KISALTMALAR DİZİNİ

BSs	Bile Salts
DG	Diglyceride
EV	Evaporated
GIS	Gastrointestinal Sistem
HPL	Human Pancreatic Lipase
HGL	Human Gastric Lipase
LL	Lingual Lipase
MG	Monoglyceride
MFGM	Milk Fat Globule Membrane
MFG	Milk Fat Globule
MRI	Magnetic Resonance Imaging
RS	Reconstitüye Süt
SH	Tiyol
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate Polyacriylamide Gel Electrophoresis
TKM	Toplam Kurumadde
TG	Triglyceride

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Deneme planı.....	16
Şekil 3.2 %35 toplam kurumadde (TKM) içerikli evapore süt (EV) ile %13 toplam kurumaddeli rekonstitüye süt (RS) üretimi ve sindirim/emilim prosedürü akış şeması.....	19
Şekil 4.1 Farklı basınçlarda homojenize edilen süt örneklerinden ayrıştırılan yağların ortalama partikül boyut dağılımı.....	28
Şekil 4.2 Krema örneklerine ait yüzey yük dağılımları (zeta potansiyeli -ζ-)	28
Şekil 4.3 Homojenizasyon sonrası ya da öncesi ısıl işlem uygulanan süt örneklerinin <i>in vitro</i> gastrik sindirim sonrası	
a) Toplam (C ₂ -C _{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi	30
b) Kısa zincirli (C ₂ -C ₆) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi	31
c) Orta zincirli (C ₈ -C ₁₂) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi	31
d) Uzun zincirli (C ₁₄ -C _{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi	32
Şekil 4.4 Homojenizasyon öncesi ya da sonrası ısıl işlem uygulanan %65 yağlı krema örneklerinin <i>in vitro</i> gastrik sindirim sonrası	
a) Toplam serbest yağ asitleri (C ₂ -C _{18:1}) konsantrasyonu değişimi	33
b) Kısa zincirli serbest yağ asitleri (C ₂ -C ₆) konsantrasyonu değişimi	34
c) Orta zincirli serbest yağ asitleri (C ₈ -C ₁₂) konsantrasyonu değişimi	34
d) Uzun zincirli serbest yağ asitleri (C ₈ -C ₁₂) konsantrasyonu değişimi	35
Şekil 4.5 Homojenizasyon sonrası ısıl işlem gören %65 yağlı krema ile 80 °C'de 1 dk ısıl işlem gören yağsız süt karışımının <i>in vitro</i> gastrik sindirim sonrası	
a) toplam serbest yağ asitleri (C ₂ -C _{18:1}) konsantrasyonu değişimi.....	36
b) kısa zincirli serbest yağ asitleri (C ₂ -C ₆) konsantrasyonu değişimi.....	37
c) orta zincirli serbest yağ asitleri (C ₈ -C ₁₂) konsantrasyonu değişimi.....	37
d) uzun zincirli serbest yağ asitleri (C ₁₄ -C _{18:1}) konsantrasyonu değişimi.....	38
Şekil 4.6 Homojenizasyon sonrası ya da öncesi ısıl işlem uygulanan süt örneklerinin <i>in vitro</i> pankreatik sindirim sonrası	
a) toplam (C ₂ -C _{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi.....	39
b) kısa zincirli (C ₂ -C ₄) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi.....	40
c) orta zincirli (C ₈ -C ₁₂) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi.....	40

d) uzun zincirli (C ₁₄ -C _{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi...	41
Şekil 4.7 %65 yağlı homojenize krema örneklerinin <i>in vitro</i> pankreatik sindirim sonrası	
a) toplam serbest yağ asitleri(C ₂ -C _{18:1}) konsantrasyonu değişimi.....	43
b) kısa zincirli serbest yağ asitleri(C ₂ -C ₆) konsantrasyonu değişimi	44
c) orta zincirli serbest yağ asitleri(C ₈ -C ₁₂) konsantrasyonu değişimi	44
d) uzun zincirli serbest yağ asitleri(C ₁₄ -C _{18:1}) konsantrasyonu değişimi...	45
Şekil 4.8 Homojenizasyon sonrası ısıtma işlem gören %65 yağlı krema ile 80 °C’de 1 dk ısıtma işlem gören yağsız süt karışımının <i>in vitro</i> pankreatik sindirim sonrası	
a) toplam serbest yağ asitleri (C ₂ -C _{18:1}) konsantrasyonu değişimi.....	46
b) kısa zincirli serbest yağ asitleri (C ₂ -C ₆) konsantrasyonu değişimi	47
c) orta zincirli serbest yağ asitleri (C ₈ -C ₁₂) konsantrasyonu değişimi	47
d) uzun zincirli serbest yağ asitleri (C ₁₄ -C _{18:1}) konsantrasyonu değişimi...	48
Şekil 4.9 200 bar basınç altında homojenize edilmiş ve ısıtma işlem uygulanmış süt örneklerinin <i>in vitro</i> gastrik sindirim sonrası toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonu dağılımı.....	50
Şekil 4.10 200 bar basınç altında homojenize edilmiş ve ısıtma işlem uygulanmış süt örneklerinin <i>in vitro</i> pankreatik sindirim sonrası toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonu dağılımı.....	50
Şekil 4.11 Homojenizasyon sonrası ısıtma işlem uygulanan süt örneklerinin <i>in vitro</i> hücre emilim sonrası	
a) toplam (C ₂ -C _{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi	51
b) kısa zincirli (C ₂ -C ₆) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi.....	51
c) uzun zincirli (C ₁₄ -C _{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi..	52
Şekil 4.12 %35 TKM’li evapore süt (EV), %13 TKM’li rekonstitüye süt (RS) ve ticari UHT süt yağının <i>in vitro</i> gastrik ve pankreatik sindirim sonrası toplam serbest yağ asidi konsantrasyonları.....	53
Şekil 4.13 UHT ticari süt ve homojenize edilmemiş çiğ süt (ÇS) kremalarına örneklerinin sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.....	55
Şekil 4.14 150 bar basınç altında homojenize edilen süt örneklerinin sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.....	56

Şekil 4.15 200 bar basınç altında homojenize edilen süt örneklerinin sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.....	56
Şekil 4.16 %65 yağlı çiğ krema (ÇK ₆₅) örneklerinin sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.....	57
Şekil 4.17 150 bar basınç altında homojenize edilen %65 yağlı çiğ krema örneklerinin (ÇKH _{65/150}) sindirim ürünlerine ait elektrforetogram	58
Şekil 4.18 200 bar basınç altında homojenize edilen %65 yağlı çiğ krema örneklerinin (ÇKH _{65/200}) sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.....	59
Şekil 4.19 150 bar basınç altında homojenize edilen %65 yağlı pastörize krema örneklerinin (PKH _{65/150}) sindirim ürünlerine ait elektrforetogram	59
Şekil 4.20 200 bar basınç altında homojenize edilen %65 yağlı pastörize krema örneklerinin (PKH _{65/200}) sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.....	60
Şekil 4.21 Evapore (EV) ve Rekonstitüye (RS) sütlerin in vitro gastrik ve pankreatik sindirim ürünlerine ait elektroforetogram.....	61



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Ürün tanımları ve kodları.....	15
Çizelge 4.1 Deneme örneklerine ait ortalama partikül boyutu (nm) ve intensitesi.....	27



1. GİRİŞ

Enteral (ağızdan ve/veya gastrik ve/veya barsaktan) beslenme, özellikle ağızdan katı beslenme sorunu olan bireylerde ve/veya çeşitli nedenlerle yeterince besin alamayan ve ek besin katkısına ihtiyaç duyan hastalarda oral, gastrik veya enteral sıvı besin ürünlerinin uygulanmasıdır. Enteral beslenme ürünlerinin; başta yenidoğan ve infant beslenmesi olmak üzere, yetişkinlerin metabolik sorunlarının tedavisinde, cerrahi operasyon sonrası özel beslenme süreçlerinde, onkolojik hastalıklarda, pankreatik ve intestinal yetersizlikler gibi sindirim sistemi bozukluklarında ve nörolojik hastalıklarda, yaşlı beslenmelerinde gıda takviyesi olarak kullanımı çok yaygındır. Ülkemizde tıbbi endikasyonlu sıvı ve katı formdaki enteral beslenme ürünlerinin çok yaygın kullanımı olmasına rağmen tamamına yakını ithal edilmektedir.

Süt yağı; insan sütü ve devam sütü formülasyonlarının enerji içeriklerinin büyük bölümünü karşılamaktadır. Etkin bir süt yağı absorpsiyonu, sadece enerji gereksinimini karşılamak için değil aynı zamanda yenidoğanların optimal gelişimi için de önem taşımaktadır. Her ne kadar, yenidoğanlarda (prematüre veya normal doğum ağırlığına sahip bebeklerde) vücut ağırlığı başına yağ alımı yetişkinlere oranla çok daha yüksek olsa da yağın sindiriminde önemli role sahip insan pankreatik lipazı (Human Pancreatic Lipase; HPL) ve safra tuzları konsantrasyonu ile yağ absorpsiyon seviyesi yetişkinlerden daha düşüktür. Bu durum özellikle yağ malabsorpsiyonunun daha yaygın olduğu prematüre bebeklerde belirgindir. Benzer bir durum, pankreatik lipaz yetersizliğine ve/veya pankreatitis hastalığına sahip yetişkin bireyler için de geçerlidir. Dolayısıyla, başta prematüre bebekler olmak üzere infant beslenmesinde kullanılan devam sütlerinde ve yetişkinler için özel amaçlı süt bazlı diyet solüsyonlarında yağ sindirimi ve emilimini teşvik edecek teknolojik üretim stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Günümüze kadar, süt lipid sindirim mekanizmasının anlaşılmasına yönelik çok sayıda araştırma yapılmış ve birçok model önerilmiştir (Berton vd. 2012, Ye vd. 2016ab, Argov vd. 2008a). Buna karşın, kompleks gıda sistemlerinde (gerçek zamanlı gıda üretimlerinde) süt yağı emülsiyon yapısının optimizasyonuna bağlı bir sindirim etkinliği çalışması bilindiği kadarıyla bulunmamaktadır. Infant beslenmesine yönelik patent çalışmalarının ağırlıklı kısmı süt yağı ikameleri (bitkisel yağ vs. ile), esansiyel yağ asitlerinin, amino asitlerin ve/veya vitamin ve minerallerin değişik

formlarda süte ilavesi ve emülsifiyer katımı ile sınırlıdır (Hofman vd. 2010, Jandacek ve Volpenhein 1985). Süt yağının sindirimi ve metabolizmasında etkili faktörler moleküler düzeyde *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda ortaya konulmuştur (Berton vd. 2012). Ancak, bu bilgiler esas alınarak özellikle infant beslenmesinde kullanılan devam sütlerinin ve/veya yetişkinlerin beslenmesinde takviye edici süt bazlı özel sıvı ve toz formülasyonlarının üretim modellerinin modifikasyonuna yönelik bir bilgi bilginiz dahilinde literatürde yer almamaktadır.

Tez çalışması kapsamında infant beslenmesinde anne sütü ile beraber ve/veya anne sütü alımı kesildikten sonra sıklıkla yararlanılan devam sütü formülasyonları ile yetişkinlerin beslenmesinde süt bazlı özel diyet amaçlı takviye edici sıvı ve/veya toz formülasyonların üretiminde kullanılan sütlerin yağlarının sindirim etkinliği üzerine homojenizasyon ve ısıl işlem gibi teknolojik uygulamaların etkileri araştırılmış ve elde edilen bulgular doğrultusunda seçilen teknolojik üretim parametreleri kullanılarak evapore konsantre süt ve instant yağlı süttözü üretimleri gerçekleştirilmiştir.

Süt yağının, homojenizasyon ve ardından ısıl işleme tabi tutulması durumunda boyut küçülmesine uğrayan lipidlerin etrafı süt proteinleri (özellikle kazeinler) ile kısmen ya da bütünüyle kaplanmaktadır. Proteinlerin lipid damlacıkları üzerine adsorpsiyonu ve/veya lipid-protein interaksyonu temeline dayalı bu yapının insan pankreatik lipazı (Human Pancreatic Lipase-HPL)'nin lipid üzerindeki etkinliğini sınırladığı düşünülmektedir. Dolayısıyla, tez çalışması kapsamında lipid sindirim etkinliği artırılmış süt bazlı bir beslenme solüsyonunun geliştirilmesinin ilk aşaması olarak ısıl işlem-hojenizasyon uygulama koşullarının lipid sindirimi ve emilimi üzerine etkilerinin belirlenmesi planlanmıştır. Tez çalışması; homojenize yağ globül boyutundaki azalma ile birlikte oluşan protein-lipid kompleksinin yağ sindirim ve emilim etkinliğini değiştireceği hipotezini test etmeyi amaçlamıştır.

Tez çalışması iki aşamalı olarak planlanmıştır. Birinci aşamada, süt ve kremanın gastrik ve pankreatik sindirim etkinlikleri ile hücre emilim düzeyleri üzerine homojenizasyon basıncı ve homojenizasyonun ısıl işlemden önce ya da sonra uygulanmasının etkileri değerlendirilmiştir. Ayrıca; süt proteinlerinin süt yağının sindirim ve emilim düzeyleri üzerine olası etkilerinin belirlenmesi amacıyla %65 yağlı krema aynı basınç koşulları altında homojenize edilmiş ve 80 °C'de 1 dk ısıl işleme tabi tutulmuştur. Homojenize

edilen ve ısıtıl işlem uygulanan krema örnekleri tek başlarına ve ayrı olarak 80 °C'de 1 dk ısıtıl işlem görmüş yağsız süt fazı ile karıştırılarak sindirim testine tabi tutulmuştur.

İkinci aşamada ise 200 bar basınç altında homojenize edilmiş yağlı evapore konsantre süt ile yağlı rekonstitüye instant süttozunda lipid sindirim ve emilim etkinlikleri *in vitro* koşullarda değerlendirilmiş ve evaporasyon ve sprey kurutma işlemleri sırasında sindirim etkinliği kaybı olup olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, *in vitro* gastrik sindirim pH'sının lipid sindirim ve emilim düzeylerine olası etkileri de tez kapsamında araştırılmıştır.



2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Enteral Beslenme

Hastanede tedavi gören hastaların %20-40'ı elektrolit ve glukoz/amino asit/lipid içeren sıvı-katı formülasyonlarının yanı sıra beslenme takviyesine de ihtiyaç duymaktadır. Beslenme sorunu olan hastalarda temel besin gereksinimlerini karşılamak amacıyla öncelikle enteral ve parenteral beslenme ürünleri kullanılmaktadır. Enteral beslenme- özellikle ağızdan konsantre beslenme solüsyonları aracılığı ile- toplumda ve hastanelerde tıbbi amaçlı en sık kullanılan beslenme türüdür. Parenteral beslenme ise beslenme solüsyonlarının damar yoluyla alımı şeklinde gerçekleşmektedir. Parenteral beslenme ürünlerinin uzun dönem kullanımının çok sıkıntılı olması, sıklıkla yan etkilerinin görülmesi ve enteral beslenmenin daha fizyolojik olması nedeniyle öncelikle ağızdan veya entero/gastrik uygulamalarla enteral beslenme ürünleri tercih edilmektedir. Enteral beslenme ürünlerinin başta yenidoğan ve infant beslenmesi olmak üzere, yetişkinlerde metabolik sorunların tedavisinde, cerrahi süresince, onkolojik hastalıklarda, pankreatik ve intestinal yetersizlikler gibi sindirim sistemi bozukluklarında ve nörolojik hastalıklarda destekleyici olarak kullanımı çok yaygındır. Bebek ve yaşlı beslenmesinde enerji ve protein içeriği değiştirilmiş ürünler ve mevcut hastalığa göre özel düzenlenmiş formülasyonlar sıklıkla beslenme takviyesi ve/veya tıbbi endikasyonla kullanılmaktadır (Malone 2005). Bunun yanı sıra, hastalara enteral beslenme ürünleri ile beraber enteral beslenme ürününün etkinliğini arttırabilmek ve pankreas hastalıkları, safra kesesi ve safra yolu hastalıkları, karaciğer hastalıkları gibi bazı durumlarda pankreas uyarımını azaltabilmek için başta lipaz olmak üzere pankreatik enzim takviyesi kullanımı da çoğu durumda zorunlu hale gelmiştir. Preterm (prematüre doğan) infantlar, kanser hastaları, cerrahi hastalar, nörolojik hastalar, gastrointestinal (GIS) gelişim defektlerinde (yetersizliklerinde) hastanın enerji ihtiyacının lipidler aracılığı ile karşılanmasının önemli olduğu vurgulanmaktadır (Salama vd. 2005). Term (normal doğan) ve preterm infant enteral ve standart ağızdan beslenme formülasyonlarının enerji kaynağının % 40-50'ye yakın kısmının lipidlerden elde edildiği görülmektedir (Manson ve Weaver 1997). Bu durum, enteral beslenme ürünlerinin lipid içeriğinin sindirim/emilim düzenlenmesinin ve etkinliğinin arttırılmasının önemini ortaya koymaktadır. Mevcut özel amaçlı beslenme

formülasyonlarının bir bölümünün pankreatik enzim takviyesi ile beraber kullanımı söz konusudur. Bu durum; ek enzim preparatlarının kullanımı nedeniyle tedavi maliyet artışını tetiklemektedir.

Ülkemizde tıbbi endikasyonlu sıvı ve katı formdaki enteral beslenme ürünlerinin çok yaygın kullanımı olmasına rağmen tamamına yakını ithal edilmektedir. Türkiye’de sağlık harcamaları ve ilaç pazarı büyüklüğü hızla artmaktadır. Ernst ve Young (2011) araştırmasına göre 2010 yılında ilaç harcamaları yaklaşık 14.8 milyar TL’ye ulaşmıştır ve tüm dünyada olduğu gibi destekleyici beslenme ve metabolizma ürünleri bu rakamın yaklaşık %14’ünü oluşturmaktadır. 2010 yılı verilerine göre ülkemizde ağırlıklı kısmı ithal olmak üzere bebek mama formülasyonları için yaklaşık 40 milyon ABD Doları, yetişkin mama formülasyonları için ise yaklaşık 57 milyon ABD Doları karşılığı harcama yapılmıştır. Bu rakamlara reçetesiz satılan mama ve takviye besinler ile metabolik enzim giderleri dahil değildir. Konu ile ilgili ulaşılabilir en yeni istatistiki veri 2010 yılına ait olup beslenme ve metabolizma ürünlerinin küresel ölçekte genel değişim eğilimi dikkate alındığında güncel değerlerin daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

2.2 Süt Yağı

Normal bir diyetle toplam kalorinin yer alması önerilen lipid miktarı yıldan yıla değişmektedir. Bu tanımlama total lipid miktarından daha çok lipid içeriği ve bunlara yönelik sınırlamalar şeklinde tanımlanmaya başlanmıştır. Nitekim 2010 yılında %25-30’unun lipidler tarafından sağlanması önerilmekte iken 2015 yılında alınan yağ içeriğinin sature yağların azaltılması ve poli ve monounsature yağlara yönelmesi şeklinde değişmiştir (American Heart Association 2019). Esansiyel yağ asitleri ve yağda eriyen vitaminler gibi belirli lipid ve lipid fraksiyonları sağlık için gerekli bileşenler grubundadır. Bununla birlikte; bazı diyet lipidlerin (kolesterol, doymuş yağlar, trans-yağlar vb.) fazla tüketimi durumunda sağlık üzerinde olumsuz etkileri de bulunabilmektedir (Nettleton vd. 2017, Simopoulos 1999).

Lipidler kimyasal olarak heterojen bir gruptur ve trigliseridler (TG) lipidlerin ana fraksiyonu konumundadır. Lipid yapısında TG dışında digliseridler (DG), monogliseridler (MG) ve fosfolipidler (PL) de yer almaktadır. Tipik bir TG üç farklı

fiziksel durumda bulunur: kristal, bulk ve ara yüzey (interface). Genel olarak; lipidler vücut sıcaklığında (~37 °C) likit formda yer alırken gıda emülsiyonlarında kısmen ya da tamamen kristal yapıda bulunmaktadır (Olbrich vd. 2002, Ribeiro vd. 2015). Lipidlerin kompozisyonu, yapısal organizasyonu ve fiziksel durumu lipid sindirimini etkileyen temel etmenler arasında yer almaktadır (Zuniga ve Troncoso 2012). Lipidlerin, sulu çözeltilerde farklı şekillerde kendi içlerinde bir araya gelebilme (self-assembly) özelliği bulunmaktadır (Zuniga ve Troncoso 2012). Bu mezo-faz yapılar mono-tabaka, misel, ters misel, çift tabaka ve hegzagonal fazları içerebilmektedir (Zuniga ve Troncoso 2012). Lipidlerin sulu sistemlerdeki davranışları lipid polaritesi, uzunluğu ve açılmiş yağ asitleri ile çift bağ varlığı gibi parametrelerden etkilenmektedir (Ulrich 2002). Lipidler sütte yağ globülü olarak adlandırılan emülsiyonlar halinde sentezlenmektedir ve hem enerji sağlayan hem de biyoaktif molekülleri (esansiyel yağ asitleri, yağda-çözünür bileşenler vb..) GIS'a taşıyan araçlar olarak tanımlanmaktadır (Lopez 2011). Özellikle, lipozom olarak da adlandırılan çift tabaka yapıları (bilayer) fonksiyonel bileşenleri bağlama ve ilaç/etken madde taşıyıcı özellikleri nedeniyle son yıllarda araştırmalara konu olmaktadır (Zuniga ve Troncoso, 2012).

Diyet lipidlerin biyoyararışlılık düzeyi insan beslenmesi açısından önem taşımaktadır. Lipidler günlük diyetimizin temel kalori kaynakları arasında yer almaktadır (9 kcal/g). Bununla birlikte; lipid alımı kardiyovasküler rahatsızlıklar ve obezite başta olmak üzere sağlık problemleri ile de ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, diyetlerle alınan lipidlerin gastrointestinal sistemdeki sindirim/emilim mekanizmasının anlaşılması önem taşımaktadır. Genel olarak; küçük boyutlu ve TG içermeyen lipid partiküllerinin sağlık üzerine olumlu etkileri olduğu ileri sürülmektedir (Argov vd. 2008a). Bu nedenle; yağ globüllerinin boyut dağılımı ve iç organizasyonu (self-assembly) fonksiyonel kapasite açısından belirleyici etmenler olarak kabul edilmektedir (Argov vd. 2008b).

2.3 Süt Yağının Sindirim Mekanizması

Yağ içeren gıdaların kompozisyonu, yapısı ve özellikleri sindirim sırasında değişime uğramaktadır. Lipidlerin sindirim sırası/sonrası bolustaki yapısı ve özellikleri, o lipidin gıda matrisi içerisindeki kompozisyonu ve fiziksel pozisyonu ile yakından ilişkilidir. Bununla birlikte; lipidlerin gıda içerisindeki pozisyonu ne olursa olsun, sindirim sonrası emülsiyon halini almaktadır (Lundin vd. 2008). Özellikle, yağların ara yüzey özellikleri

lipid sindirimini etkileyen en önemli faktörler arasındadır ve bu ara yüzey yapıları lipid damlacıklarının boyutu, yapısı ve bu damlacıkları oluşturan TG'lerin moleküler yapısı ile ilişkilidir (Armand vd., 1999). Bunun yanında; sindirim süresi ve gıdanın ağızda çiğnenme intensitesi de sindirim etkinliği üzerinde belirleyici faktörlerdir (Zuniga ve Troncoso 2012).

Özellikle süt ve süt ürünlerinin sindirim sürecinin farklı yaş ve koşullara göre değerlendirilmesi, kullanıcının fizyolojik yaş ve patolojik durumunun varyansı nedeniyle farklı deneysel modellerde gerçekleştirilerek değerlendirilmelidir. Hatta bu sindirim süreci farklı gıda matrislerinde de farklılık gösterebilmektedir (Sams vd. 2016, Calvo-Lerma vd. 2018, Brodkorb vd. 2019).

Yetişkin bireylerde diyet lipidlerin sindirimi ağızda lingual lipaz (LL) tarafından gerçekleştirilen kısmi hidrolizasyon ile başlamaktadır. Emülsifiye yağlar gıda içerisinde yer alabildiği gibi ağızda sindirim sürecinde oluşan parçalanma ve proteinler ile interaksiyon sonunda da emülsifikasyon oluşabilir (Hernell vd. 1990). Ağızda sindirim sırasında yağların fiziko-kimyasal ve yapısal değişimleri konusunda sınırlı bir bilgi birikimi mevcuttur (Malone vd. 2003, Vingerhoeds vd. 2005).

Bir gıda ağızda ilk sindirime tabi tutulduktan sonra hızla ösefagustan geçerek mideye ulaşır ve midede gastrik enzimler, mineraller ve değişik yüzey aktif bileşenleri barındıran asidik sindirim sıvısı ile karışır. Bu sırada; gıda, mide hareketinin yarattığı mekanik etkiye maruz kalır. Mideden protein ve lipid sindirimine etki eden farklı enzim, iyon ve moleküller salınmaktadır. Bu enzimlerin aktiviteleri, mide sindirimin koşulları farklı yaş ve dönemlerdeki fizyolojik ve patolojik koşullarda farklılaşabilmektedir. O nedenle klasik bilgilerde yer alan sabit sayı ve verilerin yerini mevcut durumu tarif eden geniş aralıklı ve sapmalı veriler almıştır.

Lipidlerin gastrik sindirim sırasında gıda matrisi tamamen parçalanmakta, lipid kürecikleri (damlacıkları) ayrılmakta ve lipid fazın yüzeyine yüzey aktif maddelerin (protein vb..) adsorbsiyonu/desorbsiyonu nedeniyle lipidlerin arayüzey kompozisyonu değişmektedir. Invazif olmayan Magnetik Resonans Imaging (non-invasive MRI) insan çalışmaları asidik gastrik ortamda emülsiyon stabilitesinin emülsifiyer ajan modifikasyonları aracılığı ile değiştirilebildiğini göstermiştir (Marcioni vd. 2004).

Emülsifiye TG'nin DG, MG ve serbest yağ asitlerine etkin bir şekilde hidrolize olabilmesi için gastrik lipazın (Human Gastric Lipase; HGL) yağ küreciklerinin yüzeyine ulaşabilmesi zorunludur. Genel olarak; yağ asitlerinin türüne bağlı olarak özellikle yenidoğan döneminde % 5-40'u gastrik sindirim evresinde serbest forma geçebileceğine dair yayınlar mevcuttur. HGL; pH 2-7 arasında aktif olabilmektedir, optimum çalışma Ph 4-5.5 arasında değişmektedir. HGL; pankreas ve safra tuzlarının sindirime hazırlanmasını sağlayabilmek için mideden duodenuma geçişi de yavaşlatmaktadır. Sütün memelilerde temel besin olması nedeniyle sütün sindirimi de yenidoğan ve bebeklerde maksimum sindirilebilirliğe göre doğal olarak tasarlanmıştır. HGL ve diğer pankreatik lipaz ve ilişkili proteinlerin sütün sindirimine katılımı yenidoğan ve erken bebeklik döneminde daha belirginken yaşla beraber azalmaktadır. HGL; çoğu medikal kaynakta yetişkin sindiriminde katılımın çok az olması nedeniyle fizyolojik koşullarda gözardı edildiği durumlar olmakta, pankreatik yetersizlik, cerrahi süreç gibi pankreatik sindirimin yetersiz olduğu durumlarda lingual lipaz ile beraber etkinliğini arttırmaya yönelik durumlar olabilmektedir (Armand et al. 1996; Armand 2007; Phan and Tso 2001, Sams et al. 2016, Amara et al 2019).

Gastrik sindirim sonrası kimus içerisindeki emülsifiye lipidler mideden duodenuma geçer. Kısmi olarak hidrolize olmuş lipidler duodenumda sodyum bikarbonat, safra tuzları (BSs), PL ve enzimler ile karışır. Ekzokrin pankreas sekresyonu; mideden gelen kimusun ileri sindirimini arttırmak ve kolaylaştırmak, ayrıca mideden asidik gelen sıvıdan sindirim kanalını koruma fonksiyonu içerir. Pankreatik salgı içeriği pH 8 civarındadır ve plazma ile izotoniktir. Salgı içerisinde tüm besin öğelerinin sindirimi için gerekli hem öncül (pro- form) hem de aktif enzimler bulunur. Nötralizasyon HCO_3^- ile gerçekleşir ve salgı içindeki HCO_3^- konsantrasyonu, plazma konsantrasyonunun yaklaşık 5 katıdır. Yüksek proteolitik, lipolitik ve amilaz aktivitesine sahip olan pankreas salgısı insan vücudunda endojen inhibitör sistemleri ile inaktive edilerek doku hasarı engellenir. (Yazihan ve Akcil 2016; Bauer vd. 2005).

BSs ve PL yüzey aktif maddelerdir ve yağ küreciklerinin yüzeyine adsorbe olarak lipid emülsifikasyonunu kolaylaştırmaktadır (Porter vd. 2007, Hernell vd. 1990, Singh vd. 2009). BSs ve pankreatik sıvının ortak etkisi ile luminal lipid emülsiyonunun fizikokimyasal formunda değişimler meydana gelmektedir. Bu sırada kimus ince

bağırsakta fiziksel bir çalkalanmaya maruz kalır ve emulsifikasyon kapasitesi artar. Lipid hidrolizasyonu ince bağırsak boyunca pankreastan gelen HPL aktivitesi ile devam eder (Armand 2007). Sindirim sırasında, katalitik etkinin başlayabilmesi için HPL'nin TG-su arayüzeyine adsorbsiyonu kritik öneme sahiptir. Arayüzeyin biyokimyasal kompozisyonu ve fiziksel yapılanması (quality of interface) lipazın arayüze adsorbsiyonunu ve dolayısıyla lipid sindirimini etkileyen temel faktörlerdir (Berton vd. 2012). Yapay emülsiyon kullanılarak gerçekleştirilen *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar sonucunda yağ globüllerinin boyutu, TG'nin fiziko-kimyasal özellikleri ve arayüzey kompozisyonu ve organizasyonu gibi karakteristiklerin diyet lipidlerin GIS'ta sindirimini kontrol ettiği ortaya konulmuştur (Brockman 2000, Golding ve Woster 2010, Mun vd. 2007, Singh vd. 2009). Homojenize süt lipidlerinin sindirim mekanizmasında safra tuzları ve kolipaz (colipase) kritik rollere sahiptir. Safra tuzları homojenizasyon sonucunda oluşan yeni TG-su arayüzeyini kaplamakta ve TG-su arayüzeyine adsorbe olan moleküller ile (proteinler, polar lipidler) yer değiştirme reaksiyonuna girmektedir (Berton vd. 2012). Kolipaz hem HPL'nin C-terminal domainine hem de safra tuzlarına bağlanarak kompleks oluşturmakta ve bu mekanizma üzerinden safra tuzları ile kaplı globül yüzeyine HPL'nin bağlanmasını kolaylaştırıcı rol oynamaktadır. HPL/kolipaz kompleksinin etkin bir şekilde lipid küreciklerinin yüzeyine bağlanabilmesi için lipid küreciklerinin yüzeyinde bağlı bulunan herhangi bir aktif bileşenin ortamdaki uzaklaşması gerekmektedir (Jurado vd. 2006). Son 30 yıldır yapay emülsiyonlar üzerine çok sayıda çalışma gerçekleştirilmesine karşın gıda (takviye edici gıdalar dahil) gibi kompleks sistemlerde yer alan diyet lipidlerin sindirim mekanizmaları henüz net olarak anlaşılamamıştır. Özellikle, süt lipidlerinin sindirim mekanizmasının yağ globül boyutu ve arayüzey kompozisyonu temelinde değerlendirilmesi süt ürünlerinin yetişkinler üzerindeki sağlık etkilerinin optimizasyonunun yanı sıra yenidoğan gelişimi açısından da önem taşımaktadır. Süt yağının yapısı lipoliz yanında absorpsiyon ve postprandial lipaemia'yı etkileyebilmektedir (Michalski 2009).

Lipid sindirimi, ince bağırsakta desorpsiyon ve çözünmeyen lipidlerin emilebilir (absorbe edilebilir) formda dispersiyonu ile devam eder. Sindirilen lipidler (ağırlıklı olarak serbest yağ asitleri) ince barsak lümeninde safra tuzları varlığında iki farklı nanopartikül formunda çözünür. Bu nanopartiküller, safra tuzu miselleri ve yapraksı

kürecikler (unilamellar vesicles) yapısındadır. Bu yapılar ince barsağın yüzeyinde yer alan enterositlerin fırça yapılı (brush border) membranları aracılığı ile absorbe edilir (Germen ve Dillard 2006).

2.4 Süt İşleme Teknolojisi ve Süt Yağı Sindirimine Olası Etkileri

Geleneksel beslenme yaklaşımında süt temel besin elementlerini karşılayan bir araç olarak görülürken, günümüze artık sağlık üzerinde pozitif etkiler yaratan bileşenleri de içeren çok-fazlı ve çok-bileşenli dinamik bir biyomateryal olarak değerlendirilmektedir. Bu yapı sindirim ve emilim sırasında dinamik bir değişime uğramakta ve bu değişim etkinliği büyük ölçüde süte uygulanan prosesler ile belirlenmektedir. Çiğ süt insan tüketimi için elverişli hale getirilmeden önce birçok teknolojik işlem basamağından geçmektedir (Michalski ve Januel, 2006). Özellikle, içme sütleri (pastörize ve UHT) ve yoğurt gibi süt ürünlerinin üretiminde hem teknolojik gerekçeler ile (örneğin; yoğurt oluşumunda jelasyonun tamamlanabilmesi için) hem de gıda güvenliğinin sağlanabilmesi için (örneğin; patojenlerin imhası) ısı işlem uygulaması zorunlu bir teknolojik işlem basamağıdır. Sütün 70 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ısıtılması sonucunda serum proteinlerinde yapısal değişimler meydana gelmektedir (Parris vd. 1991). Serum proteinlerinin sekonder ve tersiyer yapılarını stabilize eden interaksiyon kuvvetleri (hidrojen bağları, hidrofobik bağlar, van der Waals bağları vb.) ısı etkisi ile zayıflamakta ve globüler yapı doğal niteliğini kaybederek denatüre olmaktadır (Qian vd. 2017). Proteinlerin ısı denatürasyonunun düzeyi tamamen sıcaklık ve süreye bağlıdır. Isıl işlem etkisi ile hem globüler serum proteinleri kendi aralarında [özellikle α -laktalbumin (α -LA) ile β -laktoglobulin (β -LG) arasında] hem de β -LG ile κ -kazein (κ -CN) arasında tiyol-disülfid aradeğişim reaksiyonları temeline dayalı interaksiyonlar meydana gelmektedir (Özer 2001, Özer vd. 2002). Isı uygulaması sırasında yalnızca serum proteinlerinin kendi aralarında ve/veya kazeinler ile interaksiyon meydana gelmemektedir. Aynı zamanda serum proteinleri ile fosfolipidler (Kristensen vd. 1997, Diaz de Villegas vd. 1987, Papiz vd. 1986), askorbik asit (Puyol vd. 1994) ve lipidler (Brown 1984) arasında da fiziksel bağlantılar oluşmaktadır. Bu interaksiyonlar içerisinde özellikle kazein/serum proteini kompleksi-lipid yüzey proteinleri interaksiyonları süt yağının enzimatik hidrolizasyon oranını ve dolayısıyla da beslenme

fizyolojisini etkilemektedir. Ayrıca; κ -CN, yağ globül membran yüzeyine adsorbe olduğundan triaçilgliserol kaybı gözlenmekte ve yağ içeriğinde kısmen azalma meydana gelebilmektedir (Houlihan vd. 1992, Singh 1993, van Boekel ve Walstra 1995).

Süt yağının yoğunluğu (0.931 g/ml, 20 °C’de) yağsız süt fazının yoğunluğundan (1.033-1.036 g/ml, 20 °C’de) daha düşük olduğundan, zaman içerisinde yağ globüllerinin sütün yüzeyinde birikmesi söz konusu olmaktadır (Metin 1999). Bu durum özellikle içme sütlerinin duysal özelliklerini olumsuz etkileyen bir fiziko-kimyasal olay olarak değerlendirilmektedir. Süt yağının sütün yüzeyinde birikmesini engellemek amacıyla içme sütlerine ve sıvı formdaki yağlı süt bazlı ürünlere homojenizasyon işlemi uygulanmaktadır. Homojenizasyon işlemi, mekanik etki altında süt yağ globüllerinin boyutlarının azaltılması prensibine dayanmaktadır. Homojenizasyon sütün kompozisyonuna etki etmezken, sütün yapısı ve biyoaktif özellikleri üzerinde etkili bir teknolojik işlemdir (Michalski vd. 2006). Süt yağ globüllerinin boyutu mevsim, beslenme, laktasyon dönemi, yaş ve ırk gibi çevresel etmenlerden etkilenmekle birlikte 0.2-15 μ m arasında değişmektedir ve ortalama globül çapı 3-4 μ m’dir (Michalski vd. 2002a). Süt yağı çok sayıda nötral ve polar lipid (gliserofosfolipid ve sfingolipid) içermektedir ve sıvı fazda yağ globül emülsiyonu olarak yer almaktadır. Yağ globülleri yapısında fosfolipid, protein, enzim, kolesterol, glikoprotein vitamin ve diğer polar lipidleri (gliserofosfolipid, sfingolipid vb.) içeren doğal bir biyolojik membran (**Milk Fat Globule Membrane; MFGM**) ile kaplıdır (Fong vd. 2007, Keenan ve Patton 1995, Michalski 2009). Homojenizasyon işlemi sonucunda yağ globüllerinin boyutu <1 μ m’ye kadar düşmekte ve globüllerin bir araya gelerek kümelenme yetenekleri zayıflamaktadır (Wilbey 1992). Homojenizasyon ile birlikte sütte bazı fiziko-kimyasal değişimler meydana gelmektedir. Özellikle, yağ globül boyutunda meydana gelen azalmaya paralel olarak yağ/serum ara yüzeyinin boyutu artmaktadır ve oluşan yeni ve çok sayıda küçük yağ globüllerinin etrafı MFGM ile bütünüyle kaplanmamaktadır (Fox ve Mc Sweeney 1998). Ayrıca, boyutları küçülen yağ globüllerinin dış yüzeyinde yer alan membran zarı parçalanmakta ve diğer yüzey aktif bileşenler (başta kazeinler) yeni oluşan yağ damlacıklarının etrafına adsorbe olarak yeni bir membran tabakası meydana getirmektedir. Cano-Ruiz ve Richter (1997) Homojenizasyon sonrası toplam MFGM’nin yalnızca %10’luk kısmının orijinal MFGM materyali ile kaplandığını

bildirmiştir. Sindirim sırasında açığa çıkan bazı MFGM bileşenleri ve metabolitleri potansiyel fonksiyonel bileşenler olarak tanımlanmaktadır (Spitsberg 2005). Eğer süt önce homojenize edilip ardından ısıtma işlemi uygulanırsa yağ globülünün etrafına adsorbe olan proteinler ağırlıklı olarak α -kazein (α -CN) ve κ -CN'den oluşmaktadır (Zahar ve Smith 1996). Çoğu infant gıda formülasyonlarında olduğu gibi homojenizasyon pastörizasyondan sonra gerçekleştirilirse serum proteinleri adsorbe olan proteinlerin yaklaşık %5'lik kısmını, kaplanan yüzey alanının ise yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır (Sharma ve Dalgleish 1994).

Homojenizasyonun ısıtma işlemi öncesi (1) ve sonrası (2) uygulanması durumunda meydana gelen değişimler;

(1) Denatüre serum proteinleri doğal MFGM proteinleri ve misel formundaki kazeinler ile (özellikle κ -CN ile) interaksiyona girebilir; kazein-serum proteini kompleksi lipid damlacıklarının arayüzeyine adsorbe olur,

(2) Kısmen bozulmadan kalan (semi-intact) kazein miselleri ve misel fragmentleri yağ damlacığının ara yüzeyini kaplar; denatüre serum proteinleri doğal MFGM proteinlerine ve disülfid köprüleri üzerinden kovalent bağlantı aracılığı ile kazeinlere bağlanır (Michalski ve Januel 2006).

Homojenize sütün sindirimi sırasında kazein ve yağ damlacıklarının midede eş-zamanlı koagülasyonu gözlenmektedir. Bu reaksiyon homojenize edilmemiş sütün sindirimi sırasında oluşan reaksiyondan farklılık göstermektedir. Bunun nedeni; homojenize sütte koagüle olan materyalin son derece ince yapılı olması ve kazein ile kaplanan lipid damlacıklarının gastrik pıhtıda yer alan kazein matriksi ile interaksiyona girme eğilimine sahip olmasıdır (Ye vd. 2016a). İnsanlarda küçük yağ globüllerinin daha kolay lipolize uğramasına karşın daha yavaş metabolize olması gastrik pıhtı yapısı nedeniyle gastrik boşalım süresinin uzaması ile ilişkilendirilmektedir. Homojenize edilmiş sütlerin sindirimi sırasında proteinlerin ince bağırsağa (small intestine) transferinin daha kolay gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu noktada; yağ globül

boyutunun homojenizasyon işlemi ile küçültülmesi sindirim etkinliği açısından önemli ancak yeterli değildir. Daha önemlisi, homojenizasyon sırasında oluşan küçük yağ globüllerinin arayüzey yapılanmasıdır. Bu arayüzeyin büyük ölçüde yüzey aktif maddelerce kaplanması durumunda HPL'nin kolipaz-safra tuzları kompleksi aracılığı ile arayüzeye adsorbsiyonunun güçleştiği ve sindirim etkinliğinin azalabildiği ileri sürülmektedir (Ye vd. 2016b). Kısaca, küçük yağ globüllerinin daha kolay sindirilebildiği öngörüsü büyük ölçüde homojenizasyon koşullarına ve arayüzey karakteristiklerine bağımlılık göstermektedir. Bu nedenle, özellikle bebek maması ve yetişkinler için özel beslenme amaçlı süt bazlı diyet formülasyonlarında yağ globüllerinin boyutunu küçültmek amacıyla homojenizasyon uygulanırken TG-su arayüzey yapılanmasını HPL'nin yüksek düzeyde aktivite gösterebilmesine olanak verecek şekilde modifiye etmek ya da bu amaca yönelik teknolojik stratejiler geliştirmek önem taşımaktadır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

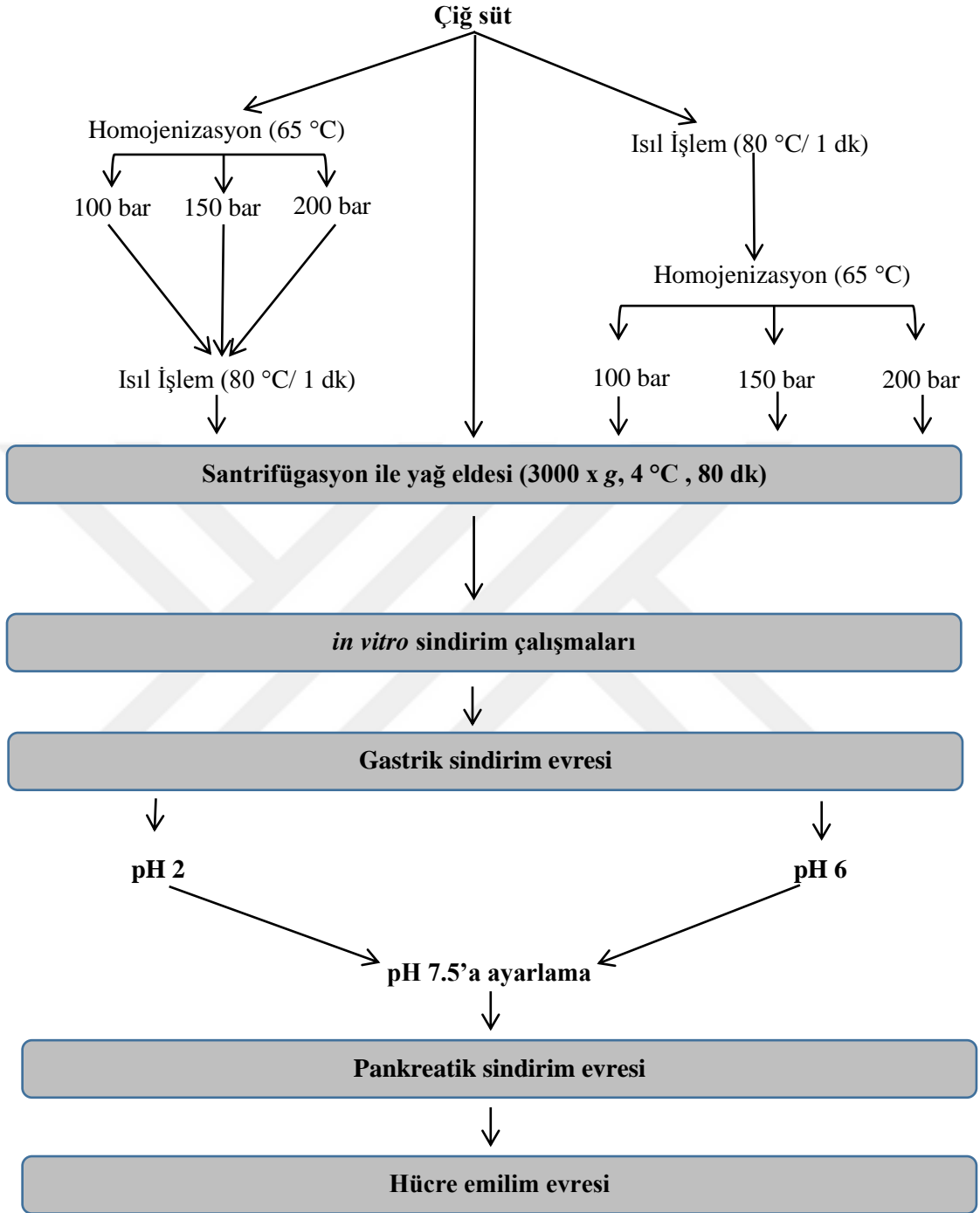
3.1 Örnek Hazırlama

Denemelerde kullanılan taze sağım çiğ inek sütü Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Döner Sermaye Süt İşletmesi'nden, %65 yağlı taze krema ise Atatürk Orman Çiftliği Süt İşletmesi'nden sağlanmıştır. Çiğ inek sütlerinin bileşim analizleri ile serbest yağ asitleri tayinleri Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölüm laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Sindirim etkinliği çalışmaları Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyopatoloji Bilim Dalı laboratuvarlarında yürütülmüştür. Homojenizasyon, ısıtma işlemi ve evaporasyon uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Döner Sermaye Süt İşletmesi, sprey kurutma uygulamaları ise ENKA Süt İşletmesi (Konya) altyapıları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıştırılan süt yağlarının partikül boyutu ve yüzey yüklerinin ölçümü ise Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Teknolojileri Bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Örnek kodları **çizelge 3.1**'de sunulmuştur. Çalışma **şekil 3.1 ve 3.2**'de gösterilen deneme planına göre yürütülmüştür.

Çizelge 3.1 Ürün tanımları ve kodları

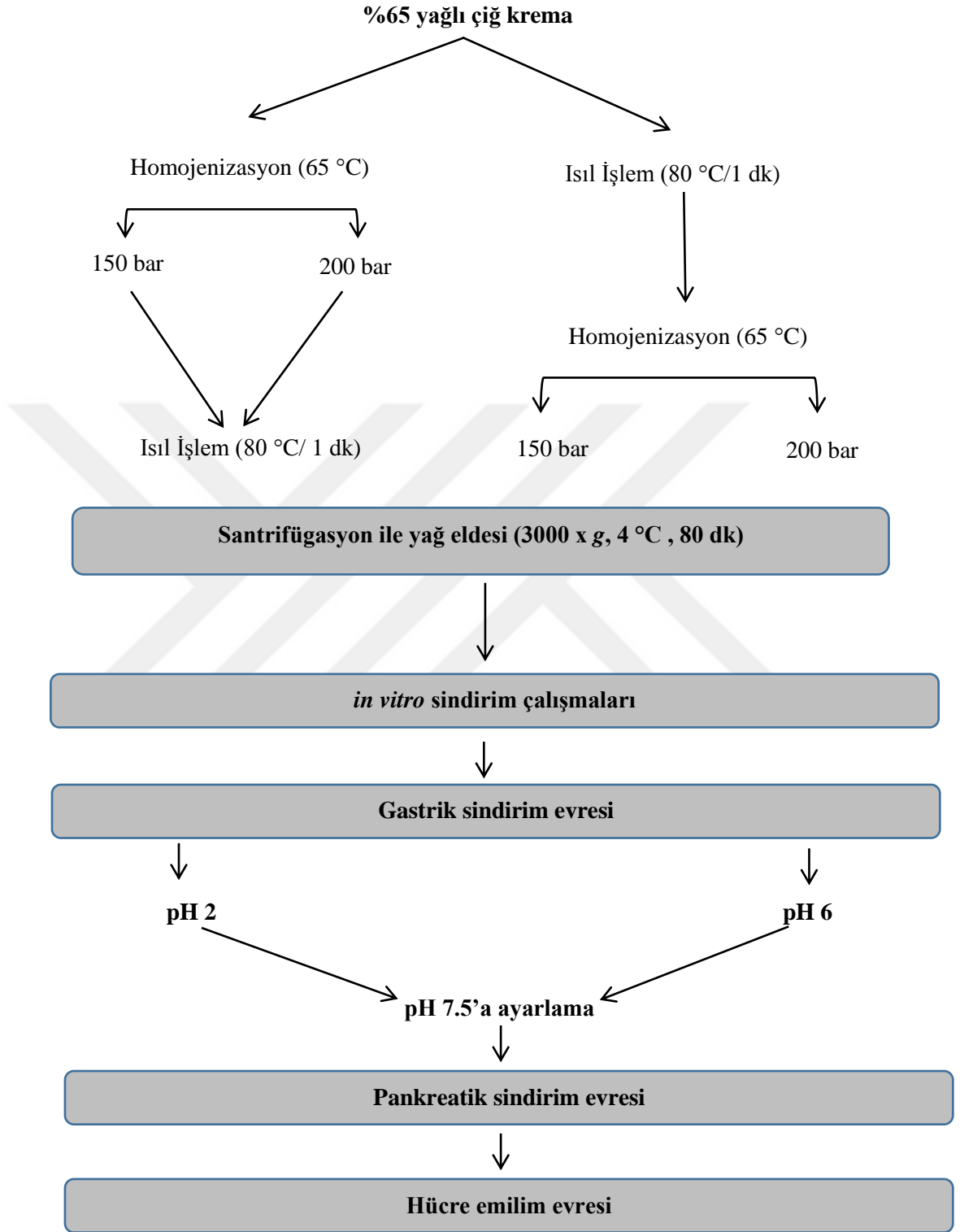
Ürün	Kod	Isıl işlem	Homojenizasyon
Çiğ süt	ÇS	Yok	Yok
Pastörize süt	PS	Yok	Yok
UHT süt	UHT	Önce	Sonra
Çiğ süt (150 bar)	ÇSH ₁₅₀	Sonra	Önce
Çiğ süt (200 bar)	ÇSH ₂₀₀	Sonra	Önce
Pastörize süt (150 bar)	PSH ₁₅₀	Önce	Sonra
Pastörize süt (200 bar)	PSH ₂₀₀	Önce	Sonra
%65 yağlı krema	ÇK ₆₅	Yok	Yok
%65 yağlı çiğ krema (150 bar)	ÇKH _{65/150}	Sonra	Önce
%65 yağlı çiğ krema (200 bar)	ÇKH _{65/200}	Sonra	Önce
%65 yağlı pastörize krema (150 bar)	PKH _{65/150}	Önce	Sonra
%65 yağlı pastörize krema (200 bar)	PKH _{65/200}	Önce	Sonra
%65 yağlı pastörize krema (150 bar) ve pastörize süt karışımı	PKH _{65/150} + PS	%65 yağlı krema 150 veya 200 bar basınçta homojenize edildikten sonra ısıl işleme tabi tutulup pastörize yağsız süt ile karıştırılmıştır	
%65 yağlı pastörize krema (200 bar) ve pastörize süt karışımı	PKH _{65/200} + PS		

Deneme I



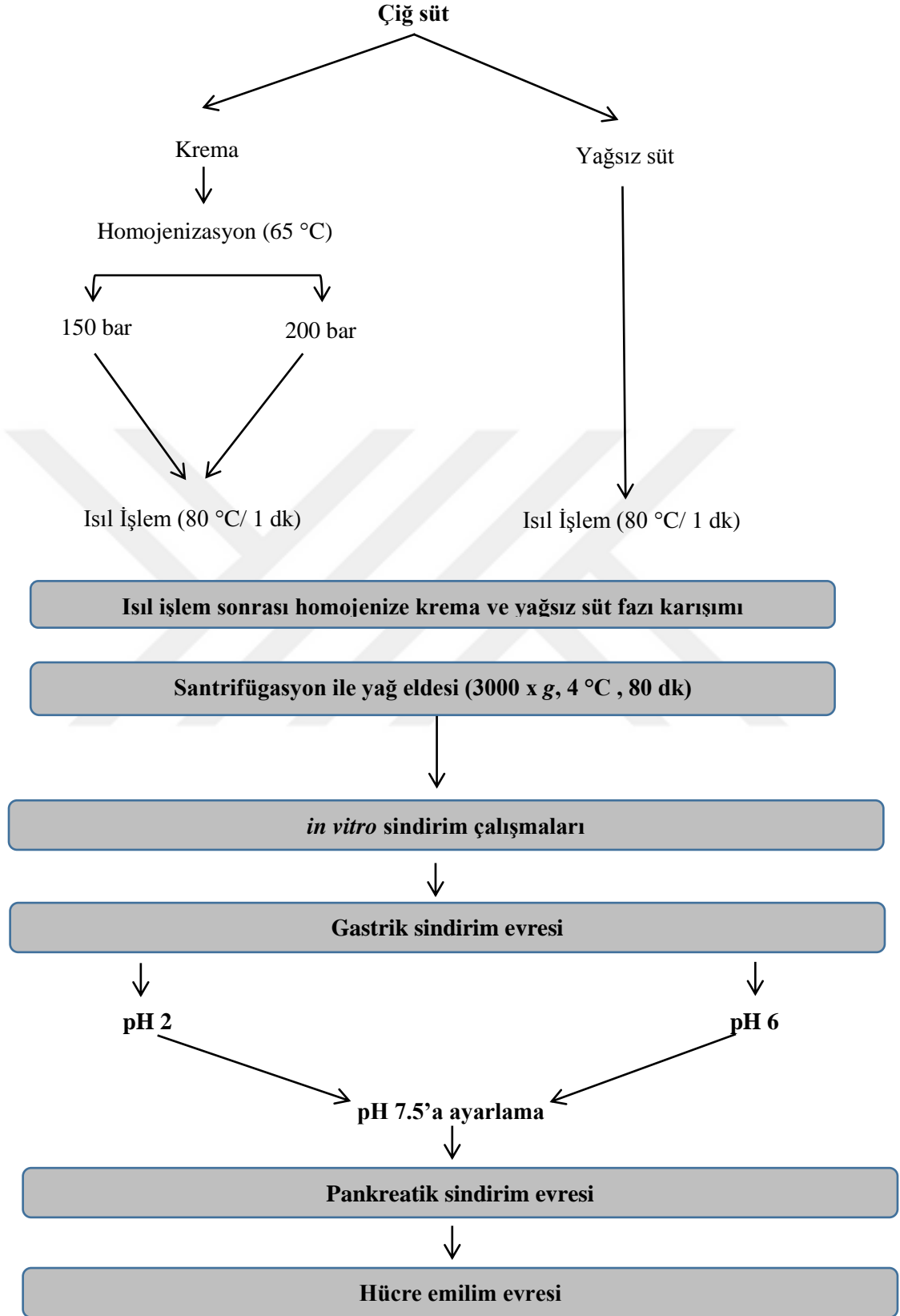
Şekil 3.1 Deneme planı

Deneme II

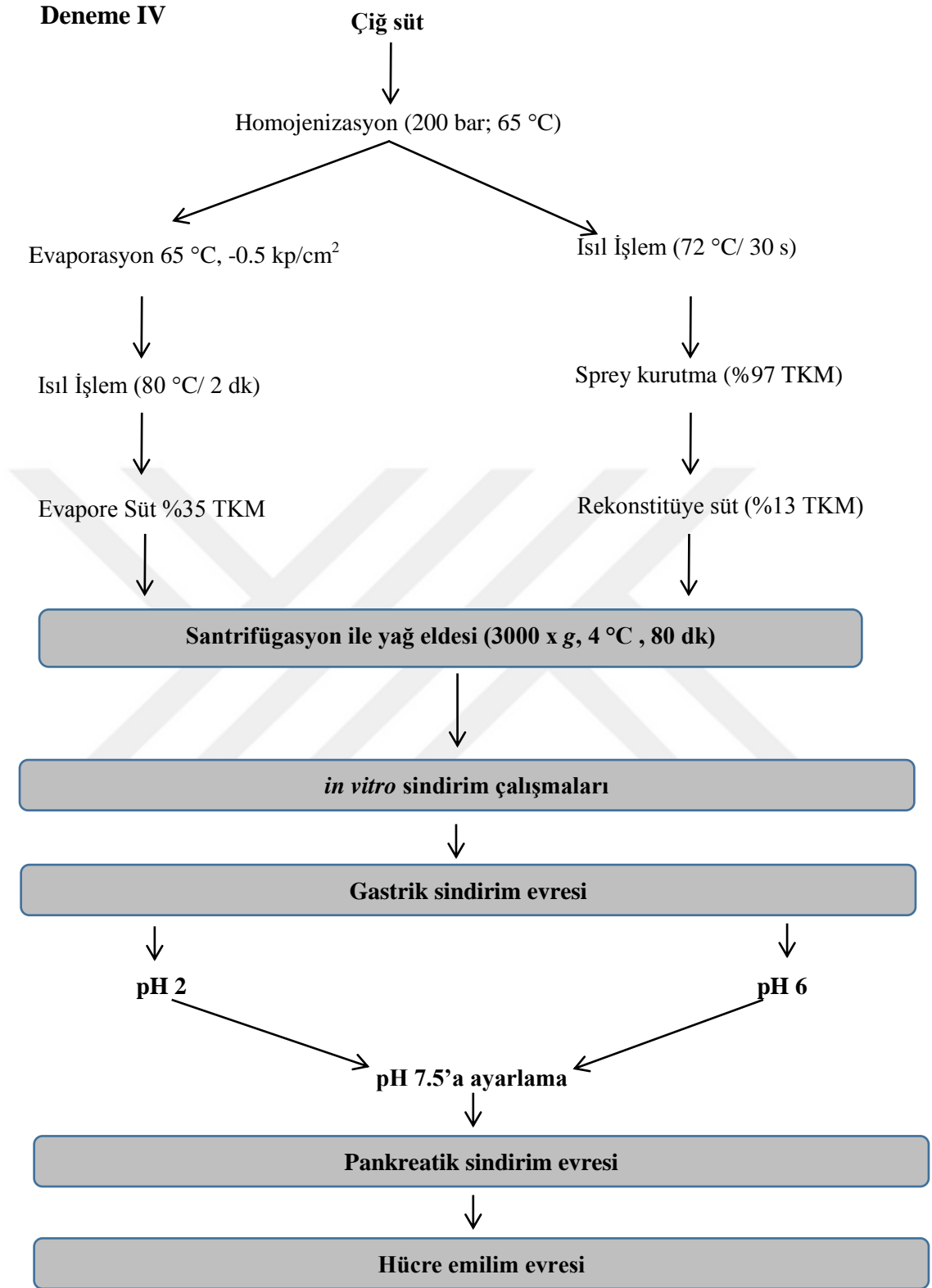


Şekil 3.1 Deneme planı (devam)

Deneme III



Şekil 3.1 Deneme planı (devam)



Şekil 3.2 %35 toplam kurumadde (TKM) içerikli evapore süt (EV) ile %13 toplam kurumaddeli rekonstitüye süt (RS) üretimi ve sindirim/emilim prosedürü akış şeması

3.2 Metot

3.2.1 Bileşim analizleri

Çiğ süt örneklerinde yağ düzeyi Anonim (2002)'ye göre belirlenmiştir. pH ölçümlerinde bileşik elektrodlu bir dijital pH-metre kullanılmış (20 °C), toplam protein içeriği ise Gripon vd. (1975) tarafından önerilen mikro-Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir.

3.2.2 Süt yağ globüllerinin ayrıştırılması ve boyut esaslı gruplandırma

Çiğ süttten doğal yağ globüllerinin boyut esasına göre ayrıştırılmasında başlangıçta Sartocoon Slice 200 Çapraz Akışlı kaset tip ultrafiltrasyon ve Sartocoon Microfiltration sistemi kullanılmıştır (Sartorius Stedim Biotech AG, Göttingen, Almanya). Membran filtrasyon sisteminin teknik spesifikasyonları aşağıdaki gibidir:

Membran materyali	: Polietersülfon polimer materyal (kaset tip)
Membran gözenek çapı	: 2 µm ve 5 µm, 100 kDa, 30 kDa
Efektif filtrasyon yüzey alanı	: 0.7 m ²
Giriş-çıkış basıncı ve çalışma sıcaklığı	: 1.0-2.0 bar ve 45-50 °C

Çalışma sırasında filtrasyon sisteminde sıklıkla tıkanmalar meydana geldiği için etkin bir yağ ayrımı sağlamak amacıyla UF/MF retentat ve permeatın yüzeyinde biriken yağlar toplanmış (ağırlıklı olarak büyük yağ globülleri içeren kısım) kalan kısım ise 4 °C'de ve 400 x g'de 5, 10, 15 dk ve 3000 x g'de 4 °C'de 80 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme sonunda süpernatant ve yağ fazı ayrıştırılmış ve elde edilen yağlarda hem partikül boyutları hem de yüzey yük dağılımları (zeta potansiyelleri, -ζ-) ölçülerek denemeye devam edilecek örneklerin seçimi gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Homojenizasyon uygulaması

Çiğ süt yağının homojenizasyonunda Alfa Laval SHL-25A (Alfa Laval Co., Lund, Sweden) marka homojenizatör kullanılmıştır. Homojenizasyon işlemi 65 °C'de ve üç ayrı basınç altında (100-150-200 bar) gerçekleştirilmiştir.

3.2.4 Evaporasyon ve sprej kurutma uygulamaları

Konsantre süt üretimi Anhydro marka evaporatör (Danimarka) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Evaporasyon işlemi 60-65 °C'de -0.5 kp/cm² (yaklaşık -0.5 bar) basınç altında yürütülmüştür. Evaporasyon sonunda ulaşılması hedeflenen kurumadde düzeyi %35 olarak belirlenmiştir. Evaporatöre buhar girişi 1.5 atm'de sabit tutulmuştur.

Instant toz ürün geliştirilmesi çalışmalarında ise APV Anhydro marka LAB S1 pilot tip sprej kurutucu (SPX Flow Technology A/S, Soeborg, Danimarka) kullanılmıştır. Evaporasyon yolu ile yaklaşık %40 kurumaddeye ayarlanan konsantre ürün yaklaşık 200 atm basınç altında nozzle atomizer ile 200 °C'de kurutma kabineine gönderilmiş ve siklon aracılığı ile hava toz karışımı ayrıştırılmıştır. Santrifüj atomizerin dönüş hızı 10.000 devir/dakika olarak kullanılmıştır.

3.2.5 Partikül boyutu ve zeta potansiyeli (-ζ-) ölçümü

Globül boyutu ve damlacıkların polidispers indeksi dinamik ışık saçılması spektrofotometre cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Zeta potansiyeli ve partiküllerin hidrodinamik çapı, 25 °C'de Zetasizer (ZS Nanoseries Malvern Instruments, Worcestershire, UK) ile belirlenmiştir. Örnekler 0.01 mg/mL düzeyine kadar seyreltikten sonra ölçümler gerçekleştirilmiştir. Her bir ölçüm, ortalama bir parçacık boyutu ölçümü elde etmek için 3 kez tekrarlanmıştır. Ölçülen partiküllerin kırılma indisleri Kırılma İndisi veritabanı web sitesinden elde edilmiştir.

3.2.6 Doğal ve homojenize süt yağlarının globül membran protein dağılımlarının belirlenmesi

Doğal ve homojenize süt yağı örneklerinin protein dağılımları sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) ile belirlenmiştir (Özer, 1997). Ayırıcı ve yoğunlaştırıcı jel konsantrasyonları sırası ile %12.5 ve %4 olarak uygulanmıştır. Örnekler 200 volt/ 60 mA sabit akım koşullarında yürütülmüştür. Örnekler 1 mg protein/ 1 mL örnek solüsyonu olacak şekilde hazırlanmış ve 15 µL hacimde yüklenmiştir. Jel boyamada Coomassie Blue G250 ve boya çözmede ise metanol (400 mL), asetik asit (100 mL) ve su (500 mL) karışımı kullanılmıştır.

3.2.7 Süt lipidlerinin *in vitro* sindirimi

Gastrik ve pankreatik sindirim *in vitro* ortamda yapay sindirim sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Sindirim etkinliği testlerinde Daisy Yapay Sindirim Sistemi (Ankom Technology, Macedon NY, USA) kullanılmıştır.

Çalışma iki farklı pH koşulunda yürütülmüştür (pH 2 ve 6). pH 2 dozu mide boşken protein uyarımı sonrası asit simülasyonu sonrasında yetişkin sağlıklı bireyde mide pH'sı olarak kabul edilmektedir. pH 6 infantta ve yetişkinde gastrik asidite eksikliği veya inhibisyonunu simüle etmek üzere seçilmiştir.

Süt yağ globüllerinin sindirimini değerlendirmek amacıyla, gastrik stabilite ve misel oluşumuna giden moleküllerde kullanılan genel prosedür uygulanmıştır. Gastrik faz aşamasında besin-gastrik sıvı karışımına 1 M HCL (Sigma Aldrich, ABD) ve 30 IU/mL pepsin (Merck, Almanya) eklenerek hazırlanan örnekler yapay sindirim cihazında 37°C'de 1,5 saat süreyle pH 2'de ve pH 6'da çalkalanarak bekletilmiştir (Minekus ve ark., 2014).

Pankreatik fazı değerlendirmek için gastrik sindirim simülasyonu ile sindirime uğramış örneklere pankreatin (Sigma Aldrich, ABD), NaHCO₃ (Sigma Aldrich, ABD), 39 mM K₂HPO₄ (Sigma Aldrich, ABD), 150 mM NaCl (Sigma Aldrich, ABD), 30 mM CaCl₂

(Sigma Aldrich, ABD), pankreatik enzim karışımı 1000 IU/mg (150 mg pankreatine eşdeğer 8000 IU Amilaz 10000 IU Lipaz ve 600 IU Proteaz karışımından uygun doz hesaplaması yapılarak kullanılmıştır), safra ekstraktı (Sigma Aldrich, ABD) (5.0 mg/mL) eklenmiş ve pH 7.5-8.0 aralığında 37 °C'de 2 saat süre ile inkübe edilmiştir.

Misel formasyonu oluşumunu değerlendirmek üzere 4 °C'de 35 dk 165.000 g'de ultrasantrifüj yapılarak aköz faz ayrılmış ve 0.22 µm filtreden geçirilerek örnekler toplanmıştır (Failla ve Chitchumronchokchai, 2005, Guinot vd. 2019).

3.2.8 Süt lipidlerinin ince barsak emilim simülasyonu

Yapay sindirim modelinde gastrik ve pankreatik sindirim son ürünleri; enzimatik sindirimin sonlandırılması için kullanılan enzim preparatlarının inhibitörleri kullanılarak enterokinaz aktivitesi (+) olan insan kolon epitel hücrelerinde sindirim ve emilim çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Hücre kültürü çalışmaları

Çalışmada insan kolon epitelyum hücresi Caco-2 hücre dizisi kullanılmıştır. Hücreler %10 Fatal Bovine Serum (FBS), 100 µg/ml streptomisin, 100 U/ml penisilin ve 2 mM L-Glutamik asit içeren DMEM besi yeri içinde kültüre edilmiştir. Kültür steril koşullar altında 37 °C'de, %5 CO₂ ihtiva eden etüvlerde gerçekleştirilmiştir. Hücre proliferasyonlarının değerlendirilmesi 96 kuyulu plaklarda, farklı moleküllerin sentezlenme düzeylerinin analiz edileceği kültürler ise 6 kuyulu plaklarda (106 hücre/ml) inkübe edilerek hücre kültürü yapılmıştır.

Yağ globüllerinin hücre içine geçişinin –absorpsiyonunun değerlendirilmesi

Barsak epitelinden lipid emilimini değerlendirmek amacıyla sindirime uğramış kimus örnekleri % 1-5 ve 10 oranlarında besi yeri ile karıştırılarak insan kolon epitelyum hücresi Caco-2 ile 1-2-6-24 saat hücre yüzey sindirim, enterositlere alım (uptake) ve emilimini (absorbtion) optimize etmek üzere deneyler transwell kullanılarak değerlendirilmiştir. Hücre içine lipid alımı hücre içi yağ düzey ölçümü ile zamana ve

konsantrasyona bağlı olarak değerlendirilmiştir. Hücre kültürü ortamında spernanatlar ve hücre lizatları ayrı ayrı toplanmıştır. Hücre lizatı eldesi için hücreler proteaz inhibitörü içeren (aprotinin, leupeptin, pepstatin, PMSF- her birinden 2 mg/ml) brij 150 lizis solüsyonu (tris 1 M, EDTA 0.5 M, NaCl 5M, % 10 brij 96, % 10 NP-40 suda) içinde homojenize edilmiştir (Powergen homojenizatör 125, Fisher Scientific).

3.2.9 Yağ sindirim ürünlerinin analizi

In vitro gastrik sindirim, pankreatik sindirim ve hücre emilim aşamalarının sonunda alınan örneklerde serbest yağ asidi düzeyleri belirlenmiştir. Yağ sindirim ürünlerinin analizinde FID dedektör içeren GC/MS cihazından yararlanılmış ve De Jong ve Badings (1990) tarafından modifiye edilen yöntem kullanılmıştır. Ekstraksiyon ile elde edilen yağ sindirim ürünleri (serbest yağ asitleri) FID dedektör içeren GC (6890 series, Agilent Technology, CA, USA) ile TR-FFAP (30 m x 0.25 mm x 0.25 m) kolon kullanılarak analiz edilmiştir. Üç farklı iç standart; valerik asit (C_{5:0}), heptanoik asit (C_{7:0}) ve heptadekanoik asit (C_{17:0}) kullanılmış ve elde edilen bütirik asit (C_{4:0}), kaproik asit (C_{6:0}) ve kaprilik asit (C_{8:0}) valerik asit (C_{5:0}) i standardına göre; kaprik asit (C_{10:0}), laurik asit (C_{12:0}), miristik asit (C_{14:0}), heptanoik asit (C_{7:0}) i standardına göre; palmitik asit (C_{16:0}), stearik asit (C_{18:0}), linoleik asit (C_{18:2}) ve linolenik asit (C_{18:3}) ise heptadekanoik asit (C_{17:0}) i standardına göre değerlendirilmiştir.

3.2.10 İstatistiksel analizler

Deney sonuçları SPSS programı kullanılarak tek yönlü ANOVA yöntemiyle değerlendirilmiş ve gruplararası farklılıklar Least Significant Difference (LSD) testine göre belirlenmiştir. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş ve sonuçlar ortalama \pm *Standart sapma* olarak verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Homojenize krema örneklerine ait partikül boyutu ve zeta potansiyeli (-ζ-) değişimleri

Çalışma kapsamında üç farklı basınç (100-150-200 bar) altında homojenize edilen süt örneklerinin kremalarına ait partikül boyut dağılımı **Şekil 4.1**'de, bu partikül boyutlarının temsil yüzdeleri ise **çizelge 4.1**'de sunulmaktadır. **Şekil 4.1** ve **çizelge 4.1**'de yer alan “**ÇS ve ÇSH**” ifadesi ısıtılma işlem öncesi homojenize edilen, “**PS ve PSH**” ifadesi ise ısıtılma işlem sonrası homojenize edilen örnek gruplarını işaret etmektedir (örnek detayları için *Bkz. Çizelge 3.1*). Yağların proses edilen süt örneklerinden uzaklaştırılması sırasında öncelikle ultrafiltrasyon (UF) uygulaması denenmiş ancak UF membranlarının hızlı tıkanması nedeniyle istenilen düzeyde başarı elde edilememiştir. Bunun üzerine santrifügasyon yolu ile yağların ayrıştırılması denenmiştir. Bu amaçla; ön denemeler kapsamında 400 g'de 4 °C ve 40 °C'de 5, 10 ve 15 dakika ile 3000 g'de 4 °C'de 80 dakikalık santrifügasyon ile ayrılan yağların partikül boyutları ve zeta potansiyelleri belirlenmiştir (*Bkz. EKLER*). Ön denemeler sonucunda partikül boyutlarının santrifügasyon koşullarından etkilenmediği ve en geniş dağılım aralığının 3000 g'de 4 °C'de 80 dakikalık santrifügasyon sonucunda elde edildiği belirlenmiştir. Çalışmanın devamında bu koşullar altında elde edilen kremlar kullanılmıştır. Yağların süttten bütünüyle ayrıştırılması ekstraksiyon teknikleri uygulamadan mümkün değildir. Ekstraksiyon işlemi de süttün doğal yapısına kısmi zarar verme riski taşımaktadır. Bu nedenle metin boyunca “süt yağı” yerine “krema” ifadesinin kullanılması tercih edilmiştir. **Çizelge 4.1** incelendiğinde denemeye alınan krema örneklerinin ortalama boyutlarının 0.7 µm'nin altında olduğu (ÇS ve PS örnekleri hariç) ve tüm kitleyi temsil yüzdelerinin %79,8 ile %100,0 arasında değiştiği görülmektedir. Partikül boyutu analizlerinde krema partikül boyutlarının 61 nm'den 7.500 nm'ye kadar değiştiği görülmüştür. **Çizelge 4.1**'de yer alan örneklerin popülasyonu temsil oranlarının büyük olması çalışmanın hedeflerine ulaşması açısından tutarlı bulunmuş ve denemelere bu örnekler ile devam edilmiştir. **Şekil 4.1**'de görüldüğü üzere homojenizasyon basıncının artması ile birlikte ortalama partikül boyutunda azalma meydana gelmiştir. Isıtılma işlem

uygulamasının partikül boyutunda bir artış meydana getirdiği ve ancak basınç-bağımlı değişim eğiliminin etkilenmediği belirlenmiştir.

Homojenizasyon öncesi ısı işlem uygulaması ile krema örneklerinde partikül boyutu artışının nedeni kısmi ya da tamamen denatüre olmuş serum proteinlerinin yağ globül membran proteinleri ile fiziksel interaksiyonlarına dayandığı düşünülmektedir. Isıl işlem sırasında globüller serum proteinlerinde meydana gelen denatürasyon sonucunda açığa çıkan reaktif tiyol (-SH) gruplarının, primer yapıdaki kazeinlerin (özellikle κ -CN) disülfid grupları ile kovalent bağlantı kurduğu bilinmektedir (Monahan vd. 1995). Bu şekilde oluşan protein-protein kompleksi benzer bir mekanizma üzerinden yağ globül yüzey proteinleri ile interaksiyona girebilmektedir (Aynié vd. 1992). Separasyon yöntemiyle elde edilen büyük ve küçük yağ globülleri özellikle doymamış uzun zincirli yağ asitleri bakımından farklılık gösterebilmektedir (Lu vd. 2016, Timmen ve Patton 1988, Briard vd. 2003). Benzer şekilde; küçük yağ globüllerinin daha yüksek düzeyde kolesterol ve konjüge linoleik asit (CLA) içerdiği de gösterilmiştir (Lu vd. 2016).

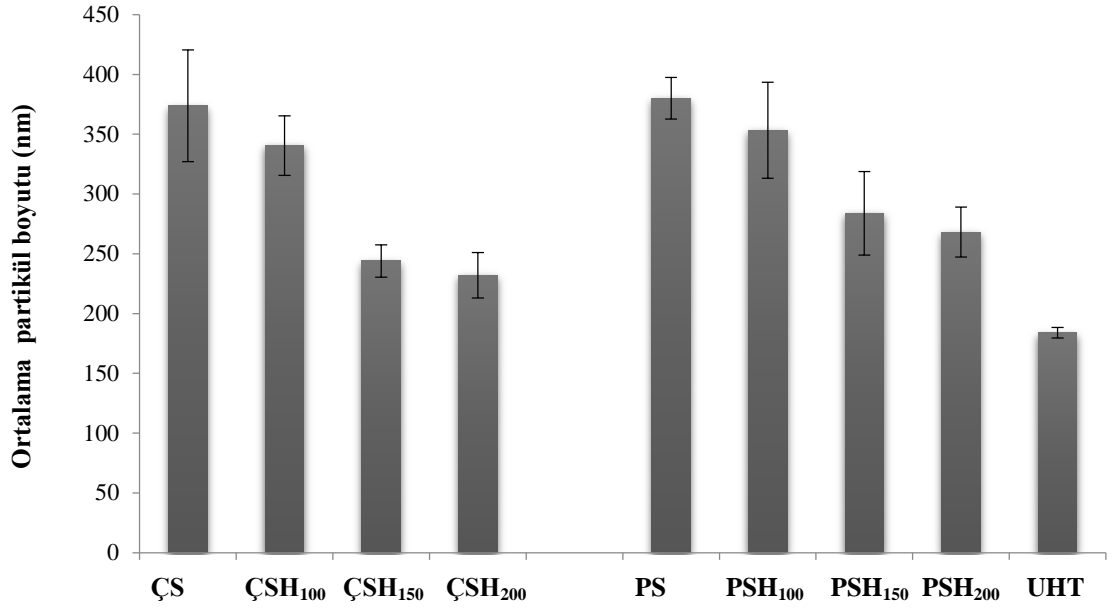
Homojenizasyon uygulaması ile yağ globüllerinin boyutlarındaki değişimin yanı sıra yüzey yüklerinin dağılımında da değişimler gerçekleşmektedir. Bu değişime bağlı olarak kazeinler ile yağ globül yüzeyi arasında elektrostatik adsorbsiyon temeline dayalı fiziksel etkileşim de meydana gelmektedir (Aynié vd. 1992). Çalışma kapsamında denemeye alınan krema örneklerinin ortalama zeta potansiyeli (ζ -) dağılımları **şekil 4.2**'de sunulmaktadır. Homojenizasyon basıncının artması ile birlikte partiküllerin zeta potansiyellerinde azalma görülmüştür. Örneklerin zeta potansiyelleri -22,90 mV ile -31,80 mV arasında değişmiştir. Bu değişimin homojenizasyon etkisi ile küçülen ancak yüzey alanı genişleyen yağ partiküllerinin yaratmış olduğu yüzey potansiyeli farkından kaynaklandığı düşünülmektedir. Berton vd. (2012) doğal süt yağının zeta potansiyelini -13 mV, küçük boyutlu yağ globüllerinin zeta potansiyelini ise ortalama -20 mV olarak bulmuştur. Kazeinin zeta potansiyeli (ζ -) ise -20 mV dolayındadır (Dalglish, 1984; Michalski vd. 2002b). Homojenizasyon basıncına bağlı olarak zeta potansiyelinde değişim meydana gelmesinin temel nedeninin MFGM'nin hasarlanması (parçalanması) ve/veya süt serumundan gelen yüzey aktif materyallerin TG/su ara yüzeyine

adsorbsiyonu olduğu düşünülmektedir (Dalglish 1984, Michalski vd. 2002b, Oortwijn 1979).

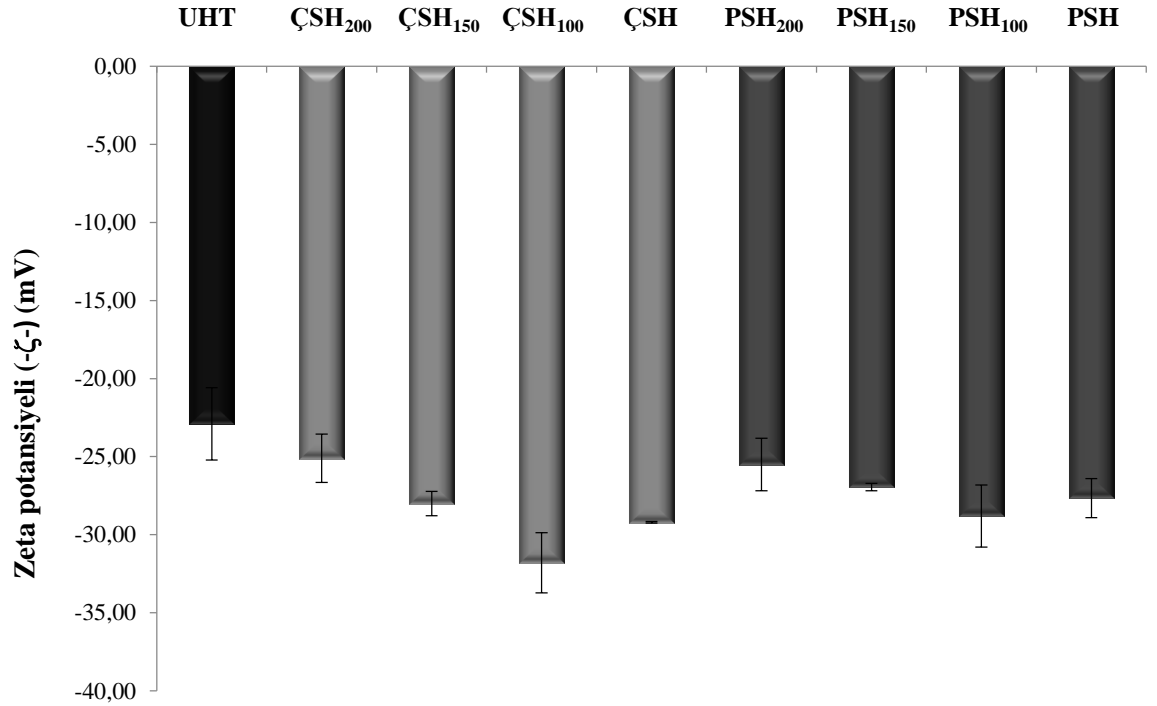
Çizelge 4.1 Deneme örneklerine ait ortalama partikül boyutu (nm) ve intensitesi (%)
(n=3).

Örnek	Ortalama partikül boyutu	Ortalama partikül boyutu intensitesi
ÇS	1.173,8 ± 46,77 ^a	79,8
ÇSH ₁₀₀	450,1 ± 12,17 ^b	82,6
ÇSH ₁₅₀	340,5 ± 24,87 ^c	96,9
ÇSH ₂₀₀	242,7 ± 19,03 ^d	100,0
PS	1.380,0 ± 17,40 ^e	95,7
PSH ₁₀₀	712,6 ± 10,35 ^f	94,0
PSH ₁₅₀	653,3 ± 40,24 ^g	87,2
PSH ₂₀₀	568,1 ± 20,9 ^h	86,6
UHT	183,9 ± 4.45 ⁱ	97,4

Çalışmada karşılaştırma amacıyla ticari UHT süt kullanılmıştır. Her ne kadar, ticari UHT süt üretiminde uygulanan ısıl işlem normu (140 °C/ 1-4 s) ile deneme örneklerine uygulanan ısıl işlem normu (80 °C / 1 dk) belirgin farklılıklar gösterse de homojenizasyon koşullarının benzer olduğu bilinmektedir (ticari süt işletmesi ile yapılan görüşmelerde 220 bar / çift kademe homojenizasyon uygulandığı bilgisi alınmıştır). Bu nedenle ticari UHT sütün, homojenizasyon/ısıl işlem/lipid sindirim etkinliği ilişkisinin daha net karşılaştırılabilmesi için uygun bir referans olduğuna karar verilmiştir. Ticari UHT süt örneklerinde ortalama krema partikül boyutu zeta potansiyeli sırasıyla 183,9 nm ve -22,90 mV olarak bulunmuştur. Ticari UHT sütün en düşük krema partikül boyutu 61 nm olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.1 Farklı basınçlarda homojenize edilen süt örneklerinden ayrıştırılan yağların ortalama partikül boyut dağılımı (n=3)



Şekil 4.2 Krema örneklerine ait yüzey yük dağılımları (zeta potansiyeli -ζ-) (n=3).

Partikül boyutu dağılımları açısından 100 bar basınç ile basınç uygulanmamış örnekler arasında belirgin bir farklılık görülmediğinden denemeye 150 ve 200 bar homojenizasyon basıncı değişkenleri ile devam edilmesine karar verilmiştir.

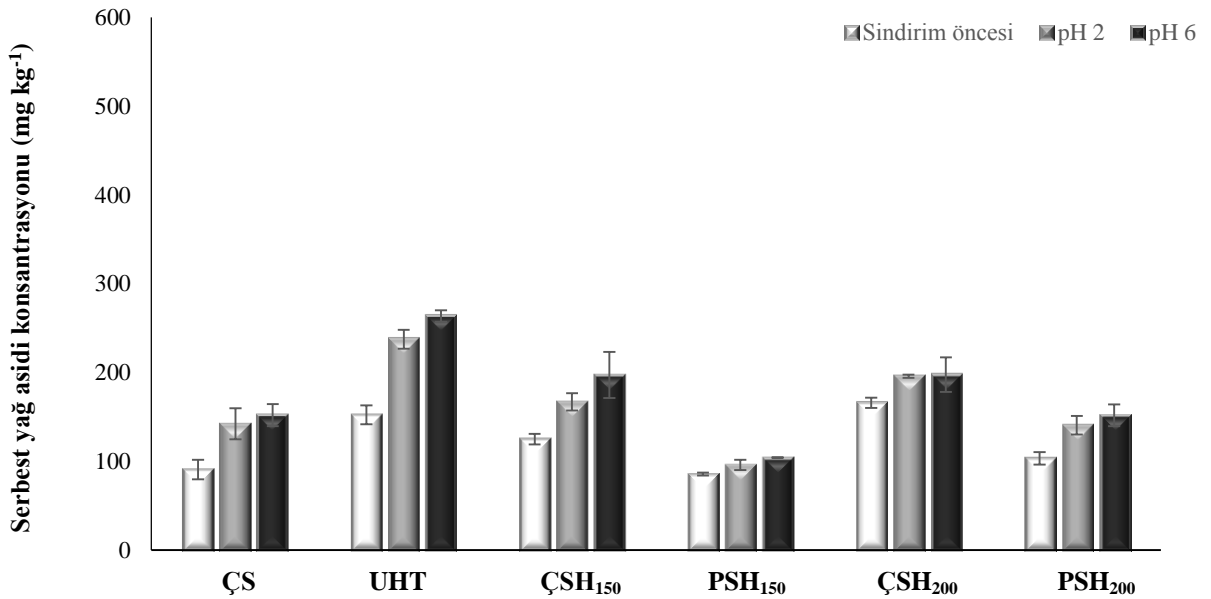
4.2 Krema örneklerinin *in vitro* gastrik sindirim sonrası lipid sindirim ürünleri profili

4.2.1 Homojenizasyondan önce ya da sonra ısıl işlem uygulanan süt örneklerinin *in vitro* gastrik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri (Deneme I)

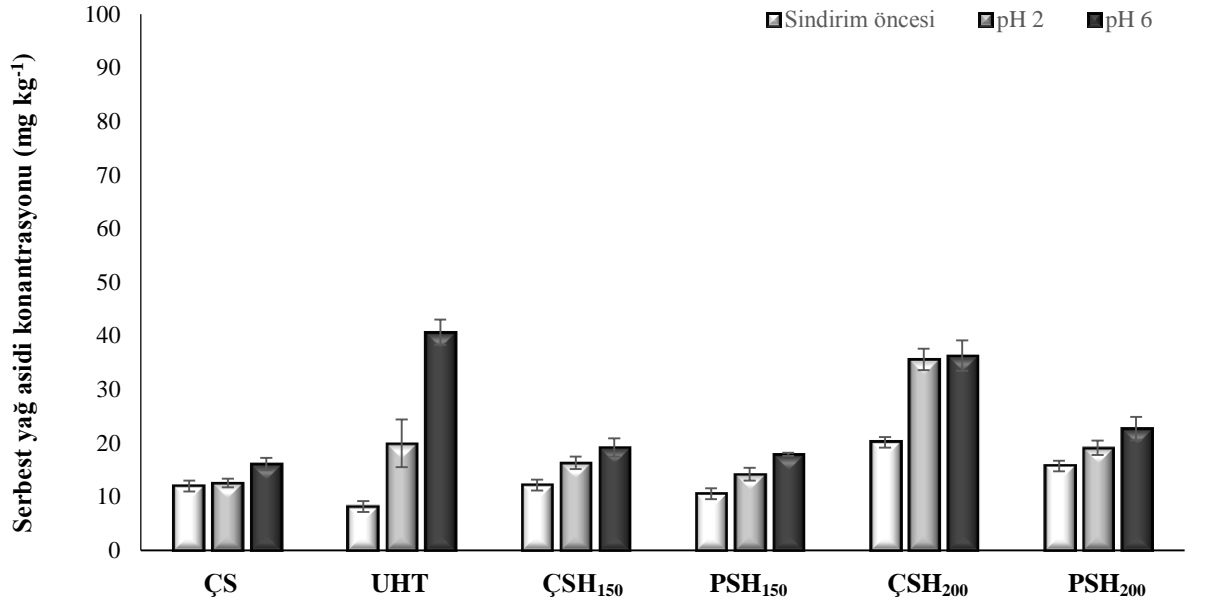
Deneme I kapsamında farklı teknolojik işlemler uygulanan (homojenizasyon basıncı ve ısıl işlem uygulaması) krema örnekleri pH 2 ve pH 6'da ayrı ayrı gastrik sindirime tabi tutulmuş ve sindirim sonrası krema örneklerinde serbest yağ asidi düzeyleri ölçülmüştür. Sonuçlar toplam ($C_2-C_{18:1}$) (**Şekil 4.3a**), kısa (C_2-C_6) (**Şekil 4.3b**), orta (C_8-C_{12}) (**Şekil 4.3c**) ve uzun ($C_{14}-C_{18:1}$) (**Şekil 4.3d**) zincirli yağ asitleri şeklinde sunulmuştur. Genel olarak; süt yağının uygulanan teknolojik işlemlerden bağımsız olarak gastrik sindirim aşamasında enzimatik hidrolizasyona uğradığı belirlenmiştir. Homojenizasyondan önce 80 °C'de 1 dk ısıl işlem uygulaması sonunda süt yağının gastrik hidrolizasyon düzeyinin aynı örneklerin homojenizasyondan sonra ısıl işlem görmüş eşdeğerleri ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılık özellikle 150 bar basınç uygulanan çiğ ve ısıl işlem görmüş örneklerde (ÇSH_{150} ve PSH_{150}) kısmen daha belirgin bulunmuştur. Isıl işlem uygulamasına bağlı olarak gastrik sindirim düzeyinin azalmasının primer nedeninin ısıl işlem etkisi ile denatüre olan serum proteinlerinin MFGM proteinleri ile gerçekleştirdiği fiziksel interaksiyonlar ve bunun sonucu insan gastrik lipazı (HGL)'nin MFGM yüzeyine erişiminin kısmen sınırlanması olduğu düşünülmektedir. Bu noktada, kazeinlerin adsorbsiyon mekanizması üzerinden homojenize yağ globüllerinin üzerine yığılmasının belirgin bir etkisinin olmadığı tahmin edilmektedir. Homojenizasyon ve ısıl işlem uygulamalarının hem serum proteini denatürasyonuna bağlı disülfid köprüleri üzerinden MFGM proteinlerine bağlanması hem de kazeinlerin homojenize globüllerin yüzey yükleri değişimine bağlı adsorbsiyonu söz konusu olsaydı 200 bar basınç uygulanan pastörize

sütlerde (PSH₂₀₀) yağların gastrik sindiriminin 150 bar basınç uygulanan pastörize süt örneğine (PSH₁₅₀) oranla daha sınırlı olması beklenirdi.

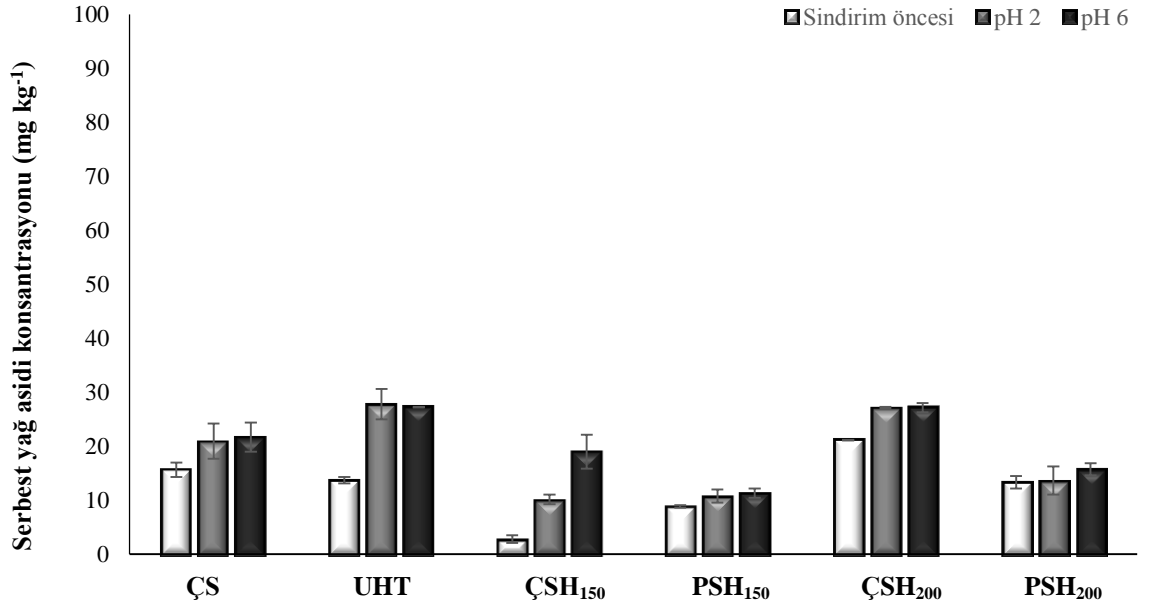
Gastrik sindirim sürecinde, yüksek homojenizasyon basıncına tabi tutulan çiğ süt örneklerinde kısa zincirli (C₂-C₆) yağ asidi konsantrasyonunun UHT süt örneği hariç diğer örnek gruplarında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.3b). Isıl işlemin 150 bar basınç altında homojenize edilen örneklerde kısa zincirli serbest yağ asitleri konsantrasyonuna katkısı sınırlı olurken, 200 bar basınç uygulanmış örneklerde kısa zincirli serbest yağ asidi düzeyi kısmen daha yüksek bulunmuştur. Toplam serbest yağ asitleri düzeyinde olduğu gibi kısa zincirli yağ asitleri düzeyi üzerine ısıl işlemin etkisi özellikle 200 bar basınç uygulamasında çok belirgin olmuştur. Benzer şekilde; homojenize edilmemiş çiğ süt yağının serbest yağ asidi düzeyleri ile karşılaştırıldığında UHT sütte gastrik yağ sindiriminin daha yüksek olduğu ve bu durumun özellikle pH 6'da gerçekleştirilen gastrik sindirim sonunda çok belirginleştiği saptanmıştır.



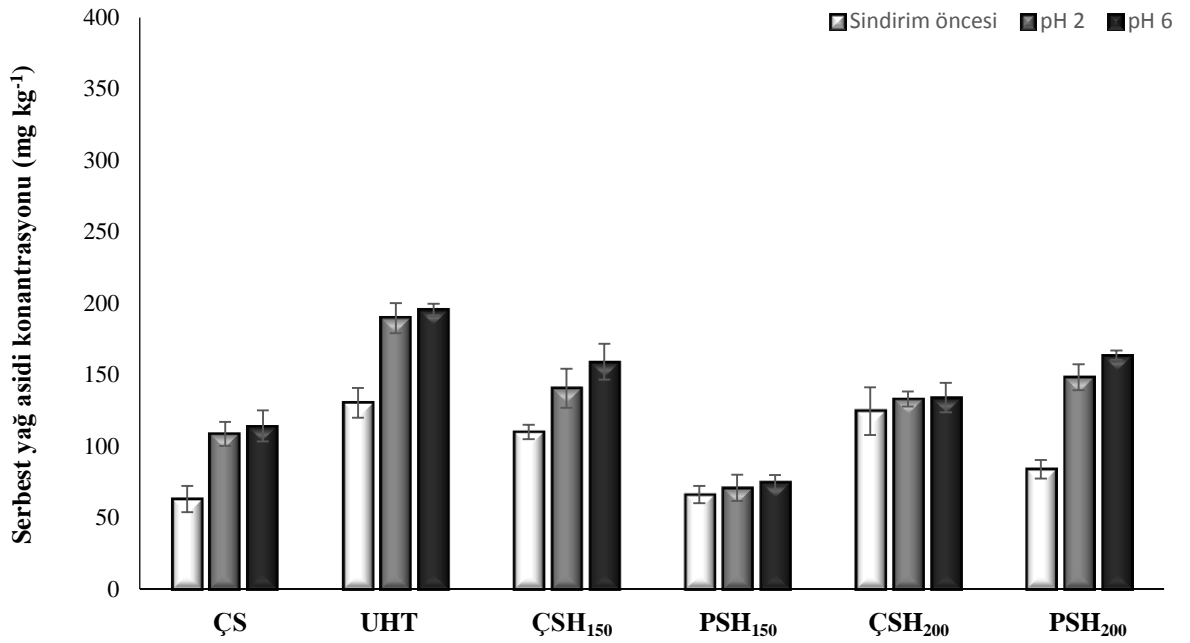
Şekil 4.3 Homojenizasyon sonrası ya da öncesi ısıl işlem uygulanan süt örneklerinin *in vitro* gastrik sindirim sonrası a) toplam (C₂-C_{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)



b) kısa zincirli (C₂-C₆) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)



c) orta zincirli (C₈-C₁₂) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)

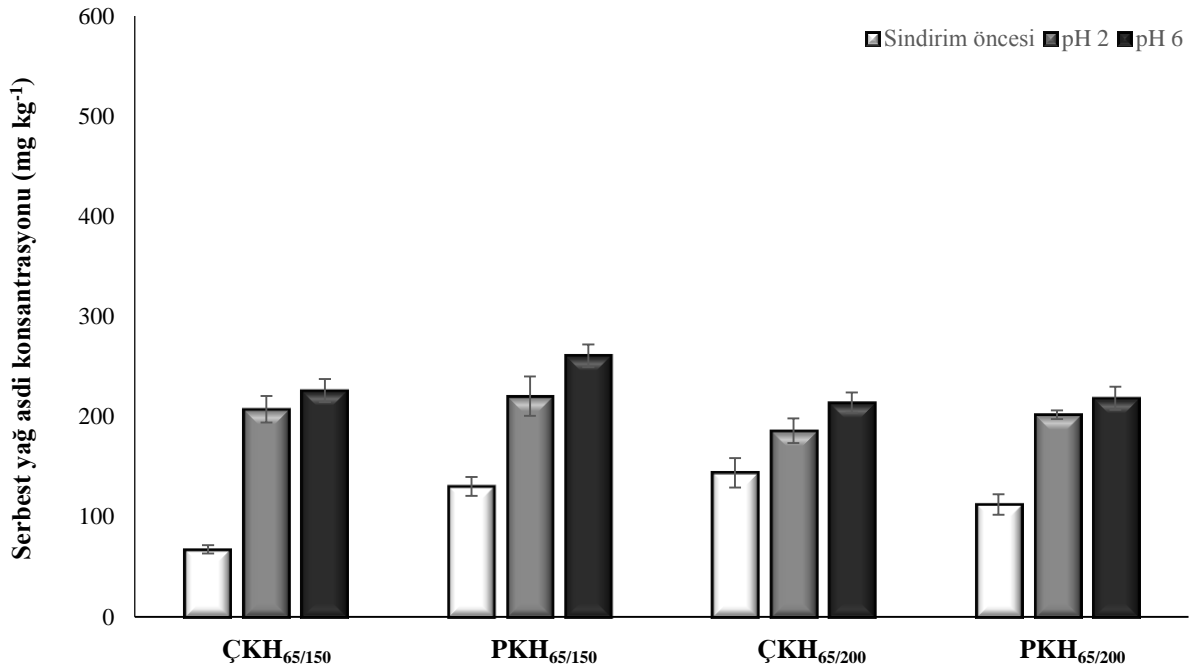


d) uzun zincirli (C₁₄-C_{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)

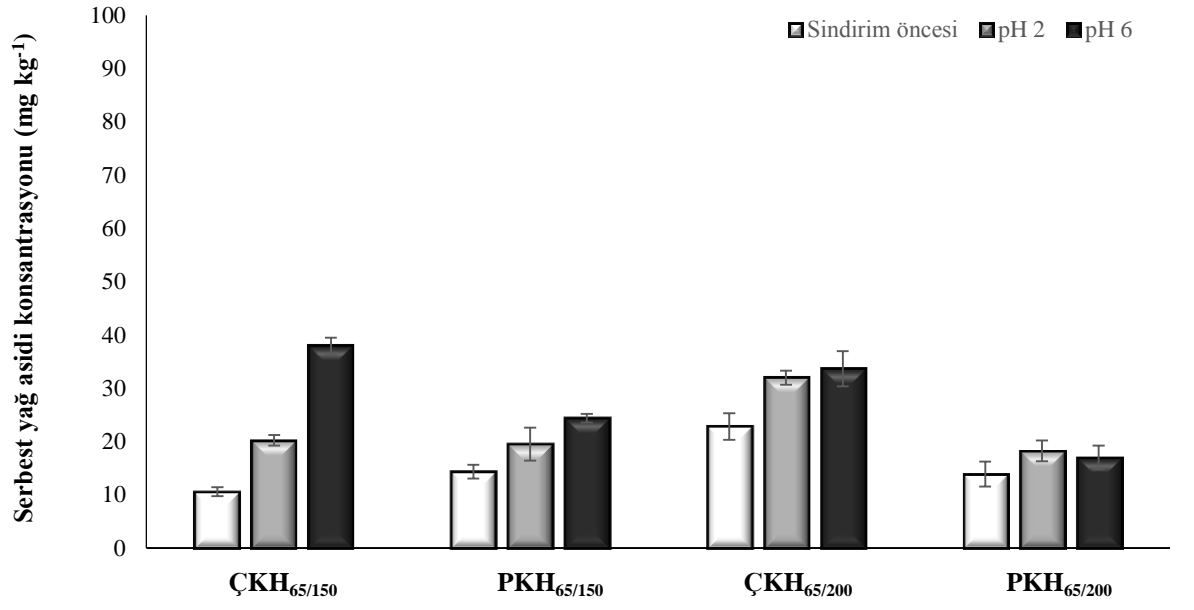
Bu durum, endüstriyel ölçekli homojenizatörlerin etkinliği ve UHT sırasında uygulanan sıcaklık rejiminin (141-143 °C 4-6 s) deneme kapsamında uygulanan sıcaklık rejiminden (80 °C, 1 dk) daha kısa süreli olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Her ne kadar UHT uygulama sıcaklığı çok yüksek olsa da uygulama süresinin kısa olması nedeniyle serum proteini denatürasyonunun sınırlı kaldığı düşünülmektedir. Genel olarak; pH 6'da gerçekleştirilen gastrik sindirimin pH 2'de gerçekleştirilen sindirime oranla daha yüksek serbest yağ asidi oluşumuna yol açtığı ancak bu farkın sindirim etkinliği açısından –UHT süt örneği hariç- çok belirgin bir anlam taşımadığı belirlenmiştir (P>0.05). Benzer eğilimlerin orta (C₈-C₁₂) ve uzun (C₁₄-C_{18:1}) zincirli serbest yağ asitleri için de geçerli olduğu görülmüştür (P>0.05). Bir istisna olarak; UHT süt örneğinde C₈-C₁₂ ve C₁₄-C_{18:1} serbest yağ asitleri düzeylerinin gastrik sindirim pH'sından etkilenmediği gözlenmiştir. Genel olarak; küçük globül boyutuna sahip yağların (1-1.5 µm) daha düşük C₄-C₁₀ ve C_{18:0}-C_{18:1} yağ asidi konsantrasyonuna sahip olduğu bildirilmiştir (Timmen ve Patton, 1988).

4.2.2 Homojenizasyon öncesi ya da sonrası ısıl işlem uygulanmış %65 yağlı krema örneklerinin *in vitro* gastrik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri (Deneme II)

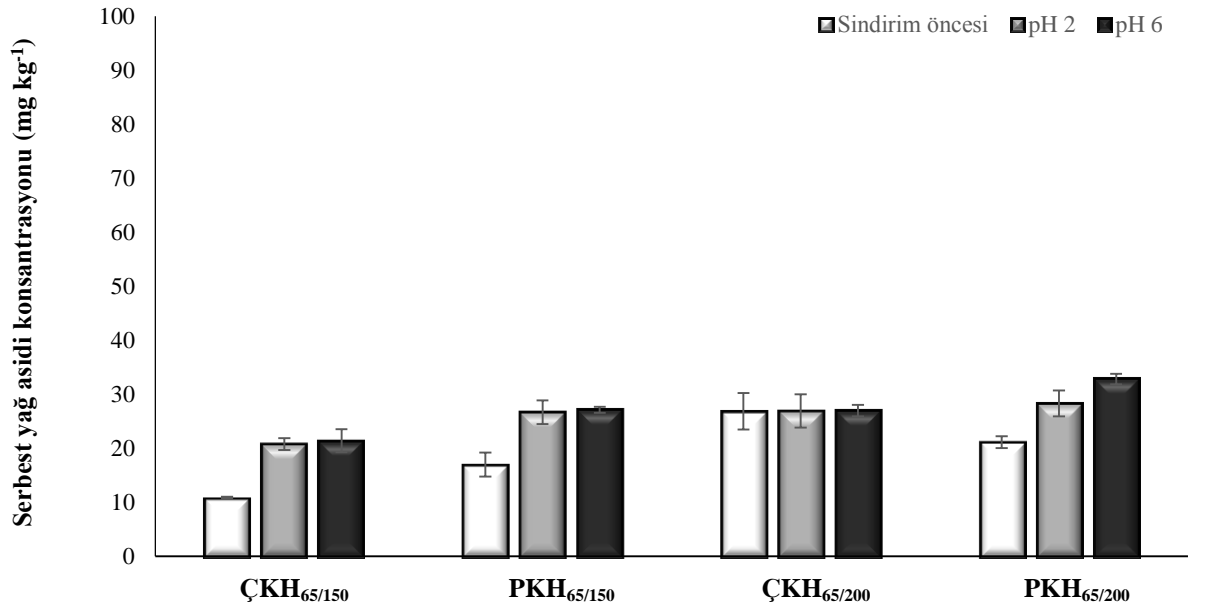
Homojenize süt yağının gastrik sindirim etkinliğini protein varlığından mümkün olduğunca bağımsız değerlendirmek amacıyla Deneme II kapsamında aynı süt kaynağı kullanılarak %65 yağlı krema örnekleri elde edilmiştir. %65 yağlı krema örnekleri 4 eşit gruba ayrılmıştır. İlk iki gruba 150 ve 200 bar basınç altında homojenizasyon öncesi ısıl işlem uygulanmış (PKH_{65/150} ve PKH_{65/200}), diğer iki grup ise homojenizasyon sonunda 80 °C’de 1 dk ısıl işlem uygulandıktan sonra (ÇKH_{65/150} ve ÇKH_{65/200}) gastrik sindirime tabi tutulmuştur. Gastrik sindirim sonrası toplam, kısa, orta ve uzun zincirli serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimleri sırasıyla Şekil 4.4a-d’de sunulmaktadır. Elde edilen sonuçlara göre; ısıl işlem uygulamasının %65 yağlı kremanın gastrik sindirim etkinliği



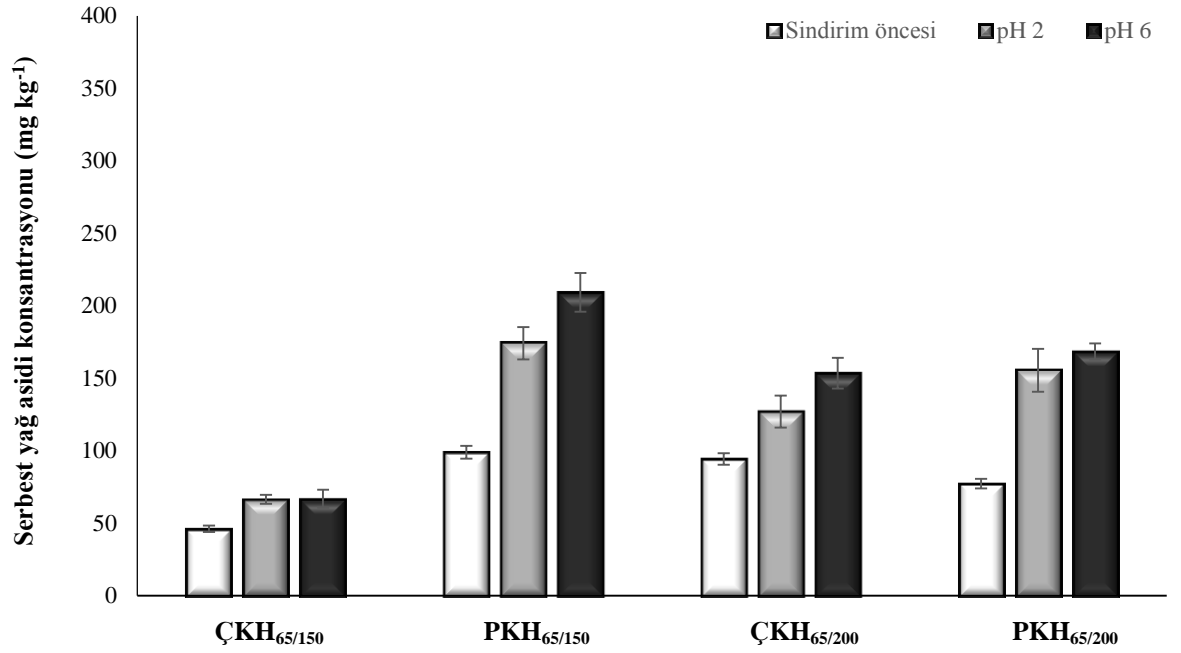
Şekil 4.4 Homojenizasyon öncesi ya da sonrası ısıl işlem uygulanan %65 yağlı krema örneklerinin *in vitro* gastrik sindirim sonrası a) toplam serbest yağ asitleri (C₂-C_{18:1}) konsantrasyonu değişimi (n=2)



b) kısa zincirli serbest yağ asitleri (C₂-C₆) konsantrasyonu değişimi (n=2)



c) orta zincirli serbest yağ asitleri (C₈-C₁₂) konsantrasyonu değişimi (n=2)



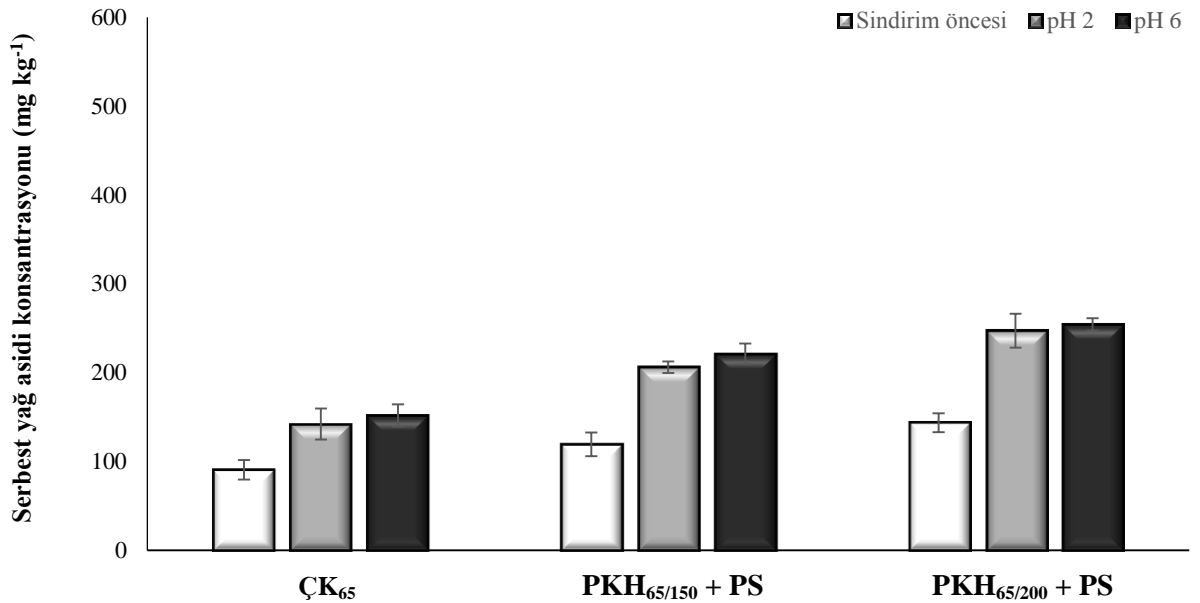
d) uzun zincirli serbest yağ asitleri (C₈-C₁₂) konsantrasyonu değişimi (n=2)

üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığı görülmüştür (P>0.05). Bu bulgular, protein-yağ interaksyonu/adsorbsiyonu mekanizmasının yağların sindirim etkinliği üzerindeki belirleyici rolünü ortaya koymakta ve **Bölüm 4.2.1**'de yer alan değerlendirmeleri büyük ölçüde desteklemektedir. pH 6'da gerçekleştirilen gastrik sindirim sonunda uygulama koşullarından bağımsız olarak sınırlı da olsa yüksek bir toplam serbest yağ asidi oluşumu tespit edilmiştir (**Şekil 4.4a**). Benzer bir eğilim kısa (**Şekil 4.4b**) ve uzun (**Şekil 4.4d**) zincirli serbest yağ asitleri için de tespit edilmiştir. Buna karşın orta zincirli serbest yağ asitleri oluşumu açısından gastrik sindirim pH'sının belirgin bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (**Şekil 4.4c**).

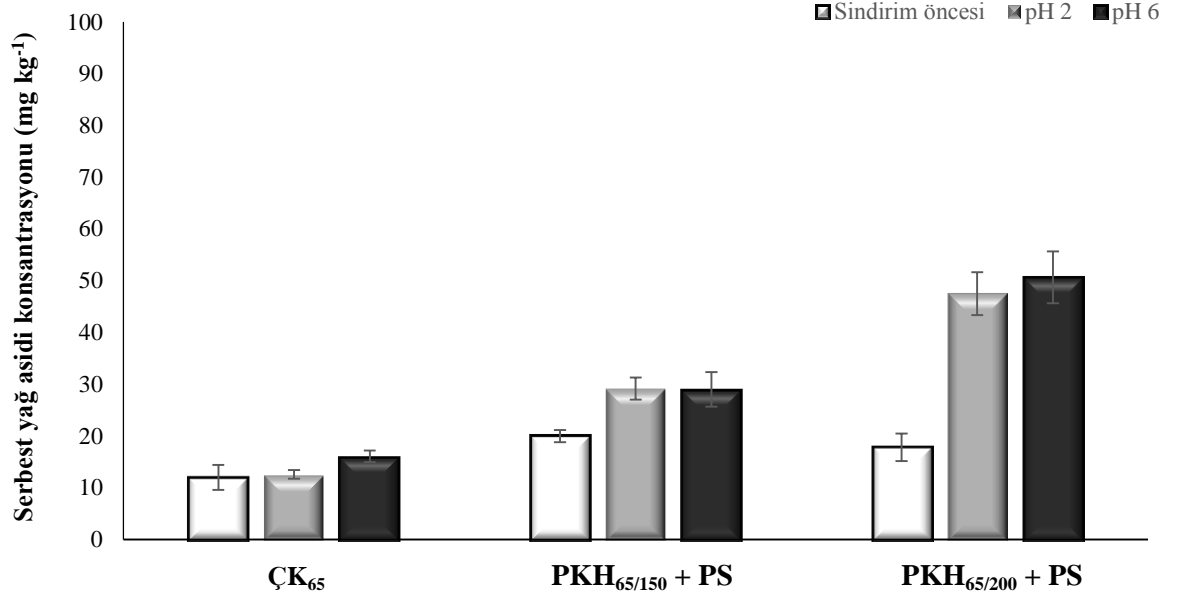
4.2.3 Homojenizasyon sonrası ısı işlem görmüş %65 yağlı krema ile ısı işlem görmüş yağsız süt karışım örneklerinin *in vitro* gastrik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri (Deneme III)

Homojenize süt yağının gastrik sindirim etkinliği üzerine ısı işlem uygulamasına bağlı olarak protein-yağ globülü interaksyonu ve/veya protein adsorbsiyonu mekanizmasının etkilerini değerlendirmek amacıyla ayrı ayrı proses edilen %65 yağlı krema ve yağsız

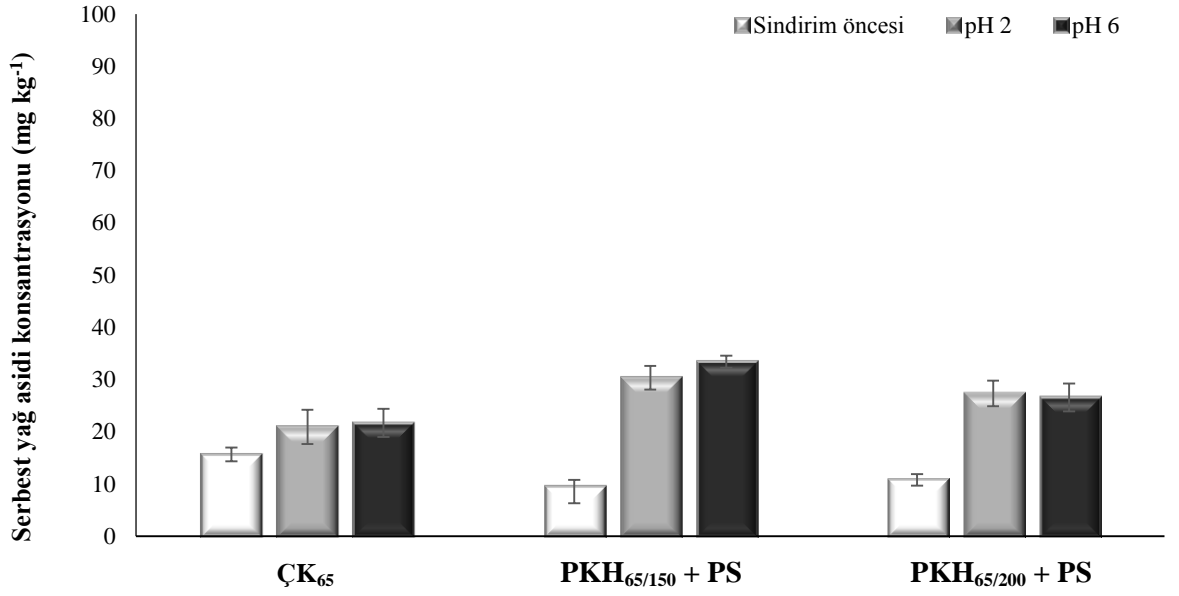
süt serum fazı homojenizasyon ve ısıl işlem uygulamalarından sonra karıştırılmış ve karışım örnekleri gastrik sindirime tabi tutulmuştur. Deneme III’de referans olarak herhangi bir teknolojik işleme tabi tutulmayan çiğ süt kullanılmıştır. %65 yağlı krema 150 ve 200 bar basınç altında homojenize edildikten sonra 80 °C’de 1 dk ısıl işleme tabi tutulmuş ve ardından 80 °C’de 1 dk ısıl işlem gören yağsız süt fazı ile karıştırılarak pH 2 ve 6’da *in vitro* gastrik sindirim süreci uygulanmıştır (PKH_{65/150} +PS ve PKH_{65/200}+PS). Genel olarak, pH 2 ve 6’da gerçekleştirilen gastrik sindirim uygulamasının serbest yağ asidi konsantrasyonu üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığı görülmüştür (P>0.05). Homojenize edilmiş yağların referans çiğ süt yağına oranla daha yüksek bir sindirim etkinliğine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5a). Homojenizasyon basıncının artması ile birlikte gastrik sindirim pH’sından bağımsız bir yağ sindirim etkinliği artışı kaydedilmiştir. Bu artış özellikle kısa zincirli yağ asitleri bakımından daha belirgin bulunmuştur (Şekil 4.5b). Buna karşın; 200 bar basınç uygulanan örneklerde orta zincirli serbest yağ asidi düzeyinin 150 bar basınç uygulanan örneklere oranla kısmen daha düşük olduğu görülmüştür (Şekil 4.5c). Gastrik ve pankreatik sindirim sırasında TG hidrolizasyonu sonucu kısa ve orta zincirli yağ asidi



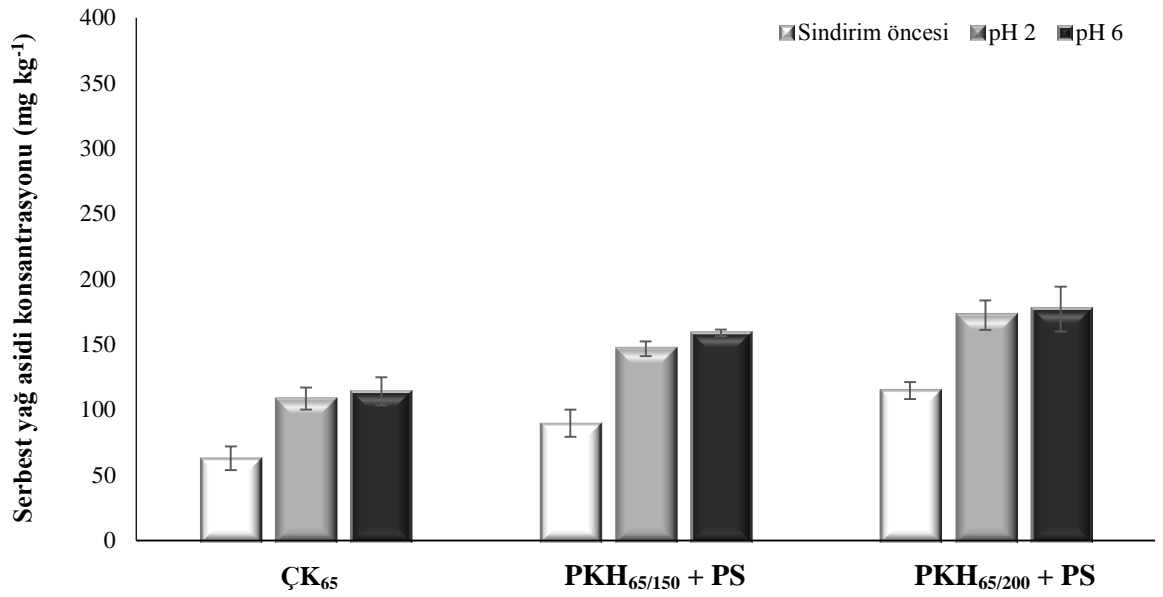
Şekil 4.5 Homojenizasyon sonrası ısıl işlem gören %65 yağlı krema ile 80 °C’de 1 dk ısıl işlem gören yağsız süt karışımının *in vitro* gastrik sindirim sonrası a) toplam serbest yağ asitleri (C₂-C_{18:1}) konsantrasyonu değişimi (n=2)



b) kısa zincirli serbest yağ asitleri (C₂-C₆) konsantrasyonu değişimi (n=2)



c) orta zincirli serbest yağ asitleri (C₈-C₁₂) konsantrasyonu değişimi (n=2)



d) uzun zincirli serbest yağ asitleri (C₁₄-C_{18:1}) konsantrasyonu değişimi (n=2)

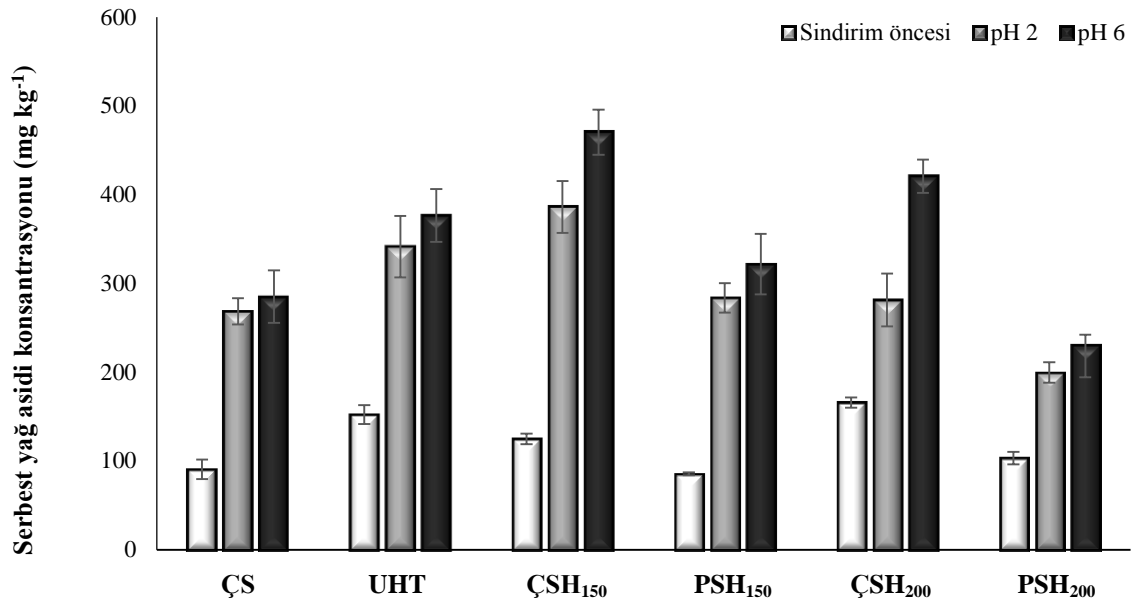
konsantrasyonunun uzun zincirli yağ asidi konsantrasyonuna oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Fave vd. 2004). Ayrıca, *sn*-1 ve *sn*-3 pozisyonundaki yağ asitlerinin *sn*-2 pozisyonundaki yağ asitlerine oranla daha etkin bir hidrolizasyona uğradığı da ifade edilmektedir (Zuniga ve Tronosco 2012). Bu çalışma kapsamında ise literatür bulgularının aksine gastrik sindirim sonrası uzun zincirli yağ asidi konsantrasyonu kısa ve orta zincirli yağ asitleri düzeyinden yüksek bulunmuştur.

4.3 Krema örneklerinin *in vitro* pankreatik sindirim sonrası lipid sindirim ürünleri profili

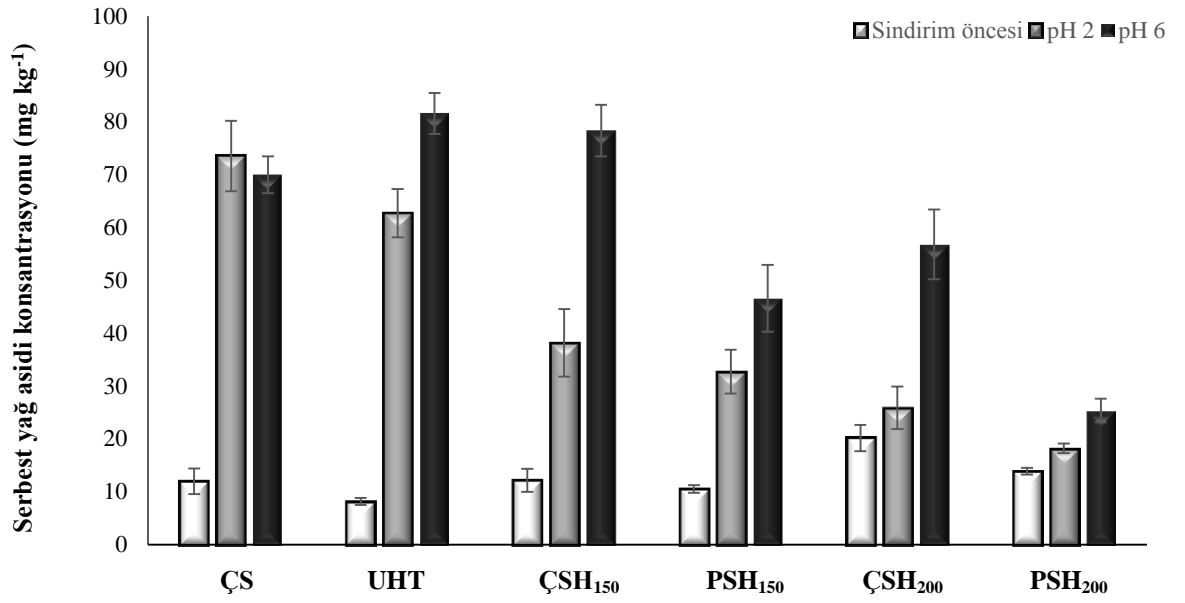
4.3.1 Homojenizasyondan önce ya da sonra ısıl işlem uygulanan süt örneklerinin *in vitro* pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri (Deneme I)

Deneme örneklerinin *in vitro* pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asidi profilleri değişimini izlemek amacıyla gastrik sindirim sonrası sindirim ürünlerinin pH değerleri 7.5'e ayarlanmıştır. Bu bölümde sunulan grafiklerde kullanılan pH 2 ve pH 6 ifadeleri yalnızca gastrik sindirimin sırasıyla pH 2 ve pH 6'da gerçekleştirildiğini belirtmektedir. Homojenize edilmiş ve edilmemiş süt örneklerinde *in vitro* pankreatik sindirim sonrası

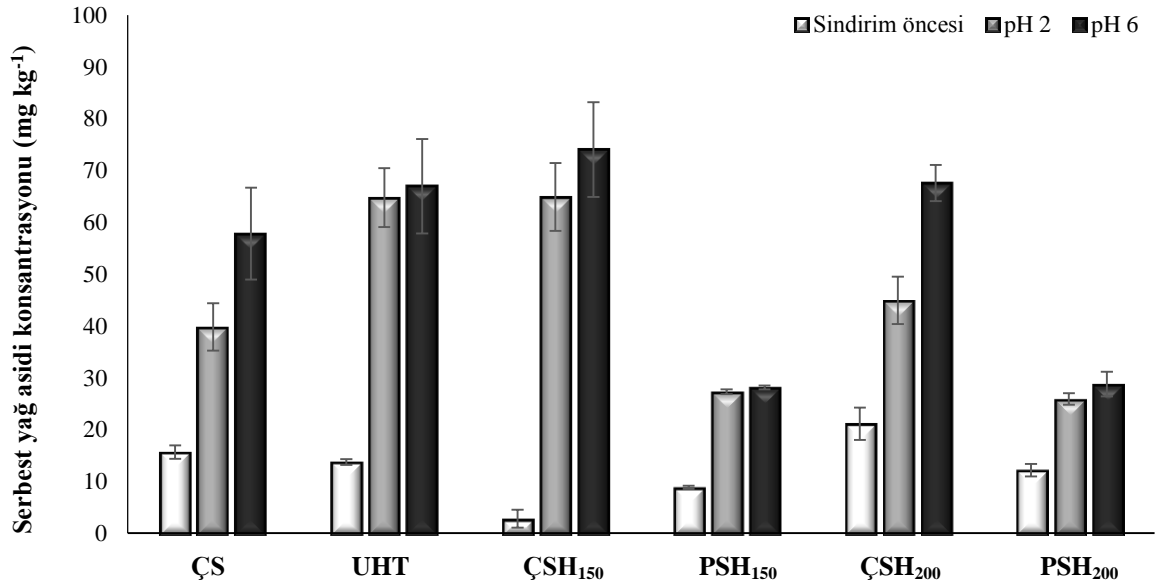
serbest yağ asidi değişimleri üzerine ısı işlemin etkileri Şekil 4.6a-d’de sunulmaktadır. Genel olarak; teknolojik uygulamalardan bağımsız olarak süt yağının gastrik sindirim aşamasında da enzimatik hidrolizasyona uğradığı (Şekil 4.3a-d), ancak beklenildiği üzere pankreatik sindirim aşamasında lipid hidrolizasyonunun belirgin bir şekilde yüksek seyrettiği görülmüştür. Gastrik sindirim sonrası serbest yağ asidi değişim profillerine benzer şekilde homojenizasyon basıncının artması ile birlikte homojenizasyon sonrası ısı işlem gören örneklerde (ÇSH₁₅₀ ve ÇSH₂₀₀) yağların *in vitro* pankreatik sindirim etkinliğinde kısmi bir artış gözlenmiştir. Buna karşın; önce ısı işlem uygulandıktan sonra homojenize edilen örneklerde (PSH₁₅₀ ve PSH₂₀₀) toplam serbest yağ asidi düzeyleri daha düşük bulunmuştur. Her iki homojenizasyon basınç koşulunda da benzer sonuçlar kaydedilmiştir. Bu durumun- gastrik sindirim sürecinde de tartışıldığı üzere- homojenizasyon ile yağ globüllerinin küçülmesine bağlı oluşan yüzey alanı artışı ve yüzey gerilimlerinin azalmasına bağlı olarak kazeinlerin yağ globül yüzeyine adsorbsiyon kapasitelerindeki artış ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, ısı işlem ile tetiklenmiş süt serum proteini-MFGM yüzey proteini interaksiyonuna bağlı olarak lipaz etkinliğinin zayıflamasının da bu azalmada etkili olduğu düşünülmektedir.



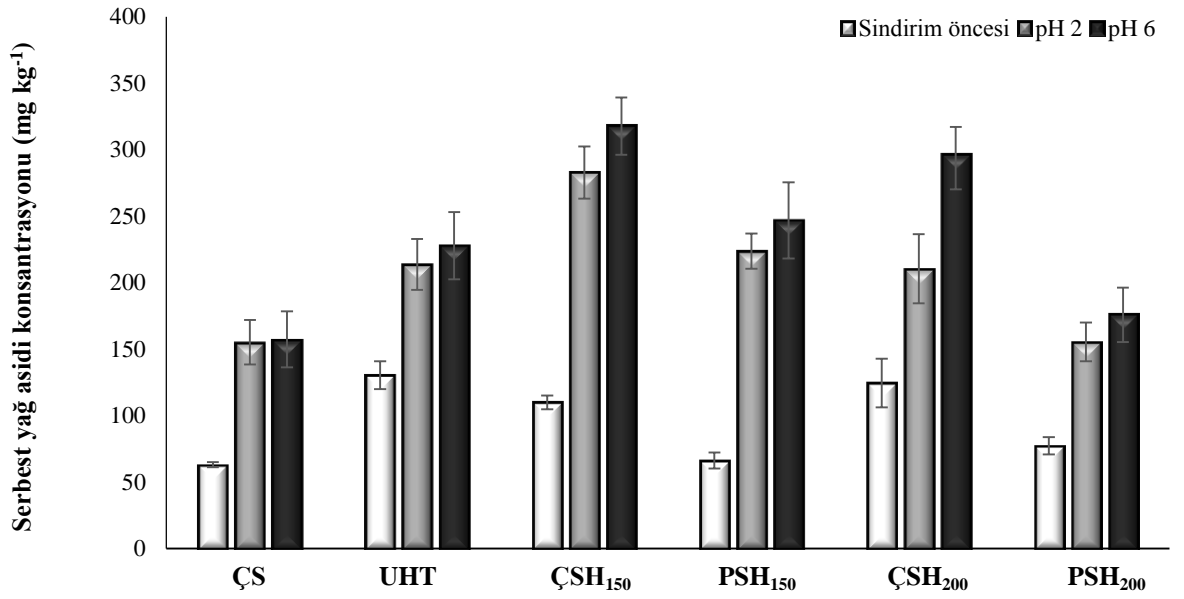
Şekil 4.6 Homojenizasyon sonrası ya da öncesi ısı işlem uygulanan süt örneklerinin *in vitro* pankreatik sindirim sonrası a) toplam (C₂-C_{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)



b) kısa zincirli (C₂-C₄) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)



c) orta zincirli (C₈-C₁₂) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)



d) uzun zincirli (C₁₄-C_{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)

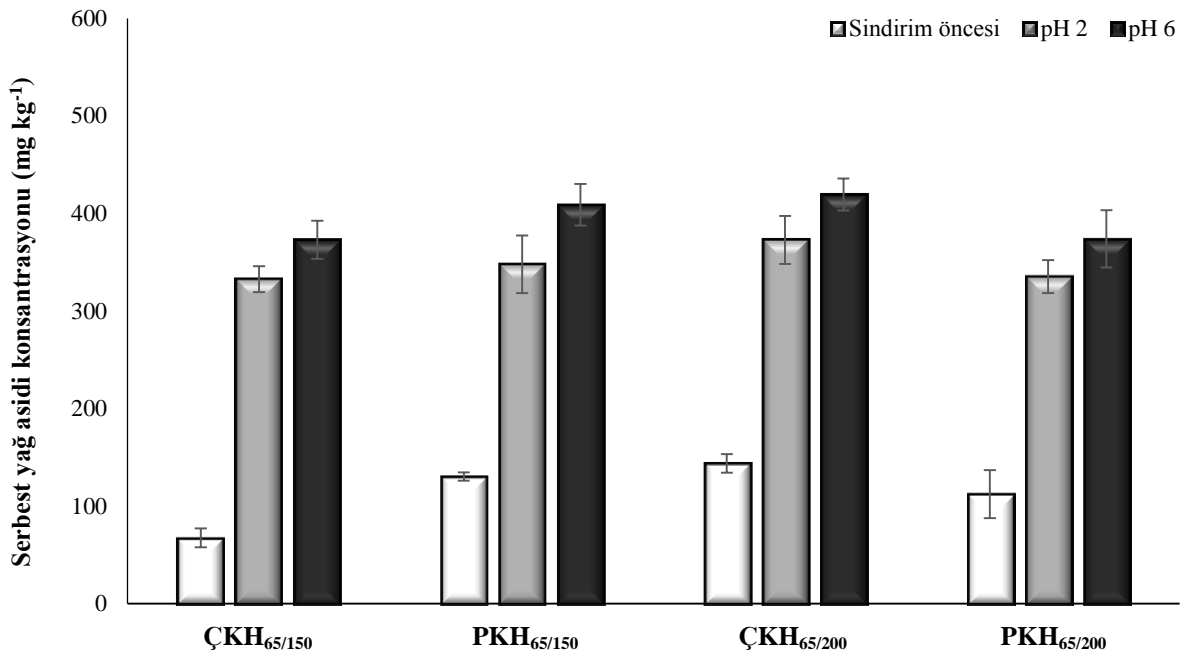
Lipazın ana substratı olan yağ asitlerine erişimi önünde oluşan fiziki bir protein bariyerinin lipaz-substrat ilişkisini kısmen engellediği düşünülmektedir. Homojenize edilmemiş çiğ sütlerde (ÇS) süt yağının pankreatik sindirim etkinliği 200 bar basınç uygulanmış pastörize süt örneklerinin (PSH₂₀₀) yağ sindirim etkinliğinden kısmen daha yüksek bulunmuştur. Kısa (C₂-C₆) ve orta (C₈-C₁₂) zincirli yağ asitleri bakımından homojenize edilmemiş çiğ süt (ÇŞ), UHT süt ve 150 bar basınç uygulanan ve ardından ısıtılma tabii tutulan örnekler (ÇSH₁₅₀) arasında belirgin bir pankreatik sindirim düzeyi farkı gözlenmezken (P>0.05), ısıtılma sonrası homojenize edilen örneklerde her iki basınç grubunda da kısa ve orta zincirli serbest yağ asidi oluşumunun kısmen baskılandığı belirlenmiştir (Şekil 4.6b-c).

Yağların HPL aracılığı ile hidrolizasyonunda kolipaz ve safra tuzları varlığı zorunludur (Bernback vd. 1989, Berton vd. 2009). Safra tuzları; i) ara yüzeyi kaplayarak, ii) TG/su arayüzeyinde adsorbe olan moleküller (protein, polar lipid vb.) ile yer değişimi gerçekleştirerek, iii) lipoliz ürünleri ile (yağ asitleri, di- ve mono-açıl gliserol vb.) misel oluşturarak lipid sindirim mekanizmasına katılmaktadır (Berton vd. 2012). Doğal süt yağında yer alan TG'nin HPL ile hidrolizasyonu bir lag fazını barındırırken, homojenize yağ globüllerinin sindirimi sırasında bu faz oluşmamaktadır (Berton vd. 2012). Lag

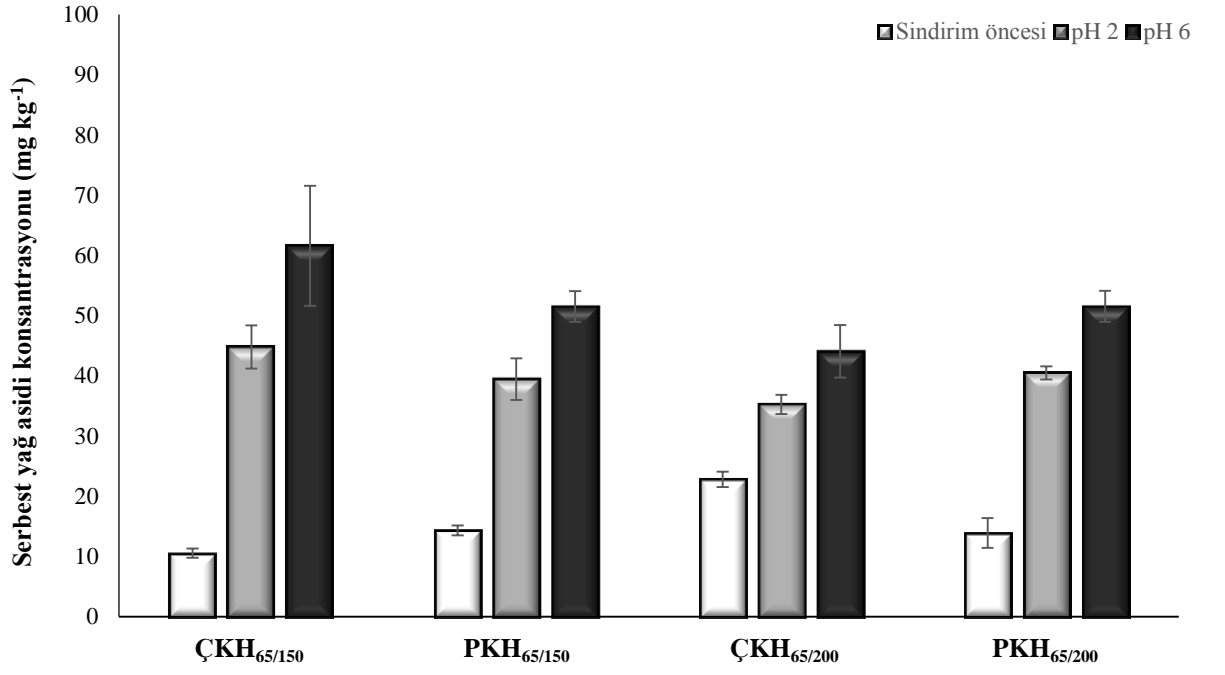
fazının oluşmamasının temel nedeni serbest yağ asitlerinin varlığıdır. Sindirim ortamına gastrik sindirimi simüle etmek amacıyla serbest yağ asitleri ilavesi ile lag fazının baskılandığı gösterilmiştir (Bernback vd. 1989, Berton vd., 2009). Sindirim sırasında oluşan serbest yağ asitleri MFGM'ın yeniden yapılanmasında rol oynamakta ve safra tuzları ile kolipaz varlığında enzim aktivasyonunu ve dolayısıyla lag fazının sonlanmasını sağlamaktadır (Brockman 2000). Serbest yağ asitlerinin, kolipazın spesifik interaksiyonlar yoluyla HPL'nin yağ globül yüzeyine bağlanmasını kolaylaştırıcı rol oynadığı bilinmektedir (Borgstrom ve Erlanson-Albertsson 1982, Momsen vd. 1997). Homojenizasyon sonrası üçlü tabaka (trilayer phase) yapısının bozulmasının ardından süt proteinlerinin homojenize yağ globüllerinin yüzeyini kaplaması ile birlikte HPL'nin TG'ye erişiminin kolaylaştığı ve sindirim etkinliğinin arttığı da ileri sürülmektedir (Berton vd. 2012). Yağ/su arayüzeyinde lokalize olan enzimlerin aktiviteleri substrat konsantrasyonu ve arayüzeyin kullanılabilirliği/erişilebilirliği ile doğrudan ilişkilidir (Benzonana ve Desnuelle 1965, Verger ve Haas 1976). Lipid hidrolizasyon mekanizması ısı işlem uygulamasından bağımsız değerlendirildiğinde küçük yağ globüllerinin lipaz etkisine daha açık olduğu ortaya konulmuştur (Berton vd. 2012). Ye vd. (2010) farklı boyutlara sahip (2.1 µm ve 0.32 µm) ancak yüzey yükleri aynı olan lipidlerin pankreatin aracılığı ile sindirimi sonrası serbest yağ asidi profillerinin benzer olduğunu ortaya koymuştur. Süt yağının sindirimi sırasında oluşan fizyokimyasal değişimler (flokülasyon/agregasyon, disosiyasyon, koalesens vb..) safra tuzları ve HPL aktivitesine göre değişkenlik göstermektedir. Homojenize yağlar, başlangıç boyutlarından bağımsız şekilde aynı fizyokimyasal özelliklere sahip yeni bir yapılanmaya gitmektedir. Bu durum, globül boyutundan bağımsız bir HPL etkisi ile açıklanmaktadır. Dolayısıyla, sindirime etkinliği açısından yağ globülünün kompozisyonu ve arayüzey özellikleri globül boyutundan daha önemli bir parametredir.

4.3.2 Homojenizasyon öncesi ya da sonrası ısıl işlem uygulanmış %65 yağlı krema örneklerinin *in vitro* pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri (Deneme II)

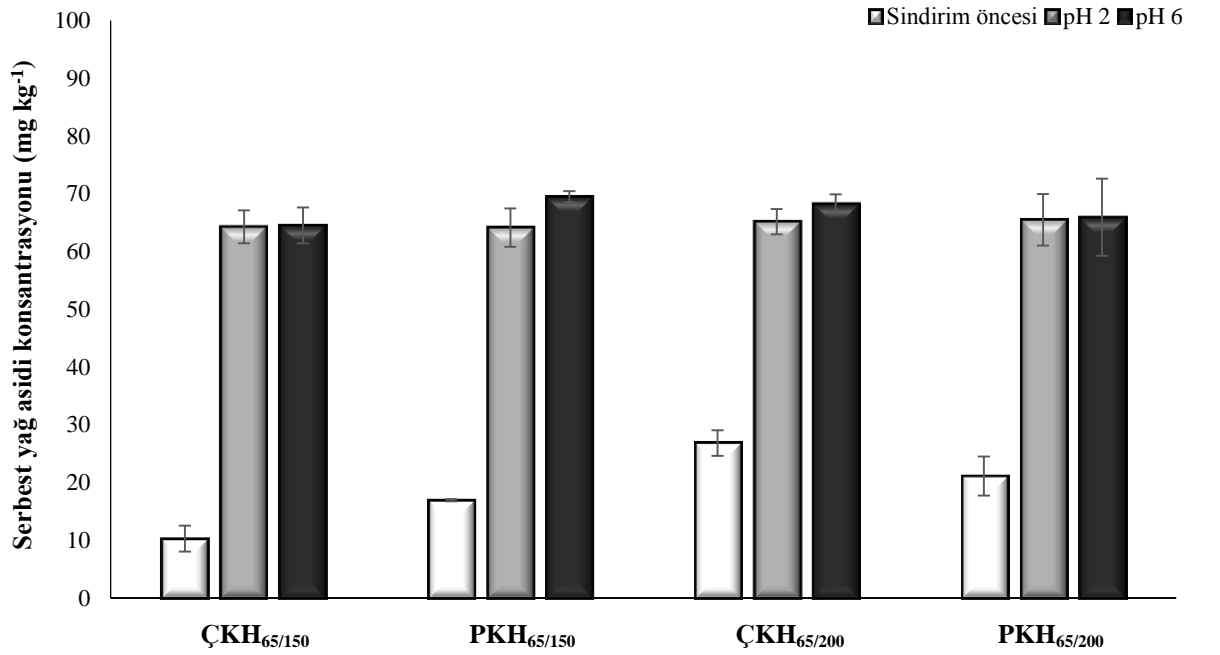
Çiğ ve ısıl işlem görmüş %65 yağlı krema örneklerinin *in vitro* pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asitleri konsantrasyonları Şekil 4.7a-d'de sunulmaktadır. Genel olarak; pankreatik sindirim aşamasında, sütün proteince yoğun serum kısmından büyük ölçüde arındırılmış kremalar birbirlerine yakın düzeylerde toplam serbest yağ asidi konsantrasyonuna sahip bulunmuştur. Homojenizasyon basıncı ve ısıl işlem



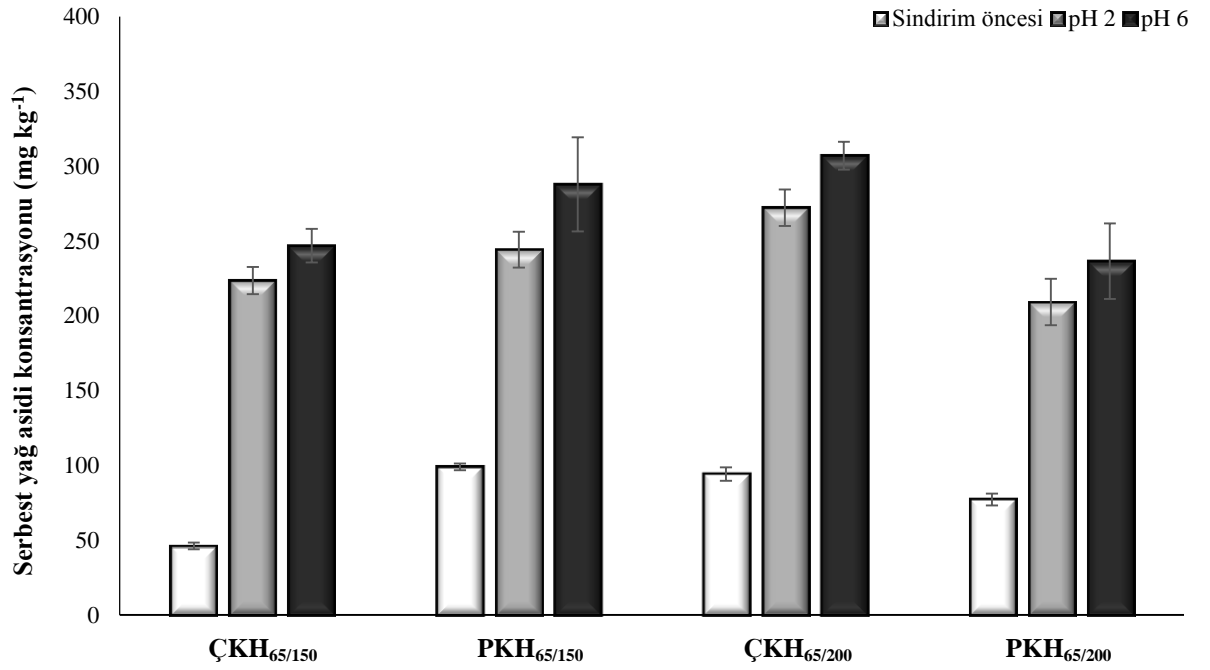
Şekil 4.7 %65 yağlı homojenize krema örneklerinin *in vitro* pankreatik sindirim sonrası a) toplam serbest yağ asitleri(C₂-C_{18:1}) konsantrasyonu değişimi (n=2)



b) kısa zincirli serbest yağ asitleri(C₂-C₆) konsantrasyonu değişimi (n=2)



c) orta zincirli serbest yağ asitleri(C₈-C₁₂) konsantrasyonu değişimi (n=2)



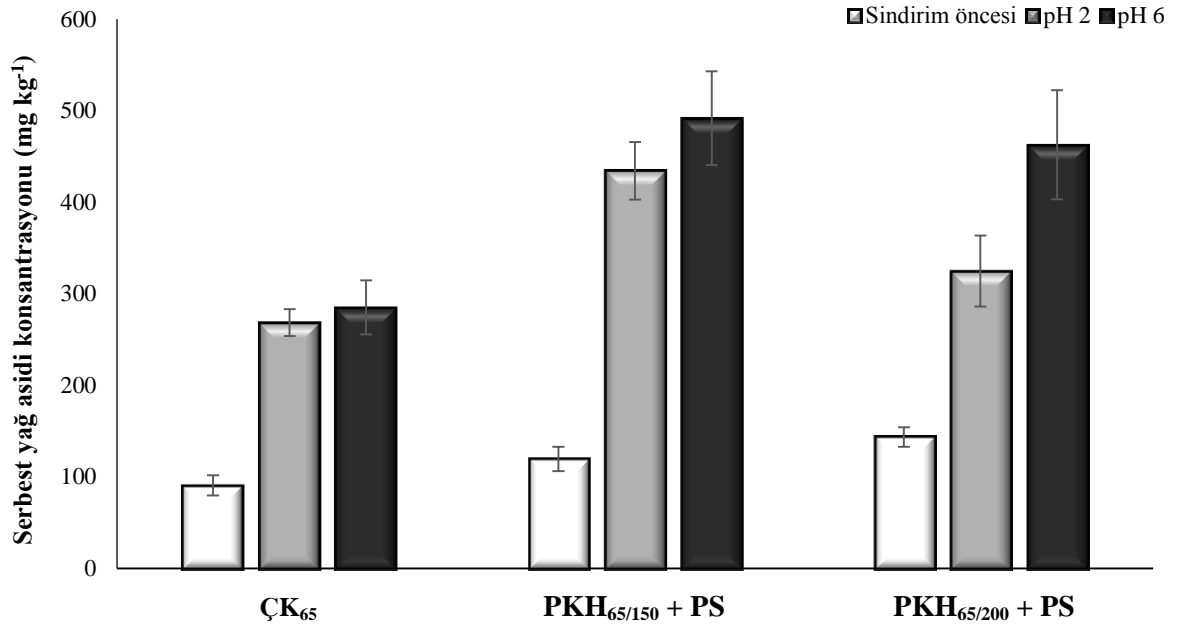
d) uzun zincirli serbest yağ asitleri (C₁₄-C_{18:1}) konsantrasyonu değişimi (n=2)

uygulamalarının toplam serbest yağ asidi konsantrasyonları üzerindeki etkileri önemsiz bulunurken, pH 6'da *in vitro* gastrik sindirim sonrası pankreatik sindirime tabi tutulan krema örneklerinin pH 2 koşulunda gastrik sindirim uygulanan örneklerden daha yüksek düzeyde toplam serbest yağ asidi içerdiği saptanmıştır (Şekil 4.7a). Toplam yağ asitleri için geçerli olan bu durum kısa, orta ve uzun zincirli yağ asitleri için de benzer bulunmuştur (Şekil 4.7b-d). Bu bulgular aynı örneklerin gastrik sindirim sonrası serbest yağ asidi konsantrasyon dağılımları ile de uyumlu bulunmuştur. Pankreatik sindirim süreci sonrası uzun zincirli yağ asitleri konsantrasyonu (209.2-309.0 mg/kg) kısa (35.2-61.6 mg/kg) ve orta (64.1-69.4 mg/kg) zincirli yağ asitlerinden çok daha yüksek bulunmuştur.

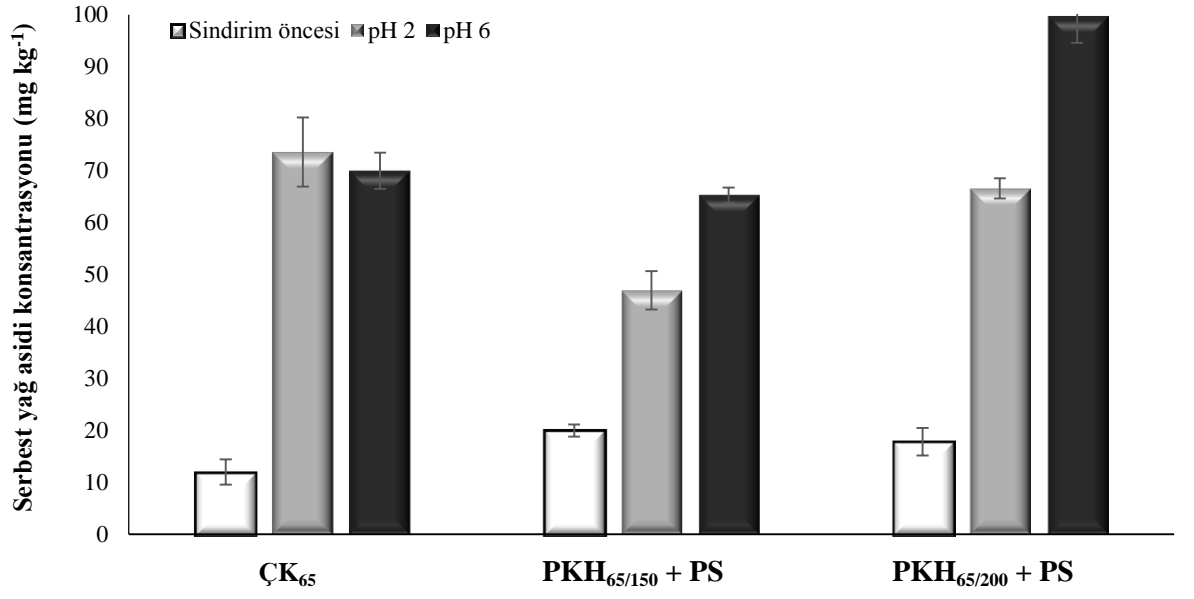
4.3.3 Homojenizasyon sonrası ısı işlem görmüş %65 yağlı krema ile ısı işlem görmüş yağsız süt karışım örneklerinin *in vitro* pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asitleri profilleri (Deneme III)

In vitro gastrik sindirim aşamasının aksine *in vitro* pankreatik sindirim aşamasında süt proteinlerinin yokluğunda yağların sindirim etkinliğinin homojenizasyon basıncı artışı

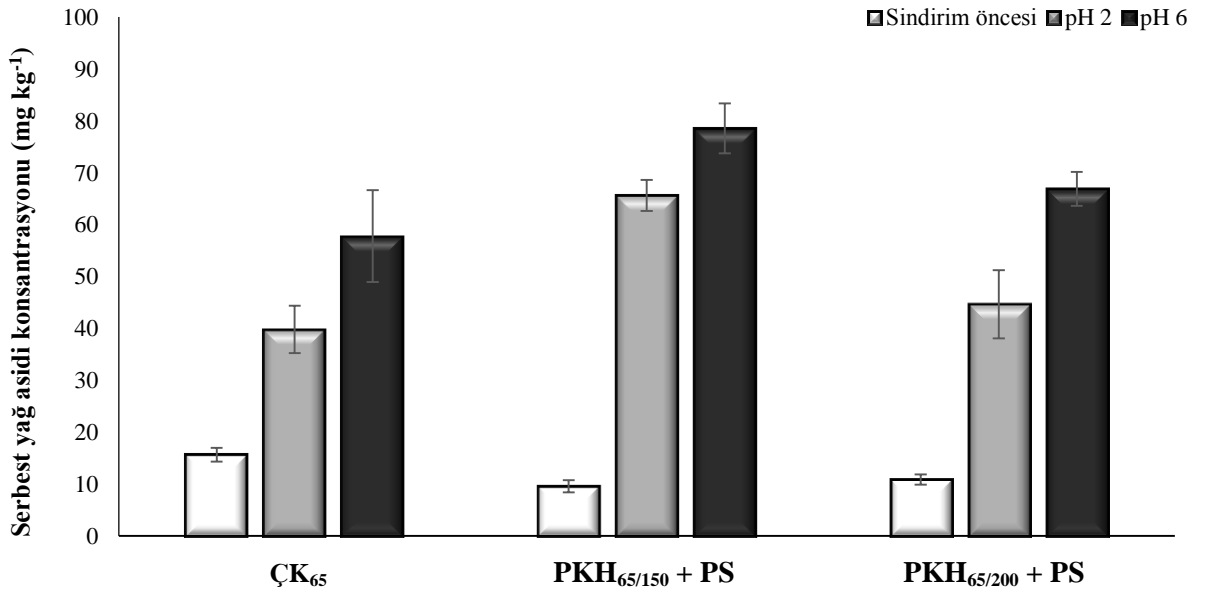
ile birlikte kısmen azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.8a-d) Hem 150 bar hem de 200 bar basınç altında homojenizasyon uygulaması sonunda örneklerin (PKH_{65/150} + PS ve PKH_{65/200} + PS) toplam serbest yağ asidi konsantrasyonları homojenize edilmemiş çiğ krema örneğine (ÇK₆₅) oranla daha yüksek bulunmuştur. Bu durum homojenizasyon uygulaması ile küçülen yağ globüllerinin yüzey alanının genişlemesine bağlı enzim-substrat temas alanının artması ile açıklanması mümkündür. Bu noktada ısıl işlem uygulamasına bağlı bir protein-protein interaksiyonunun ihmal edilebilir düzeyde olması beklenmektedir (%65 yağlı kremanın serum kısmında bulunan serum proteini konsantrasyonu düşük olduğundan çok sınırlı bir serum proteini denatürasyonu ve proteinlerarası interaksiyon meydana gelebilir). Dolayısıyla, homojenize yağ globüllerinin yüzeyinde ilave bir protein yapılanmasının olmadığı varsayıldığında yüzey alanı genişleyen yağ globülleri ile HPL'nin temasını engelleyecek fiziksel bir bariyer bulunmayacaktır.



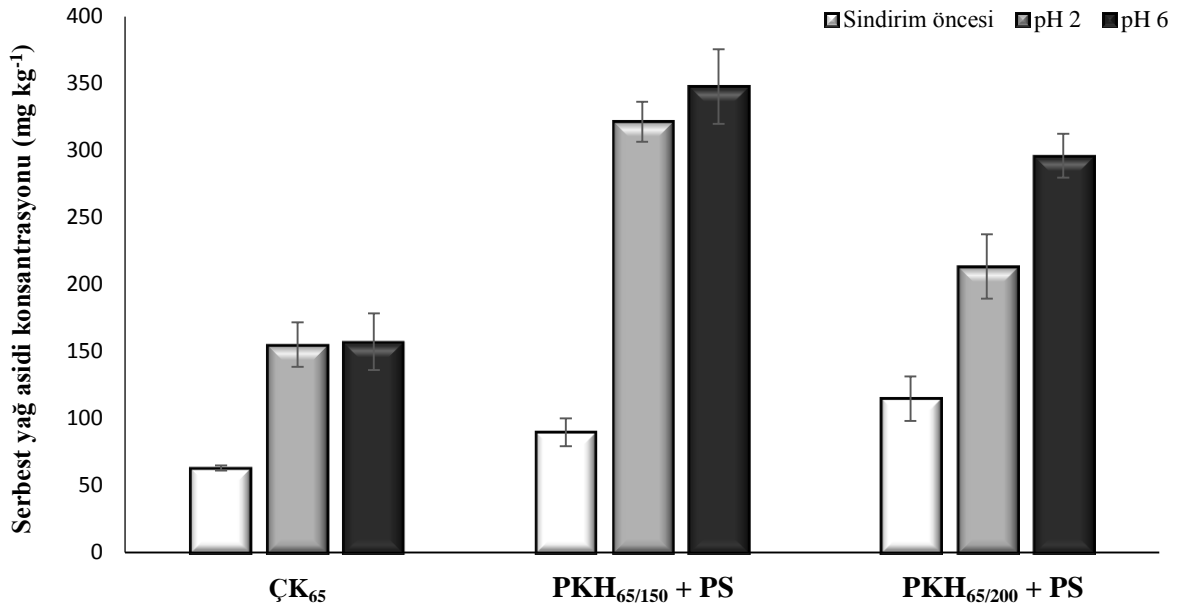
Şekil 4.8 Homojenizasyon sonrası ısıl işlem gören %65 yağlı krema ile 80 °C'de 1 dk ısıl işlem gören yağsız süt karışımının *in vitro* pankreatik sindirim sonrası a) toplam serbest yağ asitleri (C₂-C_{18:1}) konsantrasyonu değişimi (n=2)



b) kısa zincirli serbest yağ asitleri (C₂-C₆) konsantrasyonu değışimi (n=2)



c) orta zincirli serbest yağ asitleri (C₈-C₁₂) konsantrasyonu değışimi (n=2)



d) uzun zincirli serbest yağ asitleri (C₁₄-C_{18:1}) konsantrasyonu değişimi (n=2)

Bu gerekçeler ile %65 yağlı homojenize krema ile yağsız süt karışımının *in vitro* pankreatik sindirimi sonrası toplam serbest yağ asidi konsantrasyonu homojenize edilmemiş çiğ kremaya (ÇK₆₅) oranla daha yüksek bulunmuştur. *In vitro* pankreatik sindirim sonrası toplam serbest yağ asidi konsantrasyonu *in vitro* gastrik sindirim pH'sından önemli düzeyde etkilendiği ve özellikle 200 bar basınç koşulunda homojenize edilen ve pH 6'da *in vitro* gastrik sindirime tabi tutulan örneklerin pankreatik sindirim ürünleri konsantrasyonun pH 2'de gerçekleştirilen sindirime oranla yüksek olduğu ortaya konulmuştur. Bu farklılığın tüm serbest yağ asidi grupları için geçerli olduğu bulunmuştur.

4.4 Homojenizasyon sonrası ısı işlem uygulanan süt, pastörize %65 yağlı krema ve pastörize %65 yağlı krema ile pastörize yağsız süt karışım örneklerinin bağırsak emilim sonrası serbest yağ asitleri konsantrasyonları (Deneme I, II ve III)

In vitro koşullarda gerçekleştirilen gastrik ve pankreatik sindirim çalışmaları sonucunda elde edilen bulgular 150 bar ve 200 bar homojenizasyon basınç uygulamaları arasında belirgin farklılıkların olmadığını göstermiştir. Bu tez çalışmasının temel hedefi

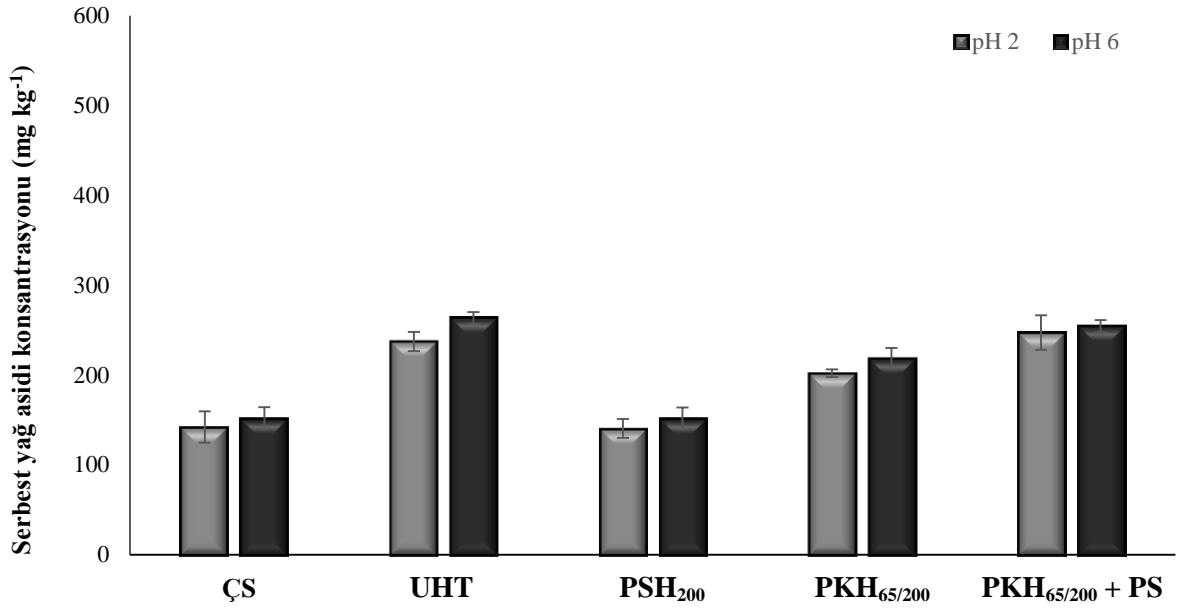
endüstriyel süt işleme uygulamalarının (homojenizasyon ve ısıl işlem uygulama sırası) süt yağının sindirim ve emilimi üzerine etkilerinin olup olmadığının belirlenmesidir. Bu nedenle; *in vitro* gastrik ve pankreatik sindirim çalışmalarında bu teknolojik proseslerin etki mekanizmaları hakkında fikir edinmek amacıyla çiğ ve pastörize ürün grupları ve farklı homojenizasyon basınçları ile çalışılmıştır. Endüstriyel ölçekte süt yağının homojenizasyonu 200-220 bar basınç altında gerçekleşmektedir. Bu nedenle, hücre emilim çalışmaları pastörize edilmiş ve 200 bar basınç altında homojenizasyona tabi tutulmuş örnek grupları ile gerçekleştirilmiştir.

Sütün, %65 yağlı kremanın ve ayrı ayrı proses edilen süt yağı ve yağsız süt karışımının *in vitro* gastrik ve pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asitleri konsantrasyonlarında gözlenen belirgin farklılıklar (**Şekil 4.9 ve 4.10**) hücre emilim sonrası toplam serbest yağ asidi düzeyleri bakımından da tespit edilmiştir (**Şekil 4.11a**).

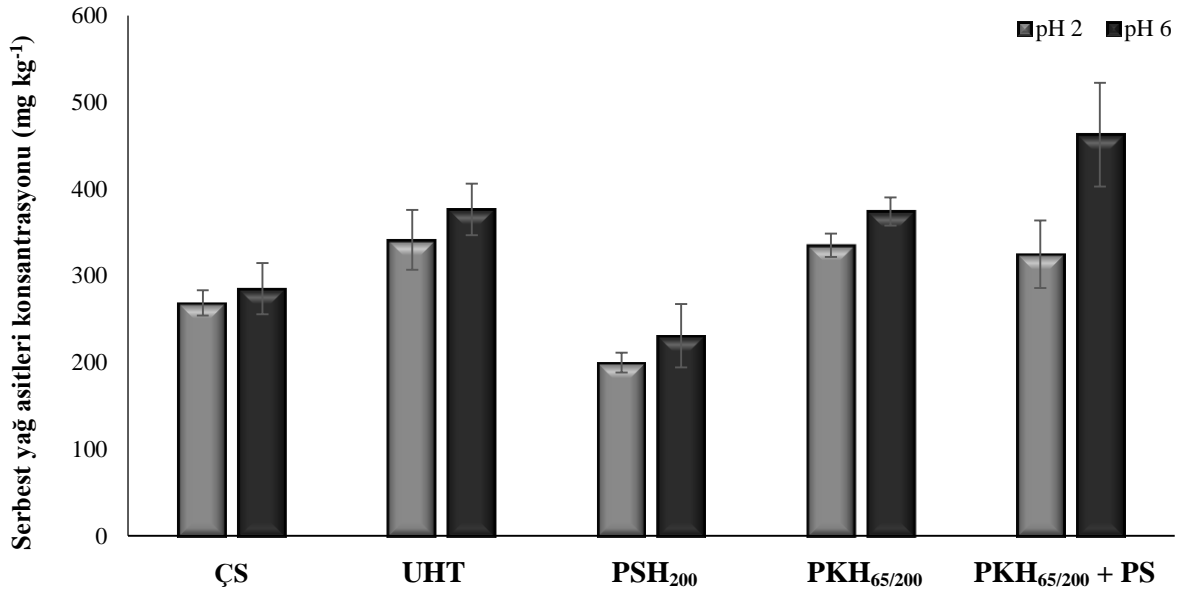
Ticari UHT süt örneklerinde serbest yağ asidi hücre emilim düzeyi ile PKH_{65/200} ve PKH_{65/200}+PS örneklerinin serbest yağ asidi hücre emilim düzeyleri birbirine yakın bulunmuştur (**Şekil 4.11a**). PKH_{65/200} ve PKH_{65/200}+PS örnekleri PSH₂₀₀ örneğine oranla daha yüksek düzeyde kısa zincirli serbest yağ asidi absorpsiyonunun gerçekleştiği örnekler olarak belirlenmiştir (**Şekil 4.11b**).

Hiçbir örnekte uzun zincirli yağ asidi absorpsiyonu tespit edilmezken, UHT süt örneğinin kısmen daha yüksek düzeyde uzun zincirli serbest yağ asidi emilimine sahip olduğu belirlenmiştir (**Şekil 4.11c**). Tüm örnek gruplarında serbest yağ asitlerinin hücre emilim düzeyleri üzerine gastrik sindirim pH'sının belirgin bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Genel olarak; *in vitro* gastrik ve pankreatik sindirim sonrası elde edilen serbest yağ asidi dağılım profili ile aynı örneklerin hücre emilim profilleri benzerlik göstermiştir.

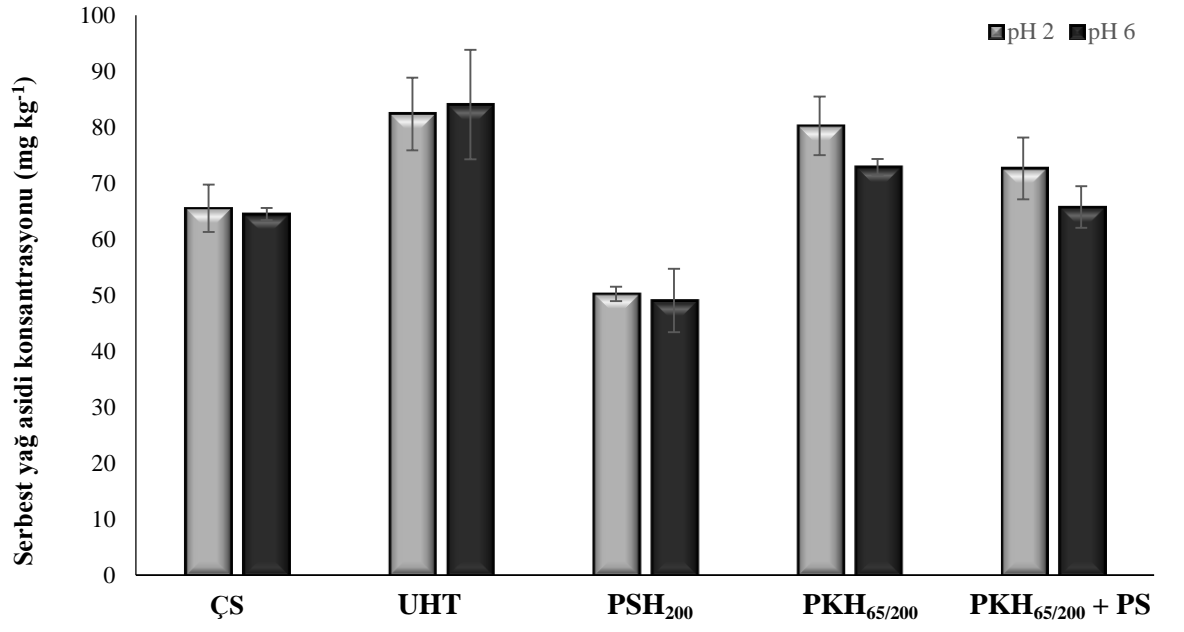
Bir yağ globülünün lipid kompozisyonu doymamış yağ asitlerinin uzunluğu ve doymamışlık derecesi ile yakından ilişkilidir (Prieto vd. 2003). Yağ globülünün boyutu arttıkça TAG/HPL oranı da değişmektedir. Dolayısıyla, farklı boyutlardaki yağ



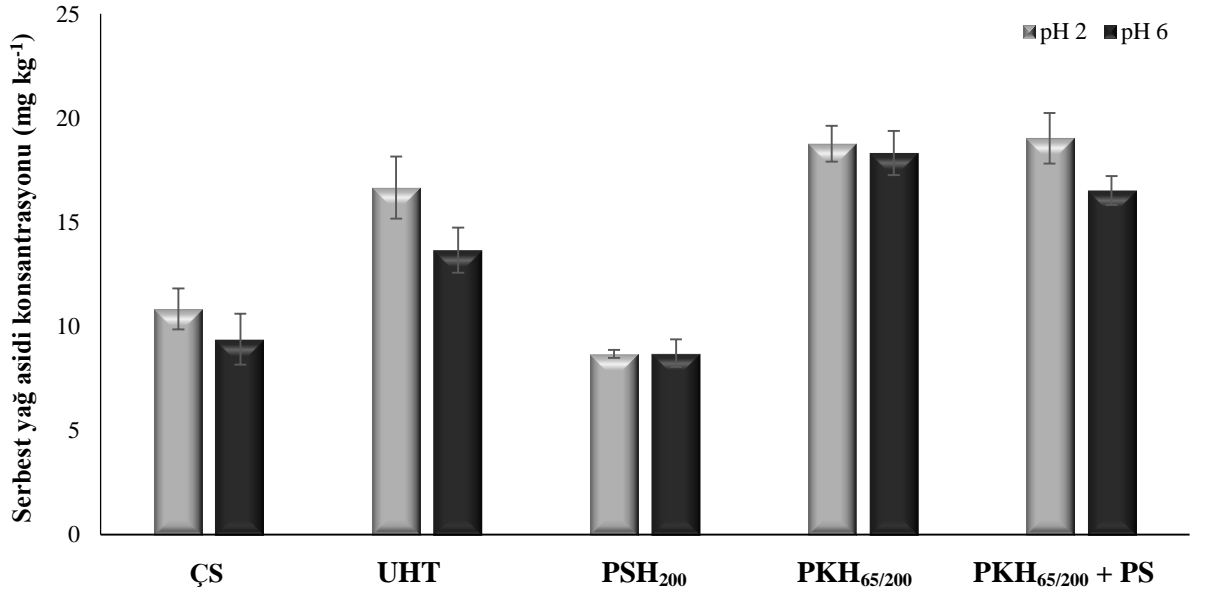
Şekil 4.9 200 bar basınç altında homojenize edilmiş ve ısıtılmış süt örneklerinin *in vitro* gastrik sindirim sonrası toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonu dağılımı (n=2)



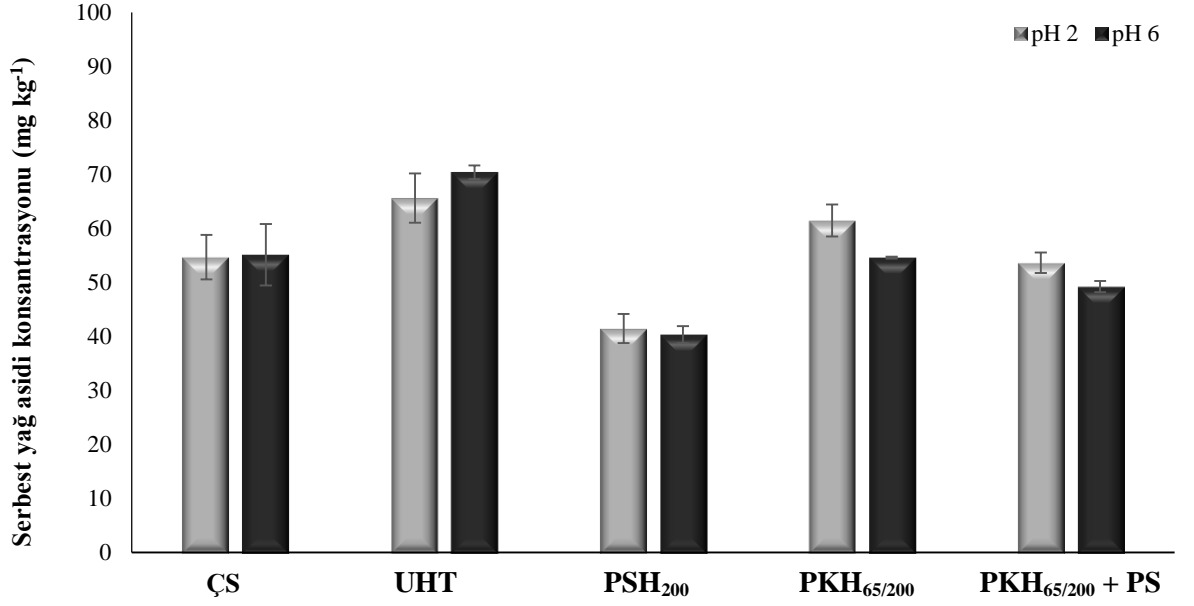
Şekil 4.10 200 bar basınç altında homojenize edilmiş ve ısıtılmış süt örneklerinin *in vitro* pankreatik sindirim sonrası toplam serbest yağ asitleri konsantrasyonu dağılımı (n=2)



Şekil 4.11 Homojenizasyon sonrası ısıt işlemler uygulanan süt örneklerinin *in vitro* hücre emilim sonrası a) toplam (C₂-C_{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)



b) kısa zincirli (C₂-C₆) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)



c) uzun zincirli (C₁₄-C_{18:1}) serbest yağ asitleri konsantrasyonu değişimi (n=2)

globülleri farklı oranlarda yağ asidi içermektedir (Argov vd. 2008b). Diyetler aracılığı ile alınan yağların uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin (polyunsaturated fatty acids; PUFA) doku ya da eritrositlerce absorpsiyonunu regüle edip etmediği konusu henüz net değildir (Sala-Vila vd., 2006). Çoklu uzun zincirli yağ asitlerinin kimyasal formunun biyoyararışlılık üzerinde etkili olup olmadığı da henüz net değildir (Alessandri vd. 1998, Amate vd. 2001, Goustard-Langelier vd. 1999, Sala-Vila vd. 2004, Wijendran vd. 2002).

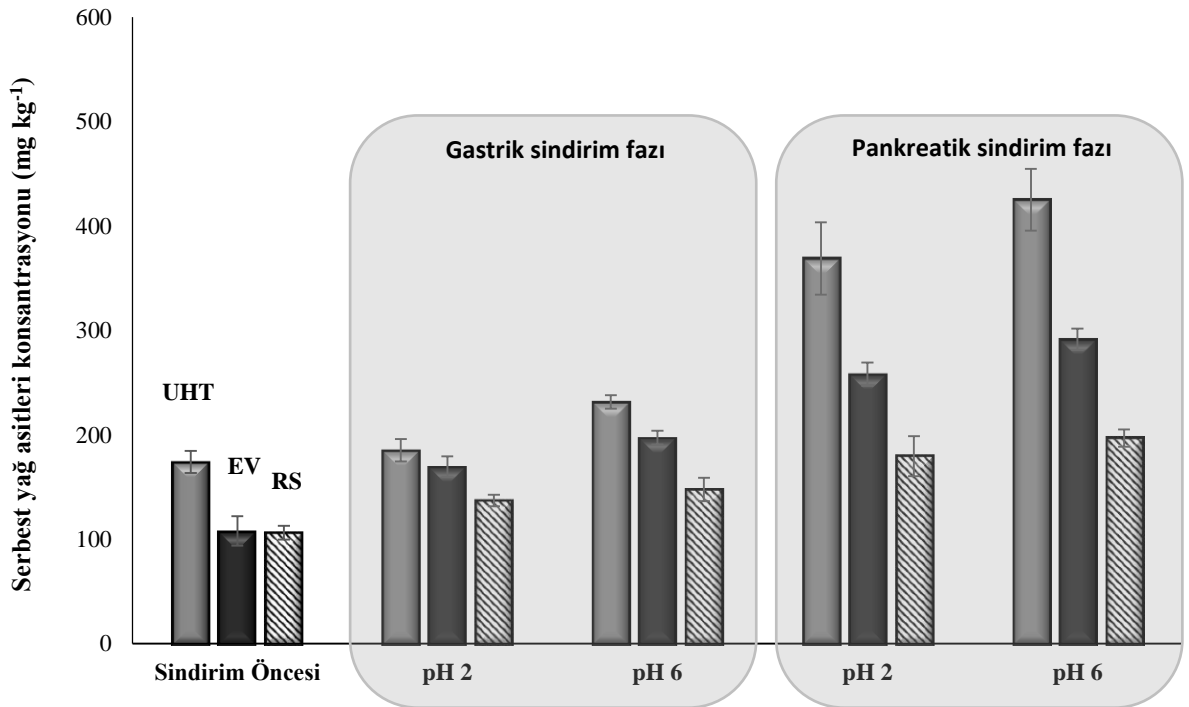
4.5 %35 kurumaddeli Evapore Süt (EV) ve %13 kurumaddeli Rekonstitüe Süt (RS)'ün *in vitro* gastrik ve pankreatik sindirim sonrası serbest yağ asitleri konsantrasyonları (Deneme IV)

Tez çalışmasının temel amacı; süt esaslı konsantre ya da instant toz formda beslenme solüsyonlarında lipid sindirim etkinliğine temel süt işleme teknolojilerinin katkısını belirlemektir. Bu amaçla; homojenizasyon basıncı, ısı işlem ve homojenizasyon uygulama sırası ile *in vitro* gastrik sindirim pH'sının lipid sindirimi ve emilimi üzerine etkileri değerlendirilmiştir (**Bkz. Bölüm 4.1-4.4**). Elde edilen bulgular sonunda; homojenizasyon uygulama basınçları (150 ve 200 bar) arasında belirgin bir farkın

oluşmadığı; ancak, yağ ve yağsız süt fazının birarada homojenizasyonu sonucunda sindirim etkinliğinin azaldığı belirlenmiştir.

Çalışmanın bu aşamasında endüstriyel düzeyde yaygın olan 200 bar homojenizasyon basıncı ile homojenize edilen ve ardından ısı işleme tabi tutulan sütlerden %35 kurumaddeli evapore konsantre süt ve instant çözünür süttozu üretilmiş ve bu ürünlerde süt yağının *in vitro* gastrik ve pankreatik sindirim etkinlikleri değerlendirilmiştir (Şekil 4.12). Sindirim etkinliği karşılaştırmasında referans olarak UHT ticari içme sütü kullanılmıştır.

Süt ve krema örneklerinin sindirim profillerine benzer şekilde evapore (EV) ve instant süttozu kullanılarak hazırlanan %13 TKM'li rekonstitüye süt (RS) örneklerinde lipid sindiriminin önemli bir bölümü pankreatik sindirim aşamasında gerçekleşmiştir. Her iki örnek grubu da UHT ticari süte oranla daha düşük bir *in vitro* gastrik ve pankreatik sindirim etkinliğine sahip bulunmuştur.



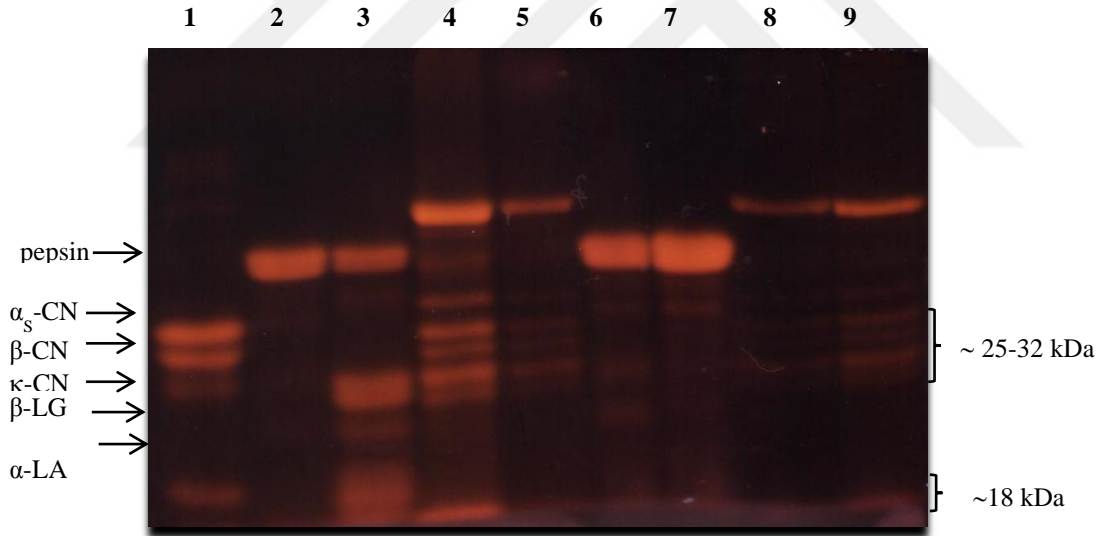
Şekil 4.12 %35 TKM'li evapore süt (EV), %13 TKM'li rekonstitüye süt (RS) ve ticari UHT süt yağının *in vitro* gastrik ve pankreatik sindirim sonrası toplam serbest yağ asidi konsantrasyonları (n=2).

UHT ticari sütlere uygulanan ısıl işlem normunun farklı olması ve endüstriyel homojenizasyon ekipmanlarının daha etkin bir homojenizasyon gerçekleştirmesine bağlı olarak bu farkın meydana geldiği düşünülmektedir. EV sütün RS süte oranla daha etkin bir lipid sindirimine sahip olması ise EV sütte birim alanda daha fazla yağın varlığı ile açıklanmaktadır. Evaporasyon işlemi sırasında tüm süt bileşenlerinde eşit düzeyde bir konsantrasyon artışı meydana gelmektedir. Homojenizasyon işleminin koyulaştırma öncesi gerçekleşmiş olmasına bağlı olarak homojenize yağların yüzey alanındaki artışın koyulaştırma faktörü ile eşit oranlı olarak gerçekleşmesi beklenmektedir. Ayrıca, EV sırasında uygulanan ısıl işlem serum proteinlerinin denatürasyon sıcaklığının altında gerçekleşmesi (60-65 °C) nedeniyle ilave bir serum proteini/MFGM yüzey protein interaksiyonu zayıf bir olasılık olarak değerlendirilmiştir. Evaporasyon sonrası birim alanda konsantrasyonu artan küçük boyutlu yağ globüllerinin HGL ve HPL ile temas yüzeylerinde de artışın meydana geldiği tahmin edilmektedir. Bu durumun doğal olarak TG üzerinde daha etkin bir HGL-HPL etkisinin oluşmasına yol açtığı düşünülmektedir. RS retiminde kullanılan instant süttozu homojenizasyon sonrası sütün yüksek sıcaklıkta toz formuna dönüştürülmüş, ardından instant süttozu rekonstitüye edilmiştir. Homojenize sütün toz forma dönüştürülmesi sırasında uygulanan yüksek ısıl işlem sonucu ilave serum proteini denatrasyonlarının meydana gelmesi kaçınılmazdır. Ayrıca, RS %13 TKM'ye sahip olduğundan (EV süt %35 TKM'ye sahiptir) birim alanda daha az lipid konsantrasyonu ve dolayısıyla daha zayıf bir HGL-HPL ve TG teması gerçekleştiği tahmin edilmektedir. Elde edilen veriler ışığında; lipid sindirim etkinliği artırılmış herhangi bir süt bazlı ürün geliştirme çalışmasında evaporasyonun instant süttozu üretimine oranla daha etkin bir teknoloji olduğu görülmektedir.

4.6 Deneme örneklerine ait elektroforetogramlar

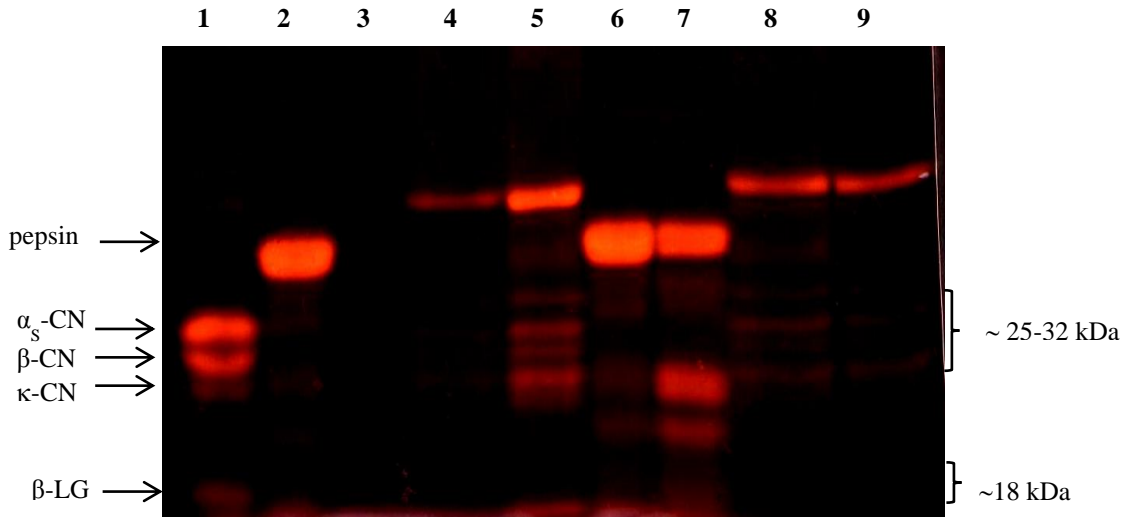
UHT ticari süt ve homojenize edilmemiş çiğ süt örneklerine ait SDS-PAGE profilleri **şekil 4.13**'de sunulmaktadır. UHT sütün pH 2'de *in vitro* gastrik sindirimi sonunda κ -CN, α -CN ve β -CN fraksiyonlarını temsil eden bantların hemen hemen kaybolduğu belirlenmiştir (hat 2). pH 6'da *in vitro* gastrik sindirim sonunda ise κ -CN'i temsil eden bandın büyük ölçüde varlığını koruduğu (hat 3) ancak çiğ sütte hem pH 2'de hem de pH 6'da gerçekleşen gastrik sindirim sonunda kazein bantlarının büyük ölçüde kaybolduğu

saptanmıştır (hat 6-7). Bu durum çiğ sütte kazeinin pepsin aracılığı ile hidrolizasyonunun sindirim pH koşulundan etkilenmediğini ancak UHT uygulaması sonunda sindirim pH'sının artışı ile birlikte özellikle κ -CN degradasyonunun sınırlandığını göstermektedir. Pankreatik sindirim sonunda UHT süt örneğinde kazein fraksiyonları ile benzer molekül ağırlığına sahip çok sayıda bandın varlığı tespit edilmiş (hat 4-5) ve bu durumun pankreatik enzim preparatının protein unsurlarından kaynakladığı değerlendirilmiştir. Çiğ ve UHT süt örneklerinin pankreatik sindirim profillerinin karşılaştırması yapıldığında ise (hatlar 4-5 ve 8-9) homojenize edilmemiş çiğ süt örneğinde proteolitik degradasyonun daha etkin gerçekleştiği görülmüştür. Isıl işlem ve homojenizasyon uygulamalarının ortak etkisi ile oluşan protein-protein interaksyonları (MFGM yüzey proteinlerinin de yer aldığı interaksyonlar dahil) sonucunda oluşan protein kompleksinin enzimatik hidrolizasyona daha dirençli olduğu belirlenmiştir.



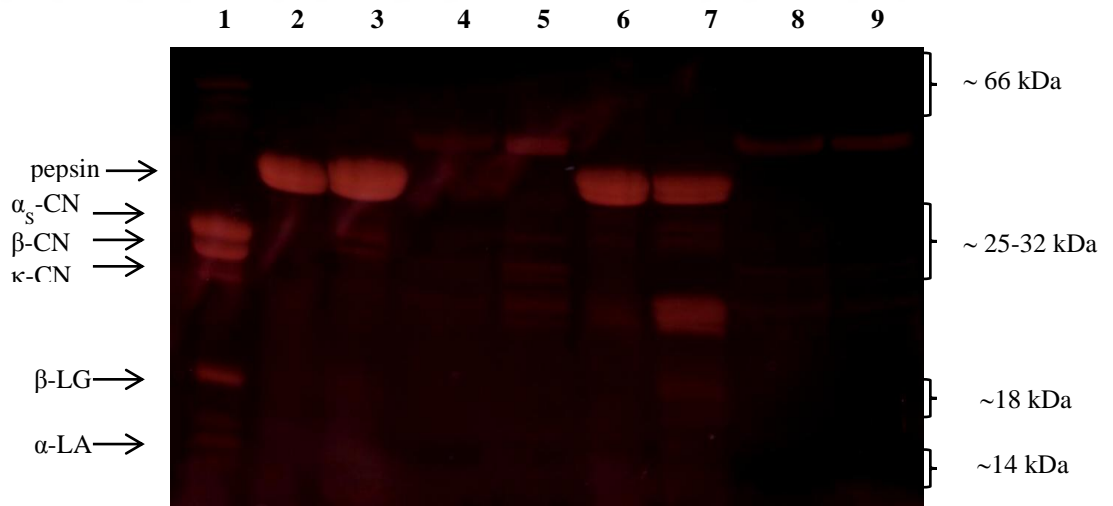
Şekil 4.13 UHT ticari süt ve homojenize edilmemiş çiğ süt (ÇS) kremalarına örneklerinin sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.

Hatlar: **1:** Referans süt (%10, w/v), **2:** UHT pH 2 gastrik sindirim sonrası, **3:** UHT pH 6 gastrik sindirim sonrası, **4:** UHT pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **5:** UHT pH 6 pankreatik sindirim sonrası, **6:** ÇS pH 2 gastrik sindirim sonrası, **7:** ÇS pH 6 gastrik sindirim sonrası, **8:** ÇS pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **9:** ÇS pH 6 pankreatik sindirim sonrası



Şekil 4.14 150 bar basınç altında homojenize edilen süt örneklerinin sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.

Hatlar: **1:** Referans süt (%10 KM), **2:** ÇSH₁₅₀ pH 2 gastrik sindirim sonrası, **3:** ÇSH₁₅₀ pH 6 gastrik sindirim sonrası, **4:** PSH₁₅₀ pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **5:** PSH₁₅₀ pH 6 pankreatik sindirim sonrası, **6:** PSH₁₅₀ pH 2 gastrik sindirim sonrası, **7:** PSH₁₅₀ pH 6 gastrik sindirim sonrası, **8:** ÇSH₁₅₀ pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **9:** ÇSH₁₅₀ pH 2 pankreatik sindirim sonrası

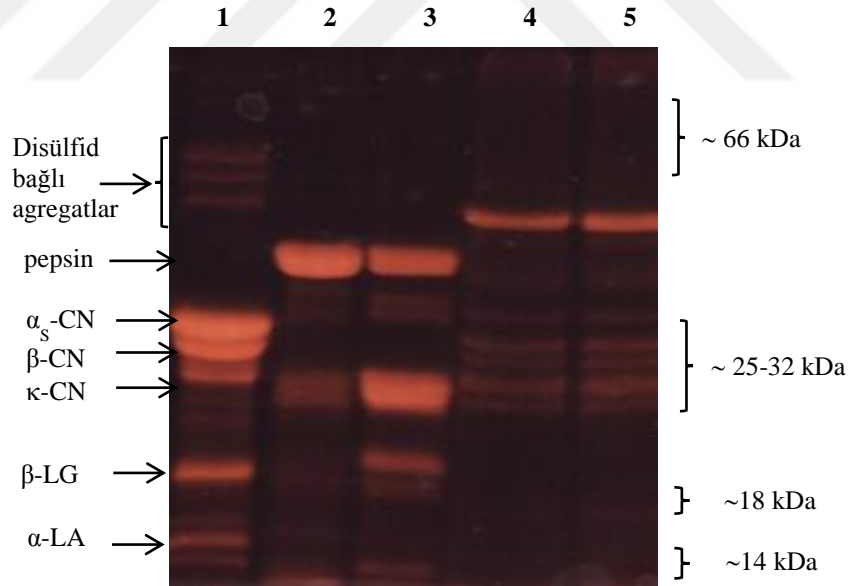


Şekil 4.15 200 bar basınç altında homojenize edilen süt örneklerinin sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.

Hatlar: **1:** Referans süt (%10 KM), **2:** ÇSH₂₀₀ pH 2 gastrik sindirim sonrası, **3:** ÇSH₂₀₀ pH 6 gastrik sindirim sonrası, **4:** PSH₂₀₀ pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **5:** PSH₂₀₀ pH 6 pankreatik sindirim sonrası, **6:** PSH₂₀₀ pH 2 gastrik sindirim sonrası, **7:** PSH₂₀₀ pH 6

gastrik sindirim sonrası, **8**: ÇSH₂₀₀ pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **9**: ÇSH₂₀₀ pH 2 pankreatik sindirim sonrası

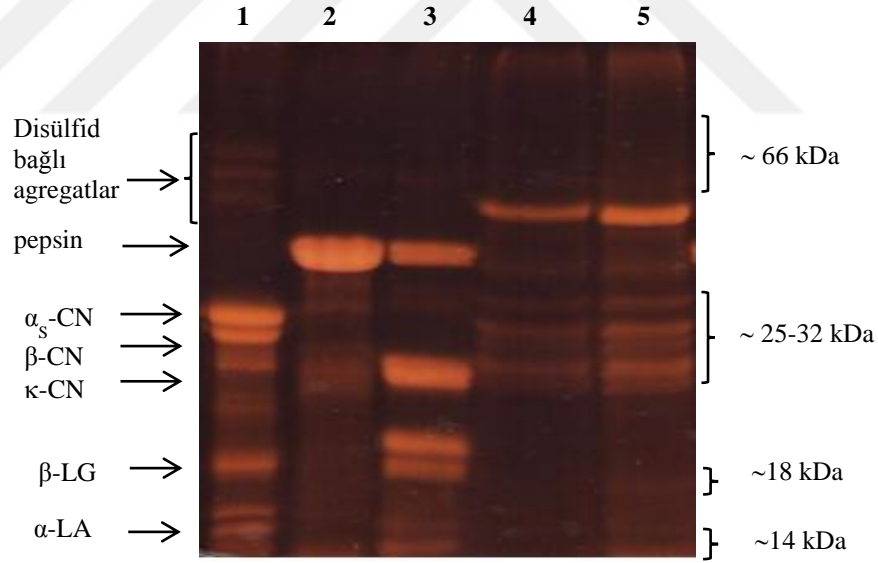
150 bar ve 200 bar basınç altında homojenize edilen ve homojenizasyon öncesi veya sonrası ısıl işleme tabi tutulan sindirim örneklerine ait elektrofortetogramlar sırasıyla **şekil 4.14** ve **4.15**'de sunulmaktadır. Burada da çiğ olarak 150 bar basınç altında homojenize edilip ardından ısıl işlem uygulanan örnek gruplarının hem gastrik (**şekil 4.14, hat 2-3**) hem de pankreatik (**şekil 4.14, hat 8-9**) sindirim sonrası protein degradasyonunun ısıl işlem gördükten sonra homojenize edilen örnek gruplarına (**şekil 4.14, hat 4-5 ve 6-7**) oranla daha yüksek gerçekleştiği görülmektedir. pH 6'da gerçekleştirilen gastrik sindirim sonrası protein hidrolizasyonunun pH 2'ye oranla daha sınırlı kaldığı belirlenmiştir (**şekil 4.14 ,hat 4-5**). Daha az belirgin olmakla birlikte benzer durum 200 bar basınç uygulanmış süt örnekleri için de geçerli bulunmuştur (**şekil 4.15, hat 4-5**).



Şekil 4.16 %65 yağlı çiğ krema (ÇK₆₅) örneklerinin sindirim ürünlerine ait elektrofortetogram.

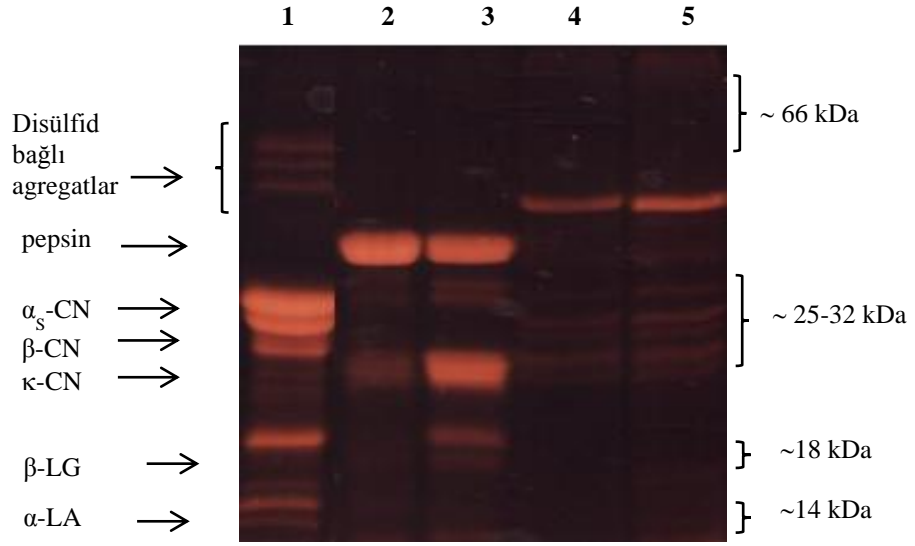
Hatlar: **1**: Referans süt (%10, w/v), **2**: pH 2 gastrik sindirim sonrası, **3**: pH 6 gastrik sindirim sonrası, **4**: pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **5**: pH 6 pankreatik sindirim sonrası

%65 yağlı homojenize edilmemiş çiğ krema örneklerine ait sindirim sonrası SDS-PAGE profilleri **şekil 4.16**'da yer almaktadır. pH 2'de gerçekleşen *in vitro* gastrik sindirim sonrası κ -CN, α -CN ve β -CN bantlarının yoğunluğunda belirgin bir azalma meydana gelirken pH 6'da gerçekleşen gastrik sindirim sonunda κ -CN'inin kısmen hidrolize olmadan kaldığı tespit edilmiştir (**hat 2-3**). pH 2 ve 6'da gastrik sindirime uğradıktan sonra pankreatik sindirime alınan örneklerde ise kazeinlerin sindirim etkinliği bakımından farklılık gözlenmemiştir (**hat 4-5**). 150 ve 200 bar basınç koşullarında homojenize edildikten sonra ısı işleme tabi tutulan %65 yağlı krema örneklerine ait SDS-PAGE elektroforetogramları sırasıyla **şekil 4.17 ve 4.18**'de sunulmaktadır. Her iki basınç koşulunda da homojenize edilmemiş örneklerde olduğu gibi pH 2'de gerçekleşen gastrik sindirim sonunda kazein fraksiyonlarının sindirim etkinliğinin pH 6'da gerçekleşen gastrik sindirime oranla daha yüksek olduğu görülmektedir. Ancak,

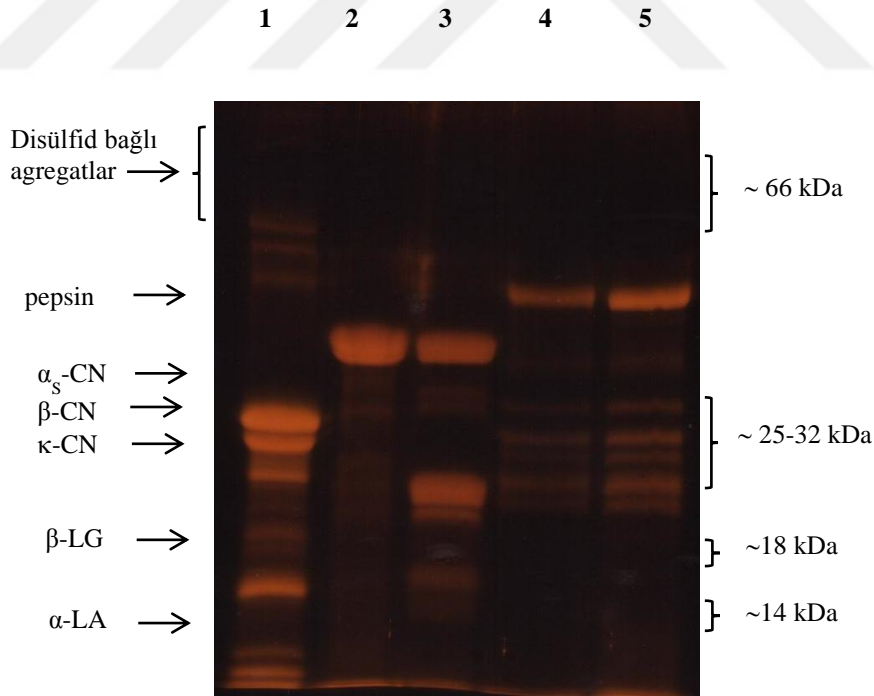


Şekil 4.17 150 bar basınç altında homojenize edilen %65 yağlı çiğ krema örneklerinin (ÇKH_{65/150}) sindirim ürünlerine ait elektroforetogram.

Hatlar: **1**: Referans süt (%10, w/v), **2**: pH 2 gastrik sindirim sonrası, **3**: pH 6 gastrik sindirim sonrası, **4**: pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **5**: pH 6 pankreatik sindirim sonrası

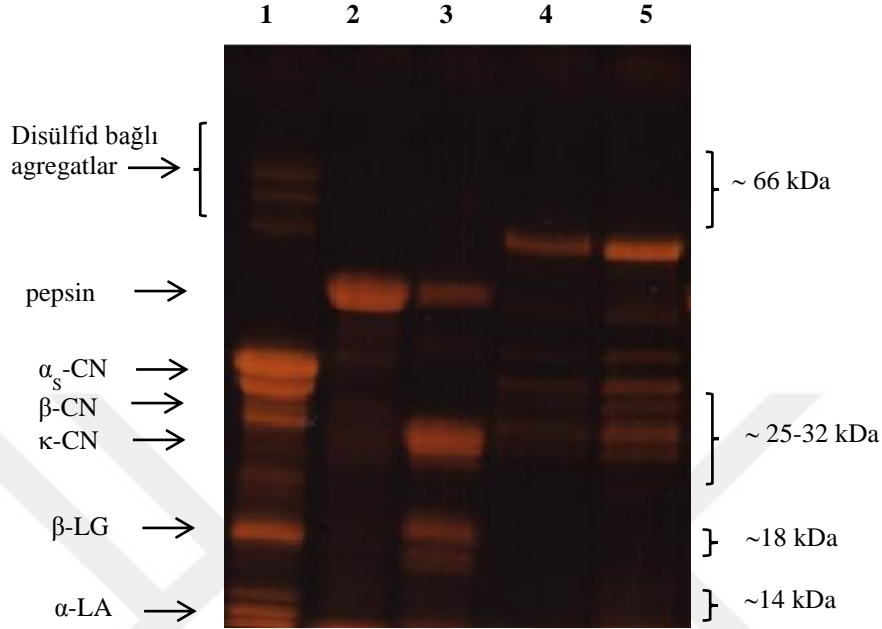


Şekil 4.18 200 bar basınç altında homojenize edilen %65 yağlı çiğ krema örneklerinin (ÇKH_{65/200}) sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.
 Hatlar: **1:** Referans süt (%10, w/v), **2:** pH 2 gastrik sindirim sonrası, **3:** pH 6 gastrik sindirim sonrası, **4:** pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **5:** pH 6 pankreatik sindirim sonrası



Şekil 4.19 150 bar basınç altında homojenize edilen %65 yağlı pastörize krema örneklerinin (PKH_{65/150}) sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.

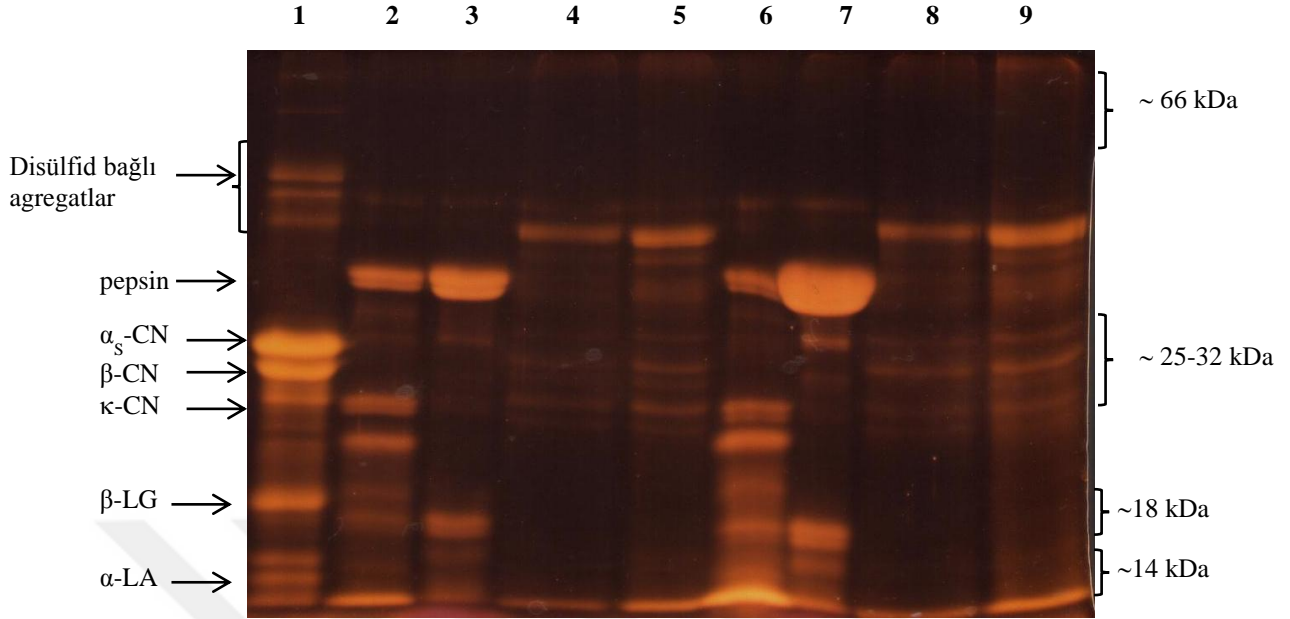
Hatlar: **1:** Referans süt (%10, w/v), **2:** pH 2 gastrik sindirim sonrası, **3:** pH 6 gastrik sindirim sonrası, **4:** pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **5:** pH 6 pankreatik sindirim sonrası



Şekil 4.20 200 bar basınç altında homojenize edilen %65 yağlı pastörize krema örneklerinin (PKH_{65/200}) sindirim ürünlerine ait elektrforetogram.

Hatlar: **1:** Referans süt (%10, w/v), **2:** pH 2 gastrik sindirim sonrası, **3:** pH 6 gastrik sindirim sonrası, **4:** pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **5:** pH 6 pankreatik sindirim sonrası

pankreatik sindirim sonrasında protein hidrolizasyonu açısından 200 bar basınç uygulanan örnekte gastrik sindirim pH'sının pankreatik sindirim sonrası protein hidrolizasyonuna etkisinin olmadığı gözlenmiştir (**şekil 4.18, hat 4-5**). 150 bar basınç uygulanan örnekte ise pH 6'da gastrik sindirime uğrayıp pankreatik sindirime tabi tutulan örnekte kazein hidrolizasyonunun kısmen daha sınırlı kaldığı tespit edilmiştir (**şekil 4.17, hat 4-5**). Isıl işlem sonrası homojenizasyon uygulanan örneklerde de benzer bir profil ile karşılaşılmış ve hem 150 bar (**şekil 4.19**) hem de 200 bar (**şekil 4.20**) basınç altında homojenize edilen %65 yağlı krema örneklerinde (PKH_{65/150} ve PKH_{65/200}) pH 2'de gerçekleşen gastrik sindirim sonunda kazein hidrolizasyonunun pH 6'ya oranla daha etkin olduğu belirlenmiştir. EV ve RS sütlerin gastrik ve pankreatik sindirim sonrası SDS-PAGE profilleri **şekil 4.21**'de yer almaktadır. Evaporasyon ve instant süttozu üretimi ve ardından rekonstitüsyon işlemleri sonunda kazein fraksiyonlarının pH 2'de *in vitro* gastrik sindirim sonunda daha sınırlı hidrolizasyona



Şekil 4.21 Evapore (EV) ve Rekonstitüye (RS) sütlerin in vitro gastrik ve pankreatik sindirim ürünlerine ait elektroforetogram.

Hatlar: **1:** Referans süt (%10, w/v), **2:** EV süt pH 2 gastrik sindirim sonrası, **3:** EV süt pH 6 gastrik sindirim sonrası, **4:** EV süt pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **5:** EV süt pH 6 pankreatik sindirim sonrası, **6:** RS pH 2 gastrik sindirim sonrası, **7:** RS pH 6 gastrik sindirim sonrası, **8:** RS pH 2 pankreatik sindirim sonrası, **9:** RS pH 6 pankreatik sindirim sonrası

uğradığı belirlenmiştir (**hat 2-3 ve 6-7**). Ayrıca, pH 6'da gerçekleştirilen gastrik sindirim sonrasında pepsini temsil eden bandın daha yoğun olduğu gözlenmiştir (**hat 3 ve 7**). Konsantre ve toz ürünlerde pH 2'de gastrik sindirim sonrasında pepsinin kısmen hidrolizasyona uğradığı ve buna bağlı olarak da ağırlıklı olarak pepsin tarafından regüle edilen kazein hidrolizasyonun daha sınırlı kaldığı sonucuna ulaşılmıştır.

Büyük ve küçük yağ globüllerinin yüzeyleindeki protein konsantrasyonu ve protein tipleri önemli düzeyde farklılık gösterebilmektedir. Lu vd. (2016) proteom çalışmaları sonucunda büyük ve küçük boyutlu yağ globüllerine ait MFG fraksiyonlarının sırasıyla 49 ve 23 farklı protein iğerdiğini belirlemiştir. Özellikle, fosfo-açıltransferaz (PAT) proteinleri MFGM yapısında yüksek konsantrasyonda bulunmakta ve lipid biyosentezinde rol oynamaktadır (Ducharme ve Bickel 2008, Thiele ve Spandl 2008, Walther ve Farese 2009). Büyük boyutlu yağ globüllerinin yapısında daha fazla

perifilin-2 (ADFP) ve glikolizasyona-bağımlı hücre adhezyon molekül 1 (GLYCAM1/PP3) bulunduğu (Wolins vd. 2005) ve bu proteinlerin lipid hidrolizasyonunu kısmen inhibe edici rol oynadığı bildirilmiştir. Bu çalışma kapsamında ele edilen elektroforetoqramlarda MFGM proteinlerinden çok kazein hidrolizasyonu üzerine odaklanıldığından uygulanan SDS-PAGE protokolünün küçük boyutlu proteinlerin tespitine olanak vermediği düşünülmektedir. Bununla birlikte; tüm örneklerde 25-34,5 kDa molekül ağırlığı aralığında (pepsinin molekül ağırlığı 34,5 kDa) özellikle pankreatik sindirim sonunda birçok bant ortaya çıkmıştır. Bu bantların lokasyonları hidrolize olmamış kazein fraksiyonlarının molekül boyutlarına yakın veya üzerinde olduğundan bu bantların MFGM proteinlerini temsil ettiği düşünülmektedir. Süt yağ globüllerinin sindirim sırasında lipoliz mekanizmasının anlaşılmasına yönelik birçok çalışma bulunmaktadır (Michalski 2009, Ye vd. 2010, 2011, Gallier vd. 2012, 2013). Süt yağ globülleri sindirim sırasında midede pepsinin MFGM üzerindeki proteinleri hidrolizasyonu sonucu önemli bir değişime uğramaktadır (Ye vd. 2011, Gallier vd. 2012). Çiğ sütün gastrik sıvı içerisinde pepsin varlığında inkübasyonu sonunda bir kuagülasyon meydana gelmektedir. Majör MFGM proteinleri bu gastrik ortamda farklı düzeylerde hidrolizasyona uğramaktadır. Peptik hidrolizasyona en dirençli protein bütirofilindir ve bu proteini sırasıyla xanthine oxidase (XO), PAS6 ve PAS7 izlemektedir. Bütirofilin 58 °C'de denatüre olarak moleküllerarası disülfid köprüleri oluşturabilmektedir (Appell vd. 1982). XO 60 °C'de 10 dakikada, PAS6 ve 7 ise 80 °C dolayında denatürasyona uğramaktadır. XO ve bütirofilin β -LG ve α -LA'dan daha düşük sıcaklıklarda denatürasyona uğramaktadır. Süt ısıtıldığında MFGM- β -LG ve MFGM- α -LA arasında disülfid köprüleri kanalıyla interaksiyonlar oluşmaktadır (Dalglish ve Banks 1991, Houllihan vd. 1992, Kim ve Jimenez-Flores 1995). XO ve bütirofilinin, β -LG ve α -LA ile interaksiyona girmeden önce agregat oluşturduğu bilinmektedir (van Hekken vd. 2017).

Wada ve Lönnerdal (2014) klasik yöntemle sterilize (cam şişe içerisinde uzun süreli sterilizasyon) edilen sütlerde *in vitro* sindirim sonunda proteinlerin hızla degrade olduğunu ancak bu degradasyon düzeyinin UHT sütlerde daha sınırlı gerçekleştiğini bulmuştur. Proteomik analizler, protein sindirilebilirliğini sınırlayan lactulosyllisine seviyesinin UHT sütle daha düşük olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla, ısı ile tetiklenmiş

protein modifikasyonlarının protein sindirilebilirliği üzerinde potansiyel olarak olumsuz etkiye sahip olabileceği ileri sürülmüştür. Miranda ve Pélissier (1987) ısı uygulaması sonunda sütün gastrik boşaltım süresinin hızlandığını ve *in vivo* kazein hidrolizasyonunun arttığını ileri sürmüştür. Barbé vd. (2013) endüstriyel ısı uygulamasının kazein ve β -LG'nin *in vivo* koşullarda midede hidrolizasyona karşı direncini arttırdığını göstermiştir. Genel olarak; ısı işlem uygulanmış homojenize sütün sindirimi sırasında serbest yağ asidi oluşumu protein hidrolizasyon hızından daha yüksek gerçekleşmektedir (Tunick vd., 2016).

Proteinlerin gastrik sindirim düzeyi bolusun yapısı ile yakından ilişkilidir (Ye vd., 2016a). Isıl işlem görmemiş sütün gastrik hidrolizasyonu sonunda küçük ve sık kompartmanlardan oluşan bir ağ yapısı meydana gelirken, ısı işlem uygulanmış üründe bolus daha geniş boşluklara sahip bulunmuştur (Ye vd. 2016a). Sindirim süresinin artması ve pH'nın düşmesi ile birlikte ısı işlem görmemiş sütün oluşturduğu ağ yapısı daha da sıkılaşmaya başlamaktadır. Oluşan bu yapı daha az geçirgen bir özelliğe sahiptir. Bu değişimler, kazeinin gastrik sistemde pepsin aracılığı ile hidrolizasyonunu etkilemektedir. Ye vd. (2017) sindirimin 8. dakikasından itibaren protein koagülasyonunun görünür hale geldiğini, 10. dakikadan itibaren ise bolus içerisinde pürüzsüz bir yüzeyin oluştuğunu belirlemiştir. Bu süreçte kazeinlerin koagulum yapısına dahil olduğu kaydedilmiştir. Gastrik koşullarda, süt proteinleri düşük pH ve pepsin varlığında agregatlaşmakta (Mulvihill ve Fox 1979) ve pıhtı oluşturacak şekilde presipitasyona uğramaktadır. Düşük pH değerlerinde *in vitro* sindirim sırasında süt protein presipitasyonu daha hızlı ilerlemektedir (Tunick vd. 2016). Ye vd. (2017) ise pH 6.2'de dinamik *in vitro* sindirim modeli kullanarak ısıtılmış ya da çiğ sütte proteinlerin kuagüle olabildiğini göstermiştir. *In vivo* gastrik sindirim sırasında pepsin hızla κ -CN'i *para*- κ -CN'e dönüştürmektedir (Miranda ve Pélissier 1983). κ -CN'in *in vitro* koşullar altında da diğer kazein fraksiyonlarından daha hızlı hidrolize olduğu gösterilmiştir (Tam ve Whiteaker 1972). Ye vd. (2017) kazein miselinin kuagülasyon davranışının yağ globüllerinin varlığından bağımsız ilerlediğini ileri sürmüştür. Bununla birlikte, aynı araştırmacılar homojenize edilmiş yağları içeren pıhtılarda pıhtı ağırlığının arttığını bildirmiş ve bu artışın homojenizasyon sonrası yüzey alanı artışı ile ilişkili olduğunu savlamıştır. Sindirim sonrası oluşan kuagulum içerisinde serum proteinleri (Donato vd.

2007) ve misele bağlı olmayan serum proteini/ κ -CN kompleksi (Kethireddipalli vd. 2011) yer almaktadır. Mahé vd. (1996) üst jejunumdan alınan sindirim sıvısından mikrofiltrasyon ile saflaştırdığı kazein ve β -LG üzerinde gerçekleştirdikleri analizler sonunda kazeinin peptid formunda, β -LG'nin ise hidrolize olmamış formda yer aldığını göstermiştir. van Hekken vd. (2017) geleneksel ve organik beslenen süt ineklerinden elde edilen homojenize ve pastörize sütlerin *in vitro* gastrointestinal sindirimi sonunda proteinlerin %85.5-94.5'inin 3 saat içerisinde sindirilebildiğini (1 saat gastrik sindirim ve 2 saat barsak koşullarında) göstermiştir. Ayrıca her iki süt grubu arasında protein sindirilebilirliği açısından belirgin farklılıkların olmadığı da ortaya konulmuştur.



5. SONUÇ

Tez çalışması kapsamında, süt yağının sindirim ve emilim etkinliği üzerine homojenizasyon basıncı ve uygulama sırasının etkileri araştırılmıştır. *In vitro* koşullarda iki farklı pH'da (pH 2 ve 6) gerçekleşen gastrik sindirim ve ardından gelen pankreatik sindirim ile hücre emilim aşamaları sonunda açığa çıkan serbest yağ asidi profilleri ve konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmeler çerçevesinde;

- 1- Homojenizasyon uygulama basıncının artması ile birlikte yağ globül partikül boyutunun azaldığı,
- 2- Isıl işlem uygulaması ile birlikte partikül boyutunda kısmi bir artışın meydana geldiği,
- 3- Homojenizasyon basıncının artması ile birlikte zeta potansiyellerinde azalmanın oluştuğu,
- 4- Sütün önce homojenize edilip ardından ısıl işleme tabi tutulması durumunda hem *in vitro* gastrik hem de *in vitro* pankreatik sindirim sonrası toplam serbest yağ asidi düzeyinin ısıl işlem gördükten sonra homojenize edilen örneklere oranla daha yüksek olduğu,
- 5- Gastrik sindirim pH'sının sindirim etkinliği üzerine belirgin bir etkisinin bulunmadığı,
- 6- %65 yağlı kremanın ve/veya %65 yağlı krema ile yağsız süt karışımının toplam serbest yağ asidi düzeylerinin homojenizasyon basıncı ve ısıl işlem uygulamasından bağımsız olduğu ve birbirlerine yakın bulunduğu,
- 7- Tüm örnek gruplarında pankreatik sindirim aşamasında lipid sindiriminin gastrik sindirim aşamasına oranla daha yüksek gerçekleştiği,
- 8- Tüm örnek gruplarında uzun zincirli yağ asitlerinin (C₁₄-C_{18:1}) kısa ve orta zincirli yağ asitlerine oranla daha yüksek olduğu,
- 9- Süt yağı ve proteinlerinin birarada bulunduğu sistemde serbest yağ asitlerinin hücre emilim düzeylerinin daha düşük olduğu ve diğer örnekler arasında belirgin bir farkın meydana gelmediği,
- 10- Evapore edilmiş süt örneklerinde (EV; %35 TKM'li) süt yağı sindirim etkinliğinin rekonstitüye edilmiş instant yağlı süttozu örneklerine (RS; %15

TKM'li) oranla daha yüksek ancak ticari UHT süt örneğine oranla daha dk olduğu,

11- pH 2'de gerçekleşen gastrik sindirim sonrası protein (zellikle kazein) hidrolizasyonunun pH 6'ya oranla daha etkin gerçekleştiği ve,

12- Süt lipid sindirimi arttırılmış bir ürün geliştirme çalışmasında evaporasyon uygulamasının instant süttozu ve rekonstitüsyon teknolojilerine oranla daha uygun olacağı sonuçlarına ulaşılmıştır.

Tez çalışmasının ıktıları infantlara (term-preterm), pankreatik yetersizlikleri olan hastalara, cerrahi sonrası hastalara ve lipid sindirim sorunu olan hastalara yönelik baz ürün formülasyonları geliştirilmesi için bir n veri niteliği taşımaktadır. Lipid sindirim ve emilim etkinliği temelinde yapılacak değerlendirmeler sonunda seçilen homojenizasyon-ııl işlem uygulama koşulları kullanılarak ek maliyet oluşturmadan lipid sindirim etkinliği arttırılmış süt esaslı özel beslenme solüsyonları geliştirilmesi çalışmalarına devam edilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Alessandri, J. M., Goustard, B., Guesnet, P. ve Durand, G. 1998. Docohexaenoic acid concentrations in retinal phospholipids of piglets fed an infant formula enriched with long-chain polyunsaturated fatty acids: effects of egg phospholipids and fish oils with different ratios of eicosapentaenoic acid to docohexaenoic acid. *American Journal of Clinical Nutrition*, 67, 377-385.
- Amate, L., Gil, A. ve Ramirez, M. 2001. Dietary long-chain polyunsaturated fatty acids from different sources affect fat and fatty acid excretions in rats. *Journal of Nutrition*, 131, 3216-3221.
- American Heart Association .2019. The facts on fats 50 years of American Heart Association dietary fats recommendations. https://www.heart.org/-/media/files/healthy-living/company-collaboration/inap/fats-white-paper-ucm_475005.pdf (Erişim: 25 Mart 2019)
- Anonim. 2002. Türk Standardları Enstitüsü. Çiğ Süt Standardı. TS1018, pp.10.
- Appell, K. C., Keenan, T. W. ve Low, P. S. 1982. Differential scanning calorimetry of milk fat globule membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 69, 243-250.
- Argov, N., Wachsmann-Hogui, S., Freeman, S., Huser, T., Lebrilla, C. ve German, B. 2008a. Characterization of size-dependent lipid content in human milk fat globules by laser trap Raman spectroscopy. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 27, 7446-7450.
- Argov, N., Lemay, D. G. ve German, B. 2008b. Milk fat globule structure and function: nanoscience comes to milk production. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 617-623.
- Armand, M. 2007. Lipases and lipolysis in the human digestive tract: Where do we stand? *Current Opinion in Clinical Nutritionand Metabolic Care*, 10, 156-164.
- Armand, M., Borel, P. ve Pasquier, B. 1996. Physicochemical characteristics of emulsions during fat digestion in human stomach and duodenum. *American Journal of Physiology*, 271, G172-G183.
- Armand, M., Pasquier, B., André, M., Borel, P., Senft, M., Peyrot, J., Salducci, J., Portugal, H., Jaussan, V. ve Lairon, D. 1999. Digestion and absorbtion of 2 fat emulsions with diffeent droplet sizes in the human digestive tract. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70(6), 1096-1106.
- Aynié, S., Le Meste, M., Colas, B. ve Lorient, D. 1992. Interactions between lipids and milk proteins in emulsion. *Journal of Food Science*, 57(4), 883-886.
- Barbé, F., Ménard, O., Le Gouar, Y., Buffière, C., Famelart, M. H., Laroche, B., Le

- Feunteun, S., Dupont, D. ve Rémond, D. 2013. The heat treatment and the gelation are strong determinants of the kinetics of milk proteins digestion and of the peripheral availability of amino acids. *Food Chemistry*, 136, 1203-1212.
- Bauer, E., Jakob, S. ve Mosenthin, R. 2005. Principles of physiology of lipid digestion. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 18(2), 282-295.
- Benzonana, G. ve Desnuelle, P. 1965. Kinetic study of the action of pancreatic lipase on emulsified triglycerides. *Enzymology assay in heterogeneous medium. Biochimica et Biophysica Acta*, 105 (1), 121-136.
- Bernback, S., Blackberg, L. ve Hernell, O. 1989. Fatty acids generated by gastric lipase promote human milk triacylglycerol digestion by pancreatic colipase-dependent lipase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 101 (3), 286-293.
- Berton, A., Sebbah-Kreuzer, C., Rouvellac, S., Lopez, C. ve Crenon, I. 2009. Individual and combined action of pancreatic lipase and pancreatic lipase-related proteins 1 and 2 on native versus homogenized milk fat globules. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(12), 1592-1602.
- Berton, A., Rouvellac, S., Robert, B., Rousseau, F., Lopez, C. ve Crenon, I. 2012. Effect of the size and interface composition of milk fat globules on their in vitro digestion by the human pancreatic lipase: Native versus homogenized milk fat globules. *Food Hydrocolloids*, 29, 123-134.
- Borgstrom, B. ve Erlanson-Albertsson, C. 1982. Hydrolysis of milk fat globules by pancreatic lipase. Role of colipase, phospholipase A2 and bile salts. *Journal of Clinical Investigation*, 70(1), 30-32.
- Briard, V., Leconte, N., Michel, F. ve Michalski, M. C. 2003. The fatty acid composition of small and large naturally occurring milk fat globules. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105(11), 677-682.
- Brockman, H. L. 2000. Kinetic behaviour of pancreatic lipase-colipase-lipid system. *Biochimie*, 82(11), 987-995.
- Brodkorb A., Egger L., Alming M., Alvito P., Assunção R., Ballance S., Bohn T., Bourlieu-Lacanal C., Boutrou R., Carrière F., Clemente A., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Edwards C., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie AR., Martins C., Marze S., McClements DJ., Ménard O., Minekus M., Portmann R., Santos CN., Souchon I., Singh RP., Vegarud GE., Wickham MSJ., Weitschies W. ve Recio I. 2019. *Nat Protoc.* 2019 Apr;14(4):991-1014.
- Brown, E. 1984. Interactions of β -lactoglobulin and α -lactalbumin with lipids: A review. *Journal of Dairy Research*, 67, 713-722.
- Calvo-Lerma J., Fornés-Ferrer V., Heredia A. ve Andrés A. 2018. In vitro digestion of lipids in real foods: Influence of lipid organization within the food matrix and

- interactions with nonlipid components. *J Food Sci.* 2018 Oct;83(10):2629-2637.
- Cano-Ruiz, M. E. ve Richter, R. L. 1997. Effect of homogenization pressure on the milk fat globule membrane proteins. *Journal of Dairy Science*, 80(11), 2732-2739.
- Dalgleish, D. G. 1984. Measurement of electrophoretic mobilities and zeta potentials of particles from milk using Doppler electrophoresis. *Journal of Dairy Research*, 51, 425-438.
- Dalgleish, D. ve Banks, J. M. 1991. The formation of complexes between serum proteins and fat globules during heating of whole milk. *Milchwissenschaft*, 46(2), 75-78.
- De Jong, C. ve Badings, H.T. 1990. Determination of free fatty-acids in milk and cheese-Procedures for extraction, clean-up, and capillary gas-chromatographic analysis. *Journal of High Resolution Chromatography*, 13(2), 94-98.
- Diaz de Villegas, M.C., Oria, R., Savla, F.J. ve Calvo, M. 1987. Lipid binding by β -lactoglobulin of cow milk. *Milchwissenschaft*, 42, 357-358.
- Donato, L., Alexander, M. ve Dalgleish, D. G. 2007. Acid gelation of heated and unheated milks interactions between serum protein complexes and the surfaces of casein micelles. *Journal of the Agriculture and Food Chemistry*, 55, 4160-4168.
- Ducharme, N. A. ve Bickel, P. E. 2008. Lipid droplets in lipogenesis and lipolysis. *Endocrinology*, 149, 942-949.
- Ernst&Young, 2011. Dünyada ve Türkiye’de sağlık harcamaları raporu.
- Failla, M.L. ve Chitchumronchokchai, C. 2005. *In vitro* models as tools for screening the relative bioavailabilities of provitamin A carotenoids in foods. HarvestPlus3, Technical Monographs, International Food Policy Research Institute, Washington DC, USA.
- Favé, G., Coste, T.C. ve Armand, M. 2004. Physicochemical properties of lipids: New strategies to manage fatty acid bioavailability. *Cellular and Molecular Biology*, 50(7), 815-831.
- Fong, B. Y., Norris, C. S. ve MacGibbob, A. K. H. 2007. Protein and lipid composition of bovine milk fat-globule membrane. *International Dairy Journal*, 17, 275-288.
- Fox, P.F. ve Mc Sweeney, P.L.H. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, USA, 485 p.
- Gallier, S., Ye, A. ve Singh, H. 2012. Structural changes of bovine milk fat globules during *in vitro* digestion. *Journal of Dairy Science*, 95, 3579-3592.
- Gallier, S., Cui, J., Olson, T. D., Rutherford, M., Ye, A., Moughan, P. J. Ve Singh, H.

2013. *In vivo* digestion of bovine milk fat globules: effect of processing and interfacial structural changes. I. Gastric digestion. *Food Chemistry*, 141, 3273-3281.
- Germen, J. B. ve Dillard, C. J. 2006. Composition, structure and absorption of milk lipids: a source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 57-92.
- Golding, M. ve Wooster, T. J. 2010. The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15, 90-101.
- Goustard-Langelier, B., Guesnet, P., Durand, G., Antoine, J. M. ve Alessandri, J. M. 1999. n-3 and n-6 fatty acid enrichment by dietary fish oil and phospholipid sources in brain cortical areas and nonneural tissues of formula-fed piglets. *Lipids*, 34, 5-16.
- Gripon, J.C., Desmazeud, M.J., Bars, D. ve Bergere, J.L. 1975. Etude du role des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. *Le Lait*, 55, 502-516.
- Guinot L., Rioux Le., Labrie S., Britten M. ve Turgeon SL. 2019. Identification of texture parameters influencing commercial cheese matrix disintegration and lipid digestion using an in vitro static digestion model. *Food Res Int.* 2019 Jul;121:269-277.
- Hernell, O., Staggers, J. E. ve Carey, M. C. 1990. Physical-chemical behaviour of dietary and bilayer lipids during intestinal digestion and absorption. 2. Phase analysis and aggregation states of luminal lipids during duodenal fat digestion in healthy adult human beings. *Biochemistry*, 29(8), 2041-2056.
- Hofman, Z., van Anholt, R. D., Kiers, W. H. A., Klebach, M. ve van Beusekom, M. H. 2010. Liquid enteral nutritional composition suitable for tube feeding, minimizing lower and upper tract digestive conditions. US Patent, US8618047B2
- Houlihan, A.V., Goddard, P.A., Kitchen, B.J. ve Masters, C.J. 1992. Changes in structure of the bovine milk fat globule membrane on heating whole milk. *Journal of Dairy Research*, 59, 321-329.
- Jandacek, R. J. ve Volpenhein, R. A. 1985. Nutritional fat suitable for enteral and parenteral products. Canadian Patent, CA1292145C
- Jurado, E., Camacho, F., Luzon, G., Fernandez-Serrano, M. ve Garcia-Roman, M. 2006. Kinetic model for the enzymatic hydrolysis of the protein matrix pasta on in vitro starch digestibility. *Food Biophysics*, 3(2), 229-234.
- Keenan, T. W. ve Patton, S. 1995. The structure of milk: implications for sampling and storage. The milk lipid globule membrane. In: R. G. Jensen (Ed.), *Handbook of Milk Composition* (pp. 5-50), Academic Press: San Diego.

- Kethireddipalli, P., Hill, A. R. ve Dalgleish, D. G. 2011. Interaction between casein micelles and whey protein/ κ -casein complexes during renneting of heat-treated reconstituted skim milk powder and casein micelle/serum mixtures. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 59, 1442-1448.
- Kim, H. H. Y. ve Jimenez-Flores, R. 1995. Heat-induced interactions between the proteins of milk fat globule membrane and skim milk. *Journal of Dairy Science*, 78, 24-35.
- Kristensen, A., Nylander, T., Paulsson, M. ve Carlsson, A. 1997. Calorimetric studies of interactions between β -lactoglobulin and phospholipids in solutions. *International Dairy Journal*, 7, 87-92.
- Lopez, C. 2011. Milk fat globules enveloped by their biological membrane: unique colloidal assemblies with a specific composition and structure. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 16, 391-404.
- Lu, J., Argov, A. N., Anggrek, J., Boeren, S., van Hoojdonk, T., Vervoort, J. ve Hettinga, K. A. 2016. The protein and lipid composition of the membrane of milk fat globules depends on their size. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4726-4738.
- Lundin, L., Golding, M. ve Wooster, T. J. 2008. Understanding food structure and function in developing foods for appetite control. *Nutrition & Dietetics*, 65(3), S79-S85.
- Mahé, S., Roos, N., Benamouzig, R., Davin, L., Luengo, C., Gagnon, L., Gausserges, N., Rautureau, J. ve Tomé, D. 1996. Gastrojejunal kinetics and the digestion of [^{15}N] beta-lactoglobulin and casein in humans: the influence of the nature and quality of proteins. *American Journal of Clinical Nutrition*, 63, 546-552.
- Malone, M., Appelqvist, I. ve Norton, I. 2003. Oral behaviour of food hydrocolloids and emulsions. Part 1. Lubrication and deposition considerations. *Food Hydrocolloids*, 17(6), 763-773.
- Malone, A. 2005. Enteral formula selection: A review of selected product categories. *Practical Gastroenterology*, 44- 74.
- Manson, W.G. ve Weaver, L. T. 1997. Fat digestions in neonate. *Archives of Disease in Childhood*, 76, F206-F211.
- Marciani, L., Wickham, M., Hills, B., Wright, B., Bush, D., Faulks, R., Fillery-Travis, A., Spiller, R. C. ve Gowland, P. A. 2004. Intra-gastric oil-in-water emulsion fat fraction measure during inversion recovery echo-planar magnetic resonance imaging. *Journal of Food Science*, 69(6), 290-296.
- Metin, M. 1999. Süt Teknolojisi: Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. Ege Ü. Mühendislik Fakültesi Yayınları, 793 sayfa.

- Michalski, M. C., Cariou, R., Michel, F. ve Garnier, C. 2002a. Native vs. damaged milk fat globules: membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2451-2460.
- Michalski, M. C., Michel, F., Sainmont, D. ve Briard, V. 2002b. Apparent zeta potential as a tool to assess mechanical damages to the milk fat globule membrane. *Colloids and Surfaces B- Biointerfaces*, 23(1), 23-30.
- Michalski, M. C. 2009. Specific molecular and colloidal structures of milk fat affecting lipolysis, absorption and postprandial lipemia. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 413-431.
- Michalski, M. C. ve Januel, C. 2006. Does homogenization affect the human health properties of cow's milk. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 423-437.
- Miranda, G. ve Pélissier, J. P. 1983. Kinetic studies of *in vivo* digestion of bovine unheated skim-milk proteins in the rat stomach. *Journal of Dairy Research*, 50, 37-36.
- Miranda, G. ve Pélissier, J. P. 1987. Influence of heat treatment of bovine skim-milk on *in vivo* digestion in rat stomach. *Lait*, 67, 365-378.
- Momsen, M. M., Dahim, M ve Brockman, H. L. 1997. Lateral packaging of the pancreatic lipase cofactor, colipase, with phosphatidylcholine and substrates. *Biochemistry*, 36(33), 10073-10081.
- Monahan, F., German, B. ve Kinsella, J. E. 1995. Effect of pH and temperature on protein unfolding and thiol/disulfide interchange reactions during heat-induced gelation of whey proteins. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*, 43(1), 46-52.
- Mulvihill, D. M. ve Fox, P. F. 1979. Proteolytic specificity of chymosins and pepsins on β -caseins. *Milchwissenschaft*, 34, 680-683.
- Mun, S., Decker, E.A. ve McClements, D.J. 2007. Influence of emulsifier type on *in vitro* digestability of lipid droplets by pancreatic lipase. *Food Research International*, 40, 770-781.
- Nettleton, J. A., Brouwer, I. A., Geleijnse, J. M. ve Hornstra, G. 2017. Saturated fat consumption and risk of coronary heart disease and ischemic stroke: a science update. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 70(1), 26-33.
- Olbrich, C., Kayser, O. Ve Muller, R. 2002. Lipase degradation of dynasan 114 and 116 solid lipid nanoparticles (SLN)- effect of surfactant, storage time and crystallinity. *International Journal of Pharmaceutics*, 237(1-2), 119-1128.
- Oortwijn, H. W. P. 1979. The membranes of recombined fat globules. 2. Compositions. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 33, 134-154.

- Özer, B. H. 1997. *Rheological Properties of Labneh (Concentrated Yoghurt)*. Ph.D. Thesis, The University of Reading, Reading, UK.
- Özer, B.H. 2001. Konsantre yoğurt jeli oluşumunda etkili faktörler. I. SH/S-S Tiol/disülfid aradeğişim reaksiyonlarının rolü. *Gıda*, 26 (5), 353-358.
- Özer, B.H., Robinson, R.K. ve Grandison, A.S. 2002. Effects of elevation of total solids by ultrafiltration and reverse osmosis on thiol groups in milk. *Milchwissenschaft*, 57(11/12), 609-611.
- Papiz, M.J., Sawyer, L., Eliopoulos, E.E., North, A.C.T., Findlay, B.C., Sivaprasadarao, R., Jones, T.A., Newcomer, M.E. ve Kraulis, P.J. 1986. The structure of β -lactoglobulin. *Journal of Dairy Science*, 67, 1699-1706.
- Parris, N., Purcell, J.M. ve Ptashkin, S.M. 1991. Thermal denaturation of whey proteins in skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39 (12), 2167-2170.
- Phan, C. T. ve Tso, P. 2001. Intestinal lipid absorption and transport. *Frontiers in Bioscience*, 6, D299-D319.
- Porter, J., Trevakis, N. ve Charman, W. 2007. Lipids and lipid-based formulations. Optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(3), 231-248.
- Prieto, J. G., DePeters, E. J., Robinson, P. H., Santos, J. E., Pareas, J. W. ve Taylor, S. J. 2003. Increasing dietary levels of cracked pima cotton seed increase plasma gossypol but do not influence productive performance of lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 254-267.
- Puyol, P., Perez, M.P., Peiro, J.M. ve Calvo, M. 1994. Effect of binding of retinol and palmitic acid to bovine β -lactoglobulin on its resistance to thermal denaturation. *Journal of Dairy Science*, 77, 1494-1502.
- Qian, F., Sun, J., Cao, D., Tuo, Y., Jiang, S. ve Mu, G. 2017. Experimental and modelling study of the denaturation of milk protein by heat treatment. *Korean journal of Food Science and Animal Resources*, 37(1), 44-51.
- Ribeiro, A. P. B., Masuchi, M. H., Miyasaki, E. K., Domingues, F. M. A., Stroppa, V. L. Z., de Oliveira, G. M. ve Kieckbusch, T. G. 2015. Crystallization modifiers in lipid systems. *Journal of Food Science and Technology*, 52(7), 3925-3946.
- Salama, G. S. A., Kaabneh, A. A. F., Almasaeed, M. N. ve Alguran, M. A. I. 2005. Intravenous lipids for preterm infants: a review. *Clinical Medicine Insights: Pediatrics*, 9, 25-36
- Sala-Vila, A., Castelleote, A. I., Campoy, C., Rivero, M., Rodriguez-Palmero, M. ve Lopez-Sabater, M. C. 2004. The source of long chain PUFA in formula supplements does not affect the fatty acid composition of plasma lipids in ful-

term infants. *Journal of Nutrition*, 134, 868-873.

Sala-Vila, A., Campoy, C., Castellote, A. I., Garrido, F. J., Rivero, M., Rodriguez-Palmero, M. 2006. Influence of dietary source of docohexaenoic and arachidonic acids on their incorporation into membrane phospholipids of red blood cells in term infants. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 74, 143-148.

Sams L., Paurne J., Giallo J. ve Carrière F. 2016. Relevant pH and lipase for in vitro models of gastric digestion. *Food Funct.* 2016 Jan;7(1):30-45.

Sharma, S.K. ve Dagleish, D. G. 1994. Effect of heat treatment on the incorporation of milk serum proteins into the fat globule membrane of homogenized milk. *Journal of Dairy Research*, 61, 375-384.

Simopoulos, A. 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70(3), 560-569.

Singh, H. 1993. Heat induced interactions of proteins in milk. “Alınmıştır: *Protein and Fat Globule Modifications by Heat Treatment, Homogenization and Other Technological Means for High Quality Dairy Products*. Special Issue No:9303, International Dairy Federation, Brussels, 191-204.”

Singh, H., Ye, A., ve Horne, D. 2009. Structuring food emulsions in the gastrointestinal tract to modify lipid digestion. *Progress in Lipid Research*, 48(2), 92-100.

Spitsberg, V. L. 2005. Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. *Journal of Dairy Science*, 88, 2289-2294.

Tam, J. J. ve Whitaker, J. R. 1972. Rates and extents of hydrolysis of several caseins by pepsin, rennin, *Endothia parasitica* protease and *Mucor pusillus* protease. *Journal of Dairy Science*, 55, 1527-1531.

Thiele, C. ve Spandl, J. 2008. Cell biology of lipid droplets. *Current Opinion in Cell Biology*, 20, 378-385.

Timmen, H. ve Patton, S. 1988. Milk fat globules: Fatty acid composition, size and in vivo regulation of fat liquidity. *Lipids*, 23, 685-689.

Tunick, M. H., Ren, X. D., van Hekken, D. L., Bonnaillie, L., Paul, M., Koczak, R. ve Tomasula, P. M. 2016. Effect of heat and homogenization on *in vitro* digestion of milk. *Journal of Dairy Science*, 99, 4124-4139.

Ulrich, A. 2002. Biophysical aspects of using liposomes as delivery vehicles. *Bioscience Reports*, 22(2), 129-150.

van Boekel, M. A. J. S. ve Walstra, P. 1995. Use of kinetics in studying heat-induced changes in foods. “Alınmıştır: *Heat-Induced Changes in Milk*. 2nd ed., (ed.)

P.F.Fox, Special Issue No:9501, International Dairy Federation, Brussels, 109-117.”

- van Hekken, D. L., Tunick, M. H., Ren, D. X., ve Tomasula, P. M. 2017. Comparing the effect of homogenization and heat processing on the properties and *in vitro* digestion of milk from organic and conventional dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 100, 6042-6052.
- Verger, R. ve Haas, G. 1976. Interfacial enzyme kinetics of lipolysis. *Annual Review of Biophysics & Bioengineering*, 5, 77-117.
- Vingerhoeds, M., Blijdenstein, T., Zoet, F. ve van Aken, G. 2005. Emulsion flocculation induced by saliva and mucin. *Food Hydrocolloids*, 19(5), 915-922.
- Wada, Y. ve Lönnerdal, B. 2014. Effect of different industrial heating processes of milk on site-specific protein modifications and their relationship to *in vitro* and *in vivo* digestibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 662, 4175-4185.
- Walther, T. C. ve Farese, R. V. 2009. The life of lipid droplets. *Biochimica & Biophysica Acta*, 1791, 459-466.
- Walther, T. C. ve Farese, Jr. R. V. 2009. The life of lipid droplets. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1791, 459-466.
- Wijendran, V., Huang, M. C., Diao, G. Y., Boehm, G., Nathanielsz, P. W. ve Brenna, J. T. 2002. Efficacy of dietary arachidonic acid provided as triglyceride or phospholipid as substrates for brain arachidonic acid accretion in baboon neonates. *Pediatric Research*, 51, 265-272.
- Yazıhan N. ve Akçıl İ.E. 2016. Pankreas Hastalıkları : Fizyoloji ve fizyopatoloji Dünya Tıp Kitapevi ISBN 978-605-84623-8-0; Bölüm 1 (3), sayfa: 3-22
- Wilbey, A. 1992. Homogenization. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 45(2), 31-32.
- Wolins, N. E., Quaynor, B. K., Skinner, J. R., Schoenfish, M. J., Tzekov, A. ve Bickel, P. E. 2005. Adipophilin and TIP47 package lipid in adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 19146-19155.
- Ye, A., Cui, J. ve Singh, H. 2010. Effect of the fat globule membrane on *in vitro* digestion of milk fat globules with pancreatic lipase. *International Dairy Journal*, 20(12), 822-829.
- Ye, A., Cui, J. ve Singh, H. 2011. Proteolysis of milk fat globule membrane proteins during *in vitro* gastric digestion of milk. *Journal of Dairy Science*, 94, 2762-2770.

- Ye, A., Cui, J., Dalgleish, D. ve Singh, H. 2016a. Formation of a structured clot during the gastric digestion of milk: Impact on the rate of protein hydrolysis. *Food Hydrocolloids*, 52, 478-486.
- Ye, A., Cui, J., Dalgleish, D. ve Singh, H. 2016b. The formation and breakdown of structured clot from whole milk during gastric digestion. *Food & Function*, 7, 4259-4266.
- Ye, A., Cui, J., Dalgleish, D. ve Singh, H. 2017. Effect of homogenization and heat treatment on the behavior of protein and fat globules during gastric digestion of milk. *Journal of Dairy Science*, 100, 36-47.
- Zahar, M. ve Smith, D. E. 1996. Adsorption of proteins at the lipid-serum interface in milk systems with various lipids. *International Dairy Journal*, 6(7), 697-708.
- Zuniga, R. N. ve Troncoso, E. 2012. Improving nutrition through the design of food matrices. In: B. Valdez (Ed.), *Scientific, Health and Social Aspects of the Food Industry*, InTech, ISBN: 978-953-307-916-5

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Şeyma AĞIRAL AKGÜN

Doğum Yeri : Ankara-Çankaya

Doğum Tarihi : 08.07.1992

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Halil İbrahim Fırtına Lisesi (2010)

Lisans : Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2014)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Ana Bilim
Dalı (2015 – 2020)

Çalıştığım Kurumlar

Arina Mutfak – Gıda Mühendisi , İSG Yöneticisi (Kasım 2019 – halen devam etmekteyim)

Tepe Mesa Park Konutları Şantiyesi – C Sınıfı İş Güvenliği Uzmanı (Ekim 2017 – Kasım 2019)