



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



İN VİTRO SÜT PROTEİN SİNDİRİMİNDE SAFRA TUZU KONSANTRASYONUNUN OPTİMİZASYONU

Hatice KANIBİR

**DİSİPLİNLERARASI GIDA, METABOLİZMA ve KLİNİK BESLENME
ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nuray YAZIHAN

ANKARA

2019

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İN VİTRO SÜT PROTEİN SİNDİRİMİNDE SAFRA
TUZU KONSANTRASYONUNUN OPTİMİZASYONU**

Hatice KANIBİR

**DİSİPLİNLERARASI GIDA, METABOLİZMA ve KLİNİK BESLENME
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nuray YAZIHAN

İKİNCİ DANIŞMAN

Prof. Dr. Pelin ARIBAL AYRAL

ANKARA

2019

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırladığım “İn Vitro Süt Protein Sindiriminde Safra Tuzu Konsantrasyonunun Optimizasyonu” başlıklı tez bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımda yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanlarım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumları bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı, Soyadı: Hatice KANIBİR

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY



İÇİNDEKİLER

Etik beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	viii
Çizelgeler	x
1.GİRİŞ	1
1.1. Sindirim Sistemi	1
1.2. Protein ve Yağ Sindirimi	6
1.3. Safranin Sindirimde Rolü	7
1.4. Yapay Sindirim Modelleri	10
1.4.1. İn Vitro Modeller	10
1.5. Süt Proteinleri ve Yağları	12
2.GEREÇ ve YÖNTEM	15
2.1. İn Vitro Sindirim	15
2.2. Toplam Amino Asit Analizi	16
2.3. Serbest Yağ Asitleri Analizleri	16
2.4. İstatistiksel Değerlendirme	17
3. BULGULAR	18
3.1. Serbest Yağ Asitleri Analiz Sonuçları	18
3.2. Toplam Amino Asit Analiz Sonuçları	34
4. TARTIŞMA	36
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	41
ÖZET	42
SUMMARY	43
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	49

ÖNSÖZ

Dünya’da in vitro sindirim yöntemleri ile yapılan araştırmalarda artış gözlenmektedir. Bu tez çalışmasında, in vitro süt sindiriminde toplam amino asit ve serbest yağ asidi düzeyleri analiz edilerek safra tuzu konsantrasyon optimizasyonu yapılması hedeflenmiştir.

Çalışmanın her aşamasında değerli bilgi, birikimlerini ve desteklerini esirgemeyen saygıdeğer danışmanım Prof. Dr. Nuray YAZIHAN ve her zaman desteğini hissettiğim eş danışmanım saygıdeğer Prof. Dr. Pelin ARIBAL AYRAL hocalarıma, çalışmanın yapılmasına katkıda bulunan Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. H. Barbaros ÖZER ve Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Ali TOPÇU hocalarıma, Disiplinlerarası Gıda, Metabolizma ve Klinik Beslenme Anabilim Dalı’nın öğretim üyelerine ve tüm bölüm çalışanlarına, beni destekleyen arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan sevgili aileme desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat derece
CA	Kolik asit
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
Caco-2	İnsan kolon karsinoma hücresi
CDCA	Kenodeoksikolik asit
CYP27A1	Sterol 27- hidroksilaz
CYP7A	Kolesterol 7 α -hidroksilaz
CYP7B1	25-hidroksikolesterol-7- α hidroksilaz
DCA	Deoksikolik asit
FFAP	GC için kullanılan kolon cinsi
FID	Alev iyonizasyon dedektörü
GC	Gaz kromatografisi
GIS	Gasrointestinal sistem
GRP	Gastrin uyarıcı peptid
HCL	Hidroklorik asit
HGL	İnsan gastrik lipazı
Ig A	İmmünoglobulin A
Ig G	İmmünoglobulin G
IU	İnternasyonal ünite
K ₂ HPO ₄	Potasyum hidrojen fosfat
kJ	Kilojul
L	Litre
LCA	litokolik asit
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
Na ⁺	Sodyum katyonu
NaCl	Sodyum klorür

NaHCO ₃	Sodyum bikarbonat
nm	Nanometre
PAS 6	Periyodik asid schiff 6
PAS 7	Periyodik asid schiff 7
pH	Asitlik veya bazlık derecesi
ppm	Milyonda bir birim
PRP	Prolinden zengin proteinler
Safra tuzu(-)	Safra tuzu içermeyen/bulunmayan
SDS-PAGE	Sds poliakrilamid jel elektroforezi
SPE	Katı faz ekstraksiyonu
ss	Standart sapma
TKM	Toplam kuru madde
TNBS	Trinitrobenzen sülfonik asit
UHT	Ultra yüksek ısı
α	Alfa
β	Beta
κ	Kappa

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. İnsan sindirim sistemi	2
Şekil 1.2. Primer safra asitlerinin hepatositlerde de novo sentezi	9
Şekil 1. 3. Caco-2 hücresi kullanılan in vitro sindirim yöntem şeması	12
Şekil 3.1. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin bütirik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi	18
Şekil 3.2. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin kaproik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi	20
Şekil 3.3. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin kaprilik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi	21
Şekil 3.4. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin kaprik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi	22
Şekil 3.5. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin laurik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi	23
Şekil 3.6. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin miristik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi	24
Şekil 3.7. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örnekleri palmitik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi	26

Şekil 3.8. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin stearik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi 27

Şekil 3.9. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin oleik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi 28

Şekil 3.10. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin linoleik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi 29

Şekil 3.11. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin α -linolenik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi 31

Şekil 3.12. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin toplam yağ asidi içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi 32

Şekil 3.13. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin toplam kısa ve orta zincirli yağ asitleri içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi 33

Şekil 3.14. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimini takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin toplam amino asit sonuçlarının değerlendirilmesi 34

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Ekzokrin sindirim enzimleri	5
Çizelge 1.2. Farklı türlerin süt kompozisyonu	14

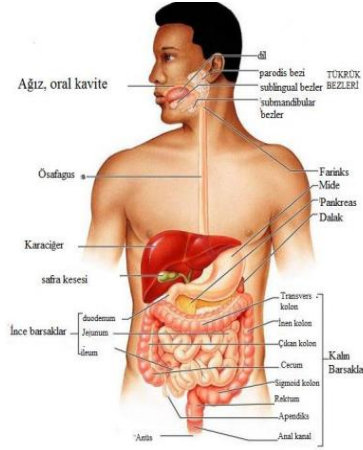


1.GİRİŞ

1.1. Sindirim Sistemi

Besinlerin ağızdan vücuda girmesiyle beraber anüse kadar ilerlemesini ve vücutta kullanılabilir hale gelmesi için gerekli enzim ve hormonların sentezi gastrointestinal sistemde (GIS) meydana gelmektedir. GIS, besinlerin sindirimini, emilimini ve atılımını sağlamaktadır. Proteinler, yağlar ve kompleks karbohidratlar midede ve bağırsakta yapı taşlarına ayrılır. Oluşan sindirim ürünleri, mineraller, vitaminler ve su mukozayı geçerek lenf sıvısına veya kana girer, böylece emilimleri sağlanır (Barrett ve ark., 2009, s.:429).

Sindirim sistemi; sindirim kanalı ve ilişkili organlarını içerir. Sindirim kanalında bulunan başlıca organlar; ağız boşluğu, farenks, yemek borusu, mide, ince bağırsak ve kalın bağırsaktır. İlişkili yardımcı organlar dişler, dil, tükürük bezleri, karaciğer, safra kesesi ve pankreas gibi salgı bezleridir (Şekil 1.1). Sindirim sistemi, suyun, asidin ve enzimlerin salgılanması, mekanik işlem, sindirim, besin emilimi, tamponlama özelliklerinin yanı sıra atık ürünlerin atımının sağlanmasında işlev görmektedir (Hall, 2010, s:799).



Şekil 1. 1. İnsan sindirim sistemi (Yazlıhan, 2017)

Ağız bölgesinde besin alınmasıyla hem mekanik hem kimyasal olarak sindirim meydana gelmektedir. Üç ana tükürük bezi olan parotis, submandibular ve sublingual bezlerinden üretilen tükürük salgısı ağız boşluğuna boşaltılarak kimyasal sindirim gerçekleşmektedir. Islatılan besin, dil ve diş yardımı ile mekanik sindirime uğramaktadır. Tükürük salgısı günde yaklaşık 1-1,5 litre üretilmektedir ve içeriğinin %95'ini su, geri kalanını ise elektrolitler ve proteinler oluşturmaktadır. Tükürük salgısı bol miktarda su, elektrolitler, musin, sekretuar immunoglobülin A (Ig A), immunoglobülin G (Ig G), lizozim, laktoferrin laktoperoksidaz, tiyosiyanat, histatin gibi antimikrobiyal maddeler, prolinden zengin proteinler (PRP), karbohidrat ve lipid sindiriminde sırasıyla yer alan α -amilaz (pityalin) ve lingual lipaz içermektedir. Ağıza alınan besinin çiğnenmeye başlamasıyla parotis bezinden salgılanan pityalin enzimi nişastayı maltoza ve glikoz polimerlerine hidrolize eder. Pityalin enzimi pH 6.7'de aktif olur ve tükürük salgısının pH'ı 6.0-7.0 civarındadır (Hall, 2010, s:775). Lai ve ark. (2019), 42 sağlıklı insanın tükürük salgısı içerisinde lingual lipaz aktivitesi DGGR testi ile analizini yapmıştır. Katılımcıların yaklaşık %45'inin tükürük salgısı içinde lingual lipaz enziminin tat duyusu üzerinde etkili olduğunu ancak lipolitik aktivitesinin çok düşük olduğu saptanmıştır. Lingual lipaz aktivitesi 15 sağlıklı insanda tükürük salgılarında bulunun serbest yağ asidi seviyesi, katılımcılara yüksek yağlı gıdalar verilerek tespit edilmeye çalışılmıştır. Yapılan çalışmada gıdada bulunan yağ miktarının artması lingual lipazın işlevliğini arttırmıştır. Ancak, açığa

çıkan serbest yağ asidi seviyesi çok az olduğu için lipolitik etkisinin zayıf olduğu gösterilmiştir (Kulkarni ve Mattes, 2014).

Ağızdan alınan besin, alt özofagus sfinkterinin gevşemesi ile mideye geçer (Johnstone ve ark., 2014). Midede gerçekleşen sindirim mekanik ve kimyasal olarak devam eder (Barrett ve ark., 2009, s:432). Mide yapısında mukoza kısmına yerleşmiş birçok salgı bezi vardır. Midenin fundus bölgesinde bulunan bezler; hidroklorik asit (HCL) ve intrinsek faktör üreten parietal hücreleri ve pepsinojen, gastrik lipaz salgılayan esas hücreleri bulundurur. Antrum bölgesinde ise pilor bezlerinin G hücrelerinden HCL salgısının uyarıcısı gastrin hormonu salgılanmaktadır. Midenin tüm yüzeyi asitten korunmak amacıyla mukoza ile çevrilidir. Midede sefalik fazda (besinin kokusu veya görülmesi; besin mideye girmeden önce) vagal uyarılar gastrin uyarıcı peptid (GRP) ve asetilkolin, gastrik sıvının salgılanmasını gerçekleştirir. Bunu takiben besinin mideye girmesiyle oluşan gastrik fazda mide duvarının gerilmesi ‘vago-vagal’ refleksinin uyarılmasıyla, asetilkolin salgılanmasını ve gastrin hormon salgısını başlatır. Ayrıca, gastrin hormonu enterokromaffin benzeri hücrelere bağlanarak histamin salınımını etkinleştirerek parietal hücreleri etkiler. Tüm bu uyarılmaların takibiyle içeriği HCL, pepsinojen, mukus ve su olan günlük yaklaşık olarak 2 litre gastrik sıvı üretilmektedir (Barrett ve ark., 2009, s:440 ve Johnstone ve ark., 2014). Gastrik sıvının içeriğinde 0,8-1 mg/mL pepsin ve yaklaşık 1,5 mg/mL musin bulunduğu düşünülmektedir (Dean ve Ma., 2007 ve Vertzoni ve ark., 2005). Gastrik sekresyon hızı, besinin miktarına, protein içeriğine bağlı olarak değişmekle beraber; açlıkta 1 mL/dk iken besin alımıyla beraber 10-50 mL/dk’ya kadar çıkabilmektedir (Marciani ve ark., 2001). Mide özsuynun pH’sı açlık ve tokluk durumunda değişim göstermektedir. Sağlıklı bir insanın açlık durumunda mide pH’sı 1.3-2.5 arasındayken, besinle beraber pH 4.5-5.8 civarına ulaşabilmektedir. Yemek yedikten bir saat sonra ise pH 3.1’in altına düşmektedir (Dressman, 1986 ve Malagelada ve ark., 1976).

İntestinal fazda, asit içerikli kimusun ince bağırsağa geçmesiyle beraber duodenum mukozasında yer alan enteroendokrin ‘S’ hücreleri tarafından salgılanan

sekretin hormonu, pankreas kanallarına etki ederek bikarbonat iyon konsantrasyonu yüksek alkali sıvının kimusu nötralize etmesini sağlamaktadır. Kimusun mideden geçmesiyle kolesistokinin hormonu, duodenum ve jejunum mukozalarında yer alan 'I' hücrelerinden kana geçerek vagal uyarım olan asetilkolinle beraber pankreas asini hücrelerini uyarır. Böylelikle, protein, karbohidrat ve yağ sindirimi için elzem olan birçok sindirim enzimini bulunduran (Çizelge 1.1) pankreas sıvısı salgılanır. Kolesistokinin safra kesesinin kasılmasını sağlayarak, safra sıvısının bağırsak içine boşalmasını sağlar (Barrett ve ark., 2009, s:440). Ekzokrin pankreas tarafından duodenuma salgılanan, pankreatik sıvı alkali yapıda olup (pH 7-8) ve günlük yaklaşık 1500 mL'dir. Ekzokrin pankreas sonrası bağırsak mukoza enzimleri tarafından sindirime uğrayan kimus ile açığa çıkan besin yapı taşları ve su, enterositler tarafından aktif taşıma veya basit diffüzyon ile emilir. Kalan besin rezidüleri bağırsak içinde segmentasyonla kalın bağırsağa ilerler. Kolonda suyun ve elektrolitlerin emilmesi, safra tuzlarının yeniden emilmesi, fermentasyon gerçekleşmesi ile dışkı oluşumu gerçekleşir (Guerra ve ark., 2012).

Çizelge 1.1.Egzokrin sindirim enzimleri (Barrett ve ark., 2009, s:437)

Enzim	Aktivatör	Substrat	Hidroliz Fonksiyonu
Tripsin (tripsinogen)	Enteropeptidaz	Protein ve Polipeptidler	Bazik aminoasitlerin(arjinin ve lizin) karboksil ucundaki peptid bağların parçalanması.
Kimotripsin (Kimotripsinogen)	Tripsin	Protein ve Polipeptidler	Fenilalanin, tirozin, lösin ve triptofanın oluşturduğu peptonlardaki peptid bağlarını parçalar.
Elastaz	Tripsin	Elastin	Nötral alifatik zincirli amino asitlerin oluşturduğu elastindeki peptid bağlarını parçalar.
Karboksiptidaz A (Prokarboksiptidaz A)	Tripsin	Oligopeptitler	Aromatik ve alifatik zincirli nötral amino asitlerin oluşturduğu peptid bağlarını ve dipeptidleri parçalar.
Karboksiptidaz B (Prokarboksiptidaz B)	Tripsin	Oligopeptitler	Arjinin ve lizin gibi bazik amino asitlerin oluşturduğu peptid bağlarını parçalar.
Kolipaz (prokolipaz)	Tripsin	Yağ damlaları	Lipazın affinitesini artırır.
Kolesteril Ester Hidrolaz	-	Kolesteril esterleri	Kolesterol
Pankreatik Amilaz	-	Nişasta	Disakkarid ve trisakkaridlere parçalar
Pankreatik Lipaz	-	Trigliserid	Yağ asidleri ve monogliseridlere parçalar.
Ribonükleaz ve Deoksiribonükleaz	-	RNA ve DNA	Nükleotidlere ayırır.
Fosfolipaz A ₂	Tripsin	Fosfolipid	Yağ asidlerine hidrolizini sağlar.

1.2. Protein ve Yağ Sindirimi

Sindirim sisteminde, protein sindirimi gastrik faz ve intestinal faz olmak üzere iki fazda gerçekleşmektedir. Protein sindirimi mide lümeninde pepsin enzimi ile başlamaktadır. Pepsin enzimi, karboksil proteaz enzim grubunda yer almaktadır. Gastrik lümene inaktif pepsinojen prekürsörü olarak salgılanır ve asidik ortamda pepsin enzimine aktifleşmektedir. Midede asit salgılanması parietal hücrelerde gerçekleşmektedir. Midede, enterik sinirler ile asetilkolinin G hücrelerine etki ederek gastrin hormonu salgılatması ve vagus yollu vago-vagal refleksler HCL sekresyonunu sağlamaktadır. Böylece, proteinler denatüre olarak proteolitik yıkıma duyarlı hale gelmektedirler. Ayrıca, asidik ortam pepsinojenin pepsin enzimine dönüşümünü sağlamaktadır. Midenin fundus kısmında bulunan esas hücrelerden pepsinojen salgılanmaktadır. Endoproteaz pepsin enzimi, amino grup içeren aromatik aminoasitlerin yapısındaki peptid bağlarını hidroliz ederek polipeptidler, oligopeptidler ve serbest amino asitleri açığa çıkarmaktadır. Mide içeriği duodenuma geçtiğinde pankreatik salgılar ile nötralize edilmektedir ve pepsin enziminin inaktivasyonu sağlanmaktadır. Midede pepsin enziminin hidroliziyle oluşan peptonlar ince bağırsağa geçer (Barrett ve ark., 2009, s:455).

Pankreatik proteaz ve peptidazlarla protein sindiriminin lümenal fazı duodenumda gerçekleşmektedir. Pankreatik salgı vagal uyarı ve enteroendokrin hücreleri tarafından üretilen sekretin ve kolesistokinin hormonları tarafından kontrol edilmektedir. Asetilkolin ve kolesistokinin, pankreasın asiner hücrelerini uyarak sindirim enzimlerinin sekresyonunu ve elektrolit yapımını düzenlemektedir. Duodenum ve jejunumdan salgılanan sekretin ise iyon kanallarından bikarbonat salgılatarak mideden duodenuma geçen asidik içeriği nötralize etmektedir. Pankreas salgısının pH'sı 7-8 arasındadır ve günde yaklaşık 1 L salgılanmaktadır. Pankreatik salgı içerisinde su, elektrolit ve sindirim enzimleri bulunmaktadır. Ekzokrin pankreastan salgılanan inaktif formda olan endoproteazlar tripsinojen, kimotripsinojen ve proelastazdır. Ekzopeptidazlar ise inaktif olan prokarboksipeptidaz A ve B'dir. Zimojen enzimlerin aktivasyonu, duodenumdan salgılanan enterokinaz enzimi ile gerçekleşmektedir. Entrokinaz enzimi, tripsinojenin

amino ucundan hekzapeptidi uzaklaştırarak aktif olan tripsin oluşmasını sağlamaktadır. Aktif olan tripsin enzimi kimotripsinojen enzimini aktifleyerek kimotripsin oluşmasını, proelastazdan aktif olan elastaza, prokarboksipeptidazların aktifleşerek karboksipeptidaza dönüşümünü sağlamaktadır. Pankreatik enzimlerle, mideden gelen peptonların sindirimi sonucu oluşan son ürün daha çok dipeptid ve tripeptiddir. Bağırsak lümeninde bulunan enterositlerde aminopeptidaz ve dipeptidazlar ile parçalanarak serbest aminoasitlere hidroliz olurlar ve enterositlerden kana geçerler (Bhutia ve Ganapathy, 2018, s:1063).

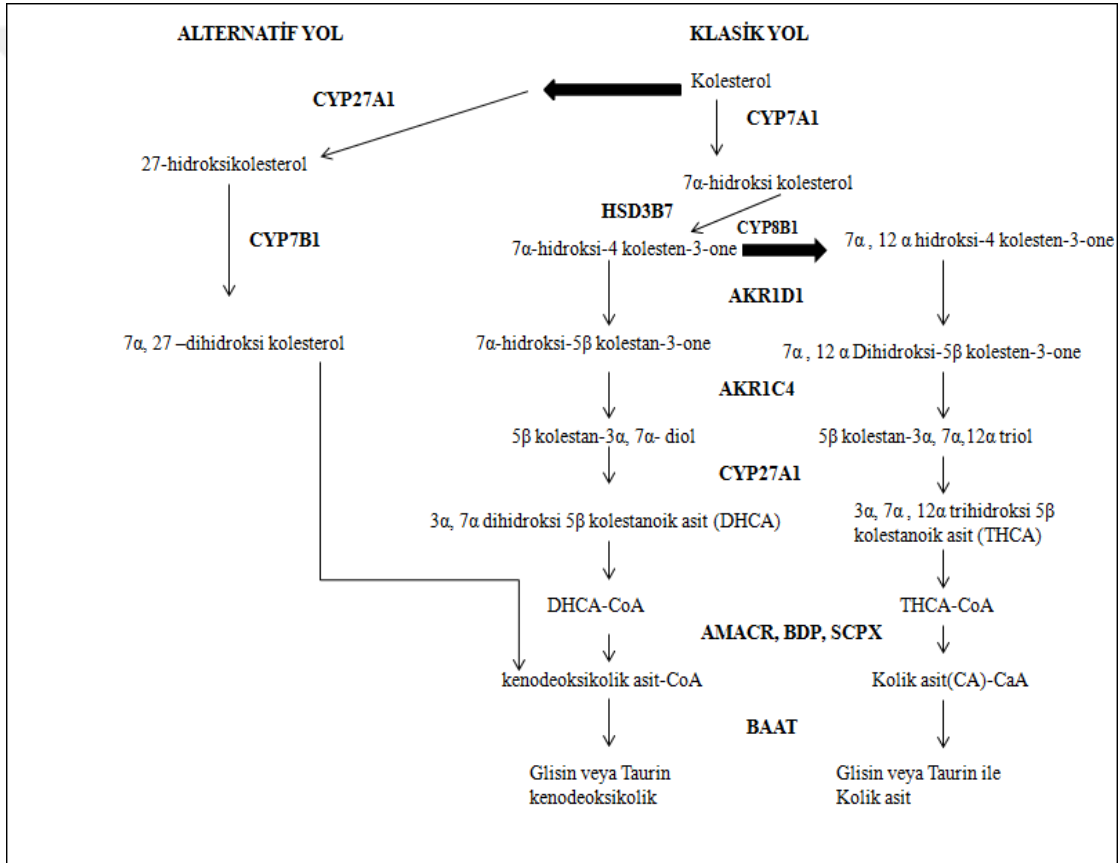
İnsan sindirim sisteminde, trigliserit yapıda olan diyet yağının ağıza alınmasıyla birlikte mekanik stimulasyon başlar ve beraberinde lingual lipaz salgılanır. Tükürük sıvısında aktif olmayan lingual lipaz pH 4.0'de aktif olarak; mide mukozasından salgılanan kolipaz ise pH 2-7 arasında aktif olup, lingual lipazla beraber triaçilgliserol sindiriminin %10'undan daha azını gerçekleştirir, bu nedenle yok sayılmaktadır (Hall, 2015, s:789). İnce bağırsağa gelen yağın duodenumda, kolesistokinin etkisi ile safra kanalından gelen safra salgısı ile emülsiyonu gerçekleşir. Safra salgısı içerisinde olan safra tuzu, lesitin ve fosfolipit, yağ damlalarının ince bağırsağın karıştırıcı etkisi ile misel oluşturarak yüzey alanını artırır. Kolesistokinin hormonu ile oddi sfinkterinin gevşemesi ve pankreatik lipazın duodenuma salgılanması, trigliseridlerin monogliserid, digliserid, serbest yağ asidi ve gliserole hidrolizini sağlamaktadır. Diyetle alınan kolesterol, pankreastan salgılanan kolesterol ester hidrolaz ile; fosfolipid ise fosfolipaz A₂ ile parçalanmaktadır (Barrett ve ark., 2009, s:458 ve Hall, 2015, s:789).

1.3. Safranın Sindirimde Rolü

Karaciğerde kolesterolde sentezlenen safra salgısı besinin duodenuma geçmesiyle beraber sekretin ve kolesistokinin hormonlarının etkisiyle safra kanallüküllerine verilir. Kolesterol, safra tuzları, lesitin, safra pigmentleri, bikarbonat ile eser elementler safra salgısını oluşturmaktadır (Barrett ve ark., 2009, s:443). Oddi

sfinkterinin kapalı olması durumunda duodenuma geçememesi halinde safra kesesinde depolanmaktadır (Hendry ve ark., 2014). Yetişkin bir insanda günde yaklaşık 400-800 ml safra, hepatositlerde üretilir. Biyosüfaktan etkisi olan safra tuzu fizyolojik olarak ince bağırsakta besinlerin ve yağda çözünen vitaminlerin sindirimi ve emilmesinde etkilidir (Mukhopadhyay ve Maitra, 2004). Açlık ve beslenme durumlarında GIS lümen bileşimini incelemek amacıyla yirmi sağlıklı insanda yapılan çalışmada, ince bağırsakta safra tuzu konsantrasyonun, aç ve tok olma durumuna göre 4-20 mM arasında değiştiği gözlemlenmiştir (Kalantzi ve ark., 2006). Karaciğerde kolesterol katabolizmasının son ürünü olan safra asitleri, yirmi dört karbon atomundan oluşan steroid kor yapıya sahiptir ve karaciğerde çok basamaklı reaksiyonlar ile sentezlenirler (Şekil 1.2). Safra asiti sentezi büyük oranda (%95) klasik yol olarak adlandırılan ve mikrozomal sitokrom p450 enzim ailesine ait kolesterol 7 α -hidroksilaz (CYP7A1) enziminin hız sınırlayan enzim olarak görev yaptığı yolak tarafından sentezlenir. Alternatif yolda ise sterol 27- hidroksilaz (CYP27A1) ve 25-hidroksikolesterol-7- α hidroksilaz (CYP7B1) görev almaktadır. Primer safra asitleri kolik asit (CA) ve kenodeoksikolik asit (CDCA) karaciğerde sentez edildikten sonra glisin ve taurin ile konjuge edilir ve safraya atılmaktadırlar. Konjuge edilen primer safra asitleri barsak florası yardımı ile dekonjuge ve dehidrolize edilirler. Bu reaksiyonlar sonucunda sekonder safra asitleri deoksikolik asit ve litokolik asit (DCA ve LCA) oluşur. Oluşan sekonder safra asitleri günde ortalama 12 defa tekrar eden enterohepatik sirkülasyona girerler ve karaciğere ulaşan safra asitleri negatif feedback ile safra asidi sentezini baskırlar. Karaciğer safra asit sentezi için gerekli olan tüm enzimleri bulundurmaktadır (Wen ve Campbell, 1977). Kimyasal olarak safra tuzları; karaciğerde kolesterolden sentezlenen primer safra asitlerinin (CA ve CDCA) ve GIS beta-hidroksilaz içeren bakterilerle oluşan sekonder safra asitlerinin (DCA ve LCA) glisin, taurin ve Na⁺ gibi katyonlarla birleşmesiyle meydana gelmektedir. Safra asidinin karboksil grubu ile eklenen amino asidin amino grubu arasında amid bağı oluşarak çözünürlüğü safra asidinden daha fazla olan safra tuzu oluşmaktadır (Maldonado Valderrama ve ark., 2011). Safra tuzunun yapısında bulunan hidrofilik ve hidrofobik yapılar safra tuzuna amfifilik özellik kazandırmaktadır. Ayrıca, GIS bulunan fosfolipid gibi diğer süfaktan maddelerin kimyasal yapısında baş-kuyruk bölümleri belirgin iken; safra tuzunun

kimyasal yapısı daha sıkı ve yassıdır. Bu nedenle, safra tuzunun biyolojik rolü diğer sürfaktan maddelerden daha farklıdır (Cabral ve Small, 1989, s:663). Safra tuzunun amfifilik yapısından dolayı hidrofobik yapıda olan özellikle lipidlere karşı güçlü yüzey aktivitesi göstermektedir. Aynı zamanda, bu özelliği safra tuzuna çözeltide kendiliğinden misel oluşturma yetkisi vermektedir (O'Connor ve ark., 1983). Safra tuzunun yaklaşık %95'i ince bağırsaktan emilerek portal venle karaciğere geri taşınmaktadır ve tekrar safra olarak salgılanmaktadır (enterohepatik dolaşım) (Barrett ve ark., 2009, s:438).



Şekil 1.2. Primer safra asitlerinin hepatositlerde de novo sentezi (Wen ve Campbell, 1977)

1.4. Yapay Sindirim Modelleri

Sindirim sistemi, fizyolojisine göre mide, safra, pankreas, ince bağırsak ve kolon yapay sindirimde modellenmiştir. Yapay sindirim modelleri yağ ve protein sindirimi asidik yapıda olan midede başladığı için genellikle mideden itibaren modellenmektedir. İnsan GIS fizyolojisi bebeklik, çocukluk, yetişkinlik ve yaşlılık çağlarında farklılık göstermekte olup yapay sindirim modelleri bu süreçler dikkate alınarak oluşturulmalıdır. Özellikle mide modellerinde, besin alımıyla ve kullanılan ilaçların etkisiyle değişen mide pH'sında çalışma tekrar edilmelidir (Yazıhan, 2017). Sindirim sistemi fizyolojisinin karmaşık yapısı, yapay sindirim modellerinin gıda, toksikoloji, farmakoloji ve mikrobiyoloji gibi alanlarda yoğun olarak kullanılmasını sağlamıştır (Guerra ve ark., 2012).

1.4.1. İn vitro Modeller

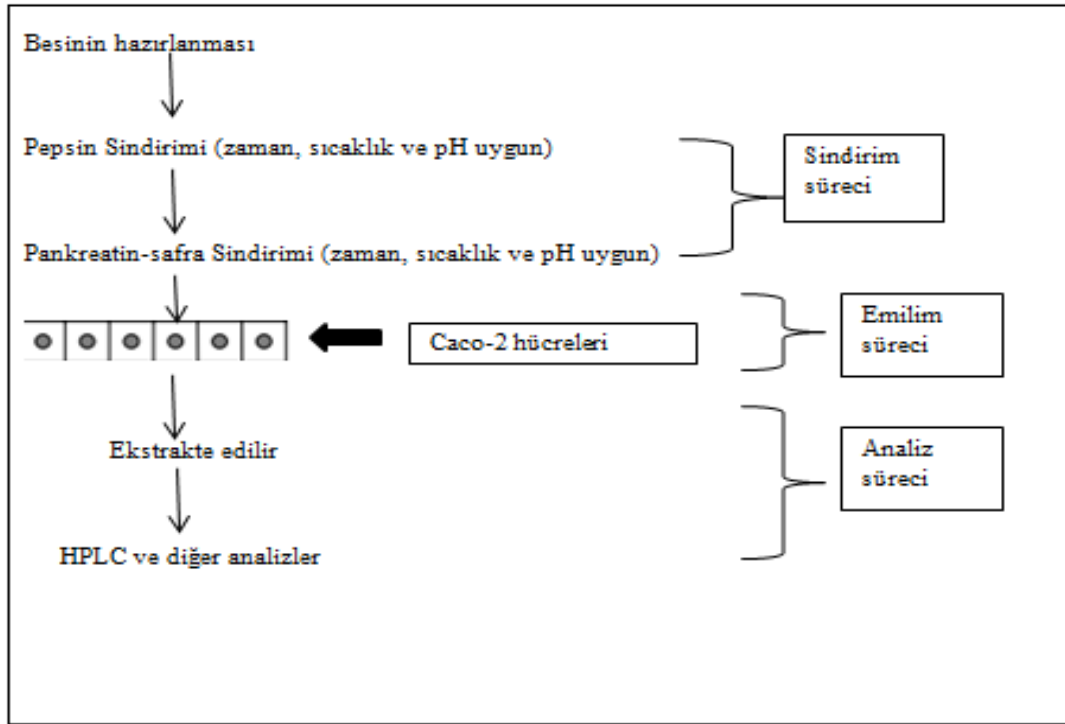
İn vitro sindirim modellerinde insan sindirim sistemi fizyolojisi modellenmiştir. Besinlerin GIS boyunca sindiriminde birçok faktör etkilidir. Besinlerin sindirimi, gıda ve sağlık arasında giderek artan ilişkiden dolayı gıda endüstrisinin ilgisini çeken karmaşık bir süreçtir (Bornhorst ve ark., 2016). İnsan sindirim sisteminde, alınan protein, yağ ve karbohidratlar midede ve bağırsakta sindirilerek emilebileceği yapı taşlarına ayırır ve enerji, büyüme, hücre onarımı için vücut tarafından kullanılabilir hale gelmektedir. Besinlerin sindirimi aynı anda meydana gelen mekanik ve kimyasal süreçler ile ilerlemektedir. Mekanik sindirim, daha büyük yapıda bulunan besinlerin küçük parçalara bölündüğü, ağızda çiğneme ile başlayarak mide-bağırsak hareketleri ile devam eden süreçtir. Kimyasal sindirim ise, mekanik olarak parçalanmış besinlerin sindirim sıvıları ve birçok farklı enzimler aracılığı ile bağırsak epitelinden kan dolaşımına emilebilecek hale gelme sürecidir. Ağızdan başlayarak bağırsak sindirimi boyunca devam eder (Alminger ve ark., 2014 ve Guerra ve ark., 2012). Kimyasal sindirim sırasında birçok organ özellikle hidrolitik enzimlerin salgılandığı pankreas, safra üretiminin gerçekleştiği karaciğer, hormonlar ve sinir

sistemi etkindir. Karmaşık fizyolojisi ve birçok aşaması olan insan sindirim sisteminin incelenmesi zorlu bir süreçtir. Bu nedenle, insan sindiriminde meydana gelen hem fizyolojik süreçleri taklit eden hem de sindirim sırasında gıdada meydana gelen fizikokimyasal değişimlerin gözlenebildiği in vitro modellere gereksinim duyulmaktadır (Minekus ve ark., 2014). Bu modeller sayesinde gıdanın GIS sırasında fizikokimyasal değişiminin, biyoaktivitesinin ve sindirilebilirliğinin bilinmesi yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesini sağlamaktadır (Fernández-García ve ark., 2012 ve Hedren ve ark., 2002). Ayrıca, deney hayvanı veya insan modeli kullanılarak yapılan sindirim çalışmalarının zor, pahalı ve etik açıdan sıkıntılı olması in vitro sindirim modellerine olan ihtiyacı artırmaktadır (Augustin ve ark., 2014). Bu nedenlerden dolayı, in vitro sindirim modellerinin kullanıldığı makale sayısı her yıl artış göstermektedir. Yapılan bir derlemede, insan gastrik ve intestinal modelleri kullanılarak yapılan çalışmaların son yirmi yıl içinde artarak önem kazandığını ve bu çalışmaların %85'inin bu süreçte olduğunu belirlemiştir. Ayrıca, bu çalışma in vitro sindirim modellerinin tüm gıdalar için kullanıldığını ancak genel olarak sebzeler (%26), süt ve ürünleri (%23), unlu besinler (%17), et ve ürünleri (%13), deniz ürünleri (%12) üzerine olduğunu göstermiştir (Lucas-Gonzalez ve ark., 2018).

İn vitro sindirime olan ilginin giderek artması sonucu protokol oluşturmak için çalışmalar başlamıştır. Farklı disiplinlerden 35'ten fazla ülkeden gelen araştırmacılar tarafından oluşturulan uluslararası INFOGEST ağı (<http://www.cost-infogest.eu>) in vitro sindirim koşullarında standart sağlama ihtiyacından dolayı kurulmuştur (Dupont ve ark., 2011). Minekus ve ark. (2014) yayınladığı INFOGEST çalışmasında ise, in vitro statik sindirim metodlarını ele alarak uluslararası yöntem birliği oluşturmak için öneriler vermiştir. Bu in vitro sindirim metodu, özellikle ziraat bilimleri için Web of Science veri tabanında 650'den fazla alıntı ile çok fazla atıf yapılmış makale statüsü kazanmıştır (Brodkorb ve ark., 2019).

İn vitro sindirim metodu kısa zamanda doğru sonuçlar verebilmelidir ve farklı yapılarda olan gıdaların sindiriminin devamında analiz edilmesini sağlayabilmelidir (Coles ve ark., 2005). Yaygın olarak kullanılan in vitro sindirim metodu olan statik

modellerde sindirim, oral, gastrik ve intestinal sindirim fazlarına özgü zaman, pH, sıcaklık, gastrik ve intestinal simule sıvılar kullanılarak gerçekleştirilir (Lucas-Gonzalez ve ark., 2018). Dinamik in vitro modellerinde, statik modellerden farklı olarak mide gövde ve fundus olarak ayrı ayrı modellenmiştir ve sindirim peristaltik hareketler ile gerçekleşir (Kong ve Singh, 2010). İn vitro sindirimin parçası olarak kullanılan hücre kültürü modellerinden en yaygını, insan kolon karsinoma (Caco-2) hücresidir (Hur ve ark., 2011). Caco-2 hücresi kullanılan in vitro sindirim yöntemi Şekil 1.3’de gösterilmiştir (Parada ve Aguilera, 2007).



Şekil 1.3. Caco-2 hücresi kullanılan in vitro sindirim yöntem şeması

1.5. Süt Proteinleri ve Yağları

Sütün bileşimine bakıldığında %87'sini su ve geriye kalan %13'ünü ise yağ, protein, karbohidratlar, suda çözünen vitaminler ve mineraller oluşturmaktadır (Jensen, 2002). Süt proteinleri, klasik olarak kazein ve serum proteinleri (whey

proteinleri) olarak sınıflandırılmaktadır. Sütün yapısında olan proteinlerin %80'ini kazein ve % 20'sini serum proteinleridir. β -laktoglobulin (beta laktoglobulin), α -laktalbümin (alfa laktalbümin), serum albümini, immünoglobulinler ve peptonlar ile diğer minör protein fraksiyonlar (laktoferrin vb.) serum proteinlerini oluşturmaktadır. Globüler yapıda olan serum proteinleri ikincil, üçüncül ve dördüncül yapıda ısıya duyarlı proteinlerdir. Esansiyel aminoasitlerin tamamı süt proteinlerinde bulunmaktadır. Kazein içindeki bazı amino asitlerin zincirlerindeki hidroksil grupları, fosforik asit ile esterleşebilmektedir. Bu esterleşme, kazeinin moleküller arasında güçlü köprüler oluşturan kalsiyum iyonlarına veya kolloidal kalsiyum hidroksifosfatına bağlanmasını sağlamaktadır. Süt, protein ve kalsiyum fosfat komplekslerinden oluşan kolloidal parçacıklar içermektedir. Bu heterojen kolloidler kazein miselleri olarak adlandırılmaktadır (Fox, 2003, s:43). Kazein miselinde, α_1 -kazein, α_2 -kazein, κ -kazein ve β -kazein olarak dört farklı ana protein fraksiyonu bulunmaktadır. Miselin kalan katı kısmını, kolloidal kalsiyum fosfat veya misel kalsiyum fosfat olarak adlandırılan inorganik materyal oluşturmaktadır (De Kruif ve ark., 2012). Misellerin bir arada olmasını sağlayan zayıf etkileşimleri; hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağları, iyon bağları, zayıf elektrostatik etkileşimler olarak tanımlanmaktadır. Serum proteinlerinin yaklaşık %25'ini α -laktalbümin oluşturmaktadır ve pepsin enzimi ile hidrolize olabilmektedir. β -laktoglobulin ise serum proteinlerinin %50-60'ını oluşturmaktadır. Midede bulunan proteolitik enzimlere ve asitliğe karşı β -laktoglobulin dayanıklılık göstermektedir (De Kruif ve ark., 2012 ve Gantner ve ark., 2015).

Süt yağının %98'i triağılgliceridlerden, kalanı ise diağılglicerol, monoağılglicerol, kolesterol, fosfolipit ve serbest yağ asitlerinden oluşmaktadır. Süt yağı triağılglicerolü 400'den fazla farklı yağ asidinden sentezlenmektedir (Jensen, 2002). Süt yağındaki majör yağ asitleri 4-18 karbonlu (4:0, 6:0, 8:0, 10:0, 12:0, 14:0, 16:0, 18:0) doymuş yağ asitleri, tekli doymamış (16:1, 18:1) ve çoklu doymamış (18:2, 18:3) yağ asitleridir. Ancak, yağ asidi kompozisyonu mevsim, yemin türü, laktasyon aşaması, hayvanın cinsine bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir (Gantner ve ark., 2015 ve Jensen, 2002).

Çizelge 1. 2. Farklı türlerin süt kompozisyonu (Gantner ve ark., 2015)

Süt kaynağı	TKM (g/ 100g)	Yağ (g/ 100g)	Protein (g/ 100g)	Laktoz (g/ 100g)	Enerji (kJ/100g)
İnsan	10-13	2,1-4,0	0,9-1,9	6,3-7,0	270-209
Eşek	8-12	0.3-1,8	1,4-2,0	5,8-7,4	160-180
İnek	12-13	3,3-6,4	3,0-4,0	4,4-5,6	270-280
Keçi	12-16	3,0-7,2	3,0-5,2	3,2-4,5	280-290
Koyun	18-20	4,9-9,0	4,5-7,0	4,1-5,9	410-440

Bu tez çalışması ile in vitro süt sindirim yöntemi için safra tuzu konsantrasyonu belirlemek amaçlanmıştır. İn vitro süt protein sindirimi için gastrik sindirim pH 2 ve 6 olarak belirlenmiştir. Pankreatik sindirim pH 7.5-8.0 arasında safra tuzu eklenmeden (safra tuzu(-)) ve altı farklı dozda safra tuzu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Safra tuzu dozlarına göre süt sindiriminde açığa çıkan toplam aminoasit ve serbest yağ asitlerinin analizi yapılmıştır. Elde edilen bulguların, in vitro süt sindirim yöntemine katkı sağlaması hedeflenmiştir.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. İn Vitro Sindirim

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

Gastrik faz çalışmasında 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).

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. Pankreatik fazı değerlendirmek için gastrik sindirim simülasyonu ile sindirime uğramış ürünler pankreatik enzimlerle pH 7.5-8.0 aralığında 37 °C'de 2 saat süre ile inkübe edilmiştir.

Gastrik sindirim ürünlerinin pankreatik sindirim değerlendirmeleri öncesi örneklere sodyum bikarbonat (NaHCO₃) (Sigma Aldrich, ABD), pankreatin (Sigma Aldrich, ABD), 150 mM sodyum klorür (NaCl) (Sigma Aldrich, ABD), 39 Mm potasyum hidrojen fosfat (K₂HPO₄) (Sigma Aldrich, ABD), 30 mM kalsiyum klorür (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 tuzu karışımı

(sodyum glikolat ve sodyum taurokolat) (Sigma Aldrich, ABD) farklı dozlarda eklenmiş ve pH 7.5-8.0 aralığında, 37 °C/ 2 saat koşullarında inkübe edilmiştir (Minekus ve ark., 2014). Pankreatik sindirim için altı farklı safra tuzu dozu belirlenmiştir. Her 1 mg örnek için 0,12 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2,5 mg, 5 mg safra tuzu kullanılmıştır ve safra tuzu(-) sindirim gerçekleştirilmiştir (Calvo-Lerma ve ark., 2018).

2.2. Toplam Amino Asit Analizi

Örneklerin toplam amino asit tayininde Ardö ve Polychroniadou (1999)'nun çalışmasında belirtilen trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Örnekler sindirim öncesi ve sonrası santrifüj edilmiş ve ayrılan süpernetant deiyonize su ile uygun konsantrasyonda seyreltilmiştir. TCA ile proteinler çöktürülmüş ve filtre edilmiştir. 0,5 ml dilüe filtrat 0,5 ml borat tamponu ve 1 ml TNBS çözeltisiyle karıştırılmıştır. Karışım 60 dakika süre ile 37 °C'de inkübe edilmiş absorbans ölçümleri 420 nm'de gerçekleştirilmiştir. Standart kalibrasyon eğrisi çiziminde lösin amino asitinden yararlanılmıştır. Bu nedenle, 0,005-0,5 mM konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmış kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Sonuçlar, mg lösin/g örnek olarak verilmiştir.

2.3. Serbest Yağ Asitleri Analizleri

Sindirim örneklerinin serbest yağ asidi düzeyleri De Jong ve Badings (1990), tarafından kullanılan yöntem modifiye edilerek, gaz kromatografisi/alev iyonizasyon dedektörü (GC/FID) (ThermoScientific 1300 GC) ile belirlenmiştir. Analizde iç standart olarak pentanoik asit (C_{5:0}), nonanoik asit (C_{9:0}), heptadekanoik asit (C_{17:0}) kullanılmıştır. 4 mL sindirim örneğinden serbest yağ asitleri ekstrakte edilmiş ve elde edilen bu ekstrakt aminopropil katı faz ekstraksiyonu (SPE) kartuştan geçirilmiş ve konsantre hale getirilmiştir. Devamında SPE'den elde edilen örnek (3 µl) 250 °C'de

GC sistemine enjekte edilmiştir. Ayrımında FFAP kolon (TR-FFAP (30 m uzunluk x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı)) kullanılmıştır. Ayrımlar 1:10 split ve 2 mL/dk helyum gazı akış koşullarında gerçekleştirilmiştir. Kolon başlangıç sıcaklığı 100 °C olarak ayarlanmış (1 dk) ve ardından dakikada 10 °C artış hızı ile kolon sıcaklığı 240 °C'ye getirilmiş ve 15 dakika beklenmiştir. FID dedektör sıcaklığı 260 °C olarak belirlenmiştir. Sonuçlar; dış standart ve iç standart kullanılarak hesaplanmış ve ppm olarak verilmiştir.

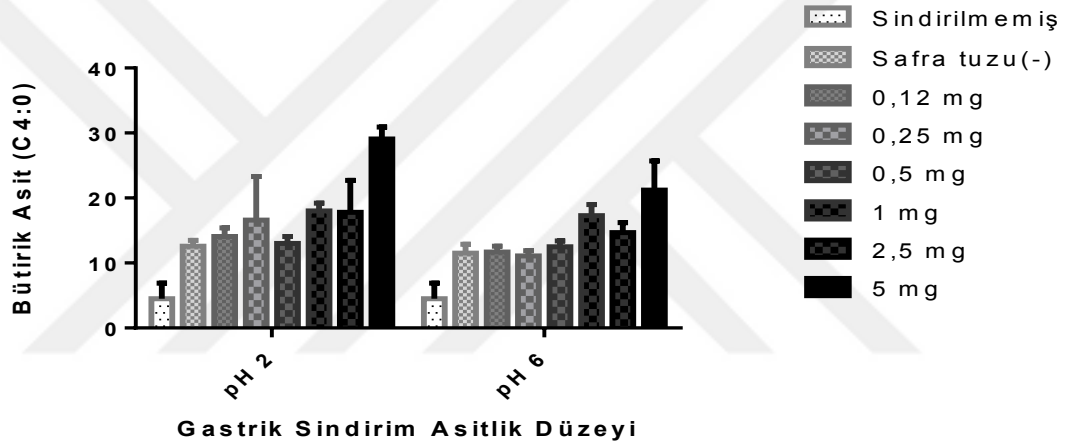
2.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler için IBM SPSS-22 kullanılmıştır. Gruplar arası değerlendirme için One-Way Anova, gruplar arası anlamlılığı belirlemek için Post-Hoc Tukey ve Tamhane testleri uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Anlamlılık p değeri <0,05 olarak belirlenmiştir. Grafikler için GraphPad Prism 6. kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Serbest Yağ Asitleri Analiz Sonuçları

Asitlik seviyesi pH 2 ve pH 6 olan gastrik sindirimi takiben farklı konsantrasyonlarda yapılan pankreatik sindirimde süt örneğinin serbest yağ asit sonuçları GC analizine göre grafikleştirilerek verilmiştir.



Şekil 3.1. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin bütirik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

GC analizine göre bütirik asidin, farklı safra tuzu dozlarına göre gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirim sonuçları Şekil 3.1’de verilmiştir.

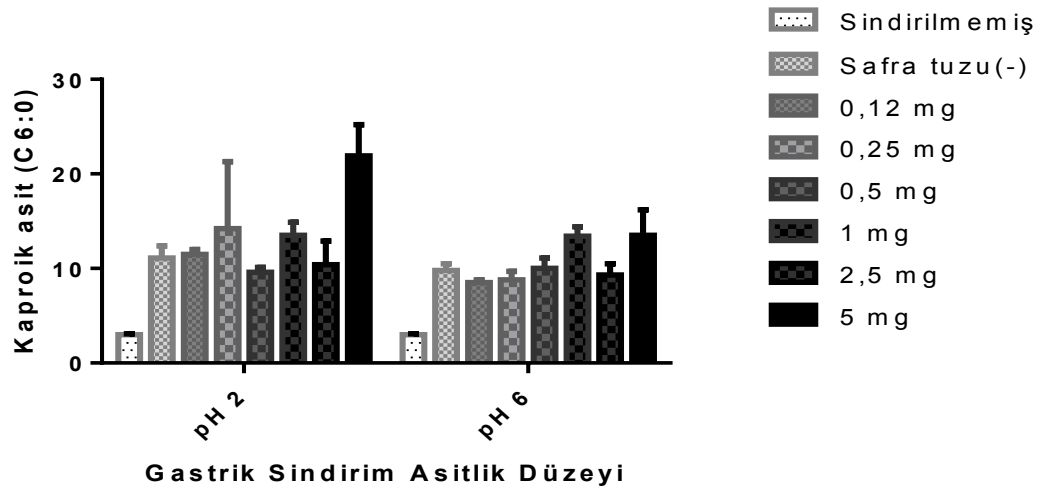
Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde bütirik asit, 5 mg safra tuzu kullanılarak gerçekleştirilen sindirimde, 0,12 mg, 0,5 mg, 1 mg safra tuzu kullanılanlara ve safra tuzu(-) gerçekleştirilene kıyasla daha fazla gözlemlenmiştir (sırasıyla $p=0,003$, $p=0,002$, $p=0,014$, $p=0,005$). Safra tuzu miktarı 1 mg ile yapılan

sindirim analizine göre dört karbonlu doymuş yağ asidi, safra tuzu(-) ($p=0,045$) göre artış göstermiştir.

Gastrik pH 6'da sindirimi takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerin dört karbonlu yağ asidi içeriği, 5 mg safra tuzu kullanılarak gerçekleştirilen sindirimde, diğer dozlara ve safra tuzu(-) göre artış göstermiştir, ancak anlamlı fark bulunmamaktadır.

Gastrik asitlik seviyesine göre bütirik asit miktarı karşılaştırıldığında; gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirim sonucunda örneklerin bütirik asit miktarı, gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirim sonucuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0,000$). Gastrik pH 2 sindirimini takiben 5 mg safra tuzuyla yapılan pankreatik sindirimde bütirik asit, gastrik pH 6 sindirimi sonrası 0,12 mg ($p=0,004$), 0,25 mg ($p=0,004$), 0,5 mg ($p=0,005$), 1 mg ($p=0,009$), 2,5 mg ($p=0,003$) safra tuzu kullanılarak ve safra tuzu(-) ($p=0,001$) yapılan pankreatik sindirimden fazla gözlemlenmiştir.

GC analizine göre kaproik asidin, farklı safra tuzu dozlarına göre gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimini takiben pankreatik sindirim sonuçları Şekil 3.2'de şematize edilmiştir.



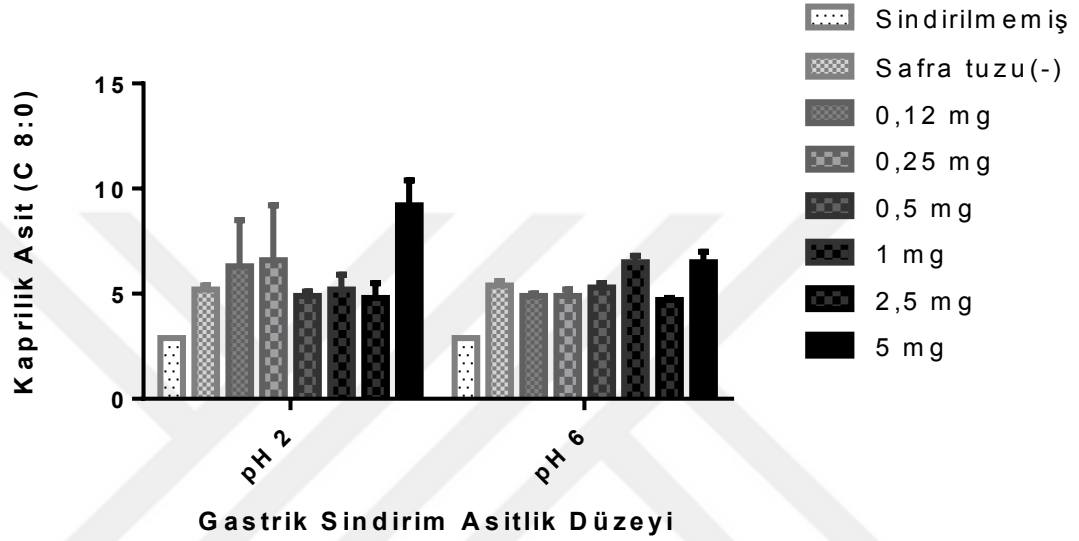
Şekil 3.2. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin kaproik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde altı karbonlu kaproik yağ asidi miktarı, 0,12 mg ($p=0,00$), 1 mg ($p=0,01$), 5 mg ($p=0,04$), 0,5 mg ($p=0,001$) safra tuzu kullanılarak ve safra tuzu(-) ($p=0,03$) yapılan sindirimde, sindirime uğramamış süte göre artış göstermiştir. Gastrik pH 2 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu kullanılarak yapılan sindirimde örneğin kaproik asit içeriği diğer dozlardan daha yüksek gözlemlenmiştir. Ancak, safra tuzu dozları arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde ise altı karbonlu yağ asidi, 0,12 mg safra tuzu ($p=0,045$) ve 0,25 mg safra tuzu ($p=0,020$) kullanılarak yapılan sindirimlere kıyasla, 1 mg safra tuzu kullanılanda daha yüksek bulunmuştur. Gastrik pH 6 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu kullanılarak yapılan pankreatik sindirimde örneklerin kaproik asit içeriği diğer dozlardan daha yüksek gözlenmiştir ancak anlamlı fark bulunmamıştır.

Gastrik asitlik seviyesine göre kaproik asit miktarı karşılaştırıldığında; gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirim sonucunda örneklerin kaproik asit miktarı, gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirim sonucuna

göre daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0,000$). Gastrik pH 2 sindirimini takiben 0,12 mg safra tuzuyla yapılan pankreatik sindirimde, gastrik pH 6 ile aynı dozda yapılanla kıyasla fazla gözlemlenmiştir ($p=0,017$). Diğer safra tuzu dozları arasında anlamlı fark bulunmamıştır.



Şekil 3.3. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin kaprilik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

GC analizine göre kaprilik asit miktarı, farklı safra tuzu dozlarına göre gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimini takiben pankreatik sindirim sonuçları Şekil 3.3’de şematize edilmiştir.

Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde, safra tuzu 0,5 mg kullanılarak ve safra tuzu(-) ile yapılan sindirimde sekiz karbonlu kaprilik asit, sindirilmemiş süte göre yüksek bulunmuştur ($p=0,16$ ve $p=0,001$). Safra tuzu miktarı 5 mg kullanılarak yapılan sindirimde kaprilik asit, 2,5 mg safra tuzu kullanılabileceğine göre daha yüksek bulunmuştur ($p=0,046$). Kaprilik asit miktarı, gastrik pH 2 sindirimini takiben 0,12 mg ve 0,25 mg safra tuzu kullanılarak yapılan pankreatik sindirim analizinde yüksek bulunmuştur ancak dozlar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.

Gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde kaprilik asit (C8:0), 1 mg safra tuzu ile yapılan sindirimde, 0,12 mg ($p=0,035$), 2,5 mg ($p=0,016$) ve 0,25 mg ($p=0,022$) safra tuzlarıyla yapılan sindirimlere kıyasla yüksek bulunmuştur. Gastrik pH 6 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu ile yapılan pankreatik sindirimde kaprilik asit diğer dozlardan daha fazla bulunmuştur ancak anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Gastrik asitlik seviyesine göre kaprilik asit miktarı karşılaştırıldığında; gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirim sonucunda örneklerin kaprilik asit miktarı, gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirim sonucuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Ancak, anlamlı farklılık saptanmamıştır.

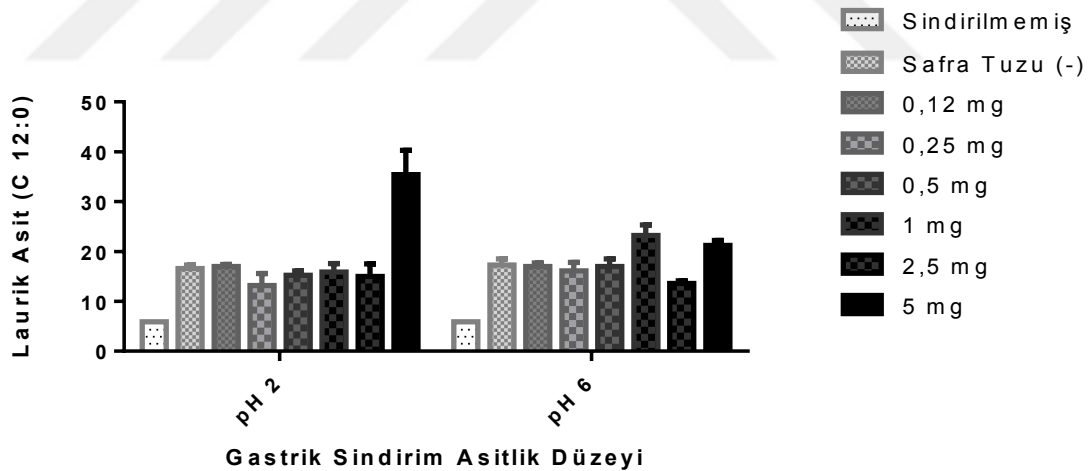


Şekil 3.4. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin kaprik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu ile yapılan pankreatik sindirimde on karbonlu yağ asidi daha yüksek gözlenmiştir ancak safra tuzu dozları arasında anlamlı düzeyde farklılık bulunmamıştır.

Gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde ise kaprik asit, safra tuzu miktarı 1 mg kullanılan sindirimde, 2,5 mg kullanılabana kıyasla yüksek seviyede tespit edilmiştir ($p=0,042$). Safra tuzu miktarı 5 mg ile yapılan sindirimde, 2,5 mg safra tuzları ile yapılan sindirimlere kıyasla kaprik asit, daha yüksek bulunmuştur ($p=0,002$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben safra tuzu miktarı 1 mg kullanılarak yapılan pankreatik sindirimde kaprik asit, 5 mg safra tuzu ile yapılan sindirime kıyasla az miktarda yüksek olduğu görülmüştür.

Kaprik asit, gastrik pH 2 sonrası yapılan pankreatik sindirimde, gastrik pH 6 sonrası yapılabana kıyasla yüksek gözlemlenmiştir ($p=0,000$). Gastrik pH 2 sonrası 5 mg safra tuzu kullanılarak yapılan pankreatik sindirimde kaprik asit miktarı, gastrik pH 6 sonrası 0,25 mg ($p=0,012$), 2,5 mg ($p=0,029$) safra tuzlarıyla ve safra tuzu(-) ($p=0,018$) yapılan pankreatik sindirime göre yüksek bulunmuştur.



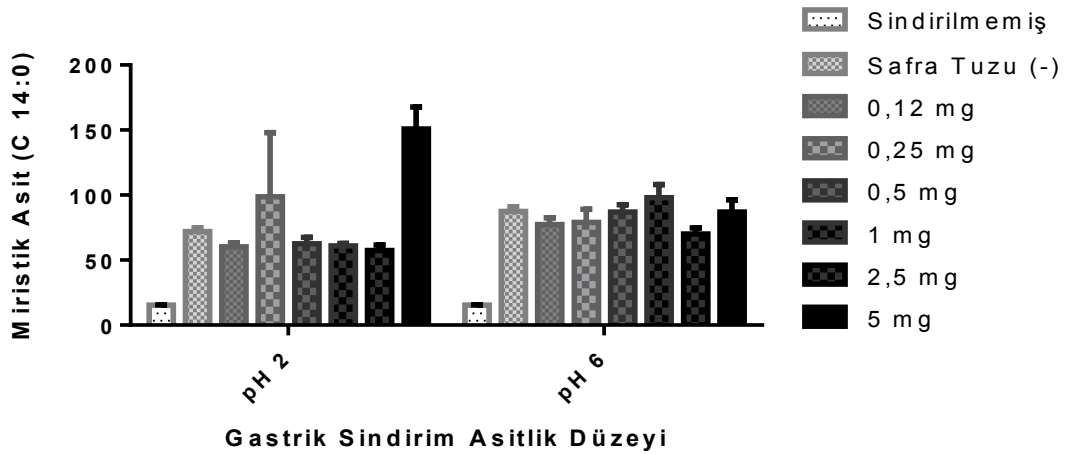
Şekil 3.5 Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin laurik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde, laurik asidin (C 12:0), safra tuzunun her 1 mg örnek için 5 mg kullanıldığı sindirim analizinde, 2,5 mg kullanılabana göre artışı görülmüştür ($p=0,03$). Gastrik pH 2 sindirimini takiben 5

mg safra tuzu eklenerek yapılan pankreatik sindirimde laurik asit miktarı diğer dozlardan daha yüksek bulunmuştur. Ancak, anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde ise laurik asit, safra tuzu miktarı 1 mg kullanılarak yapılan sindirimde, 0,12 mg, 2,5 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzlarıyla ve safra tuzu(-) yapılan deneylere kıyasla artışı gözlemlenmiştir ($p=0,000$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu kullanılarak yapılan pankreatik sindirimde laurik asit miktarı, 0,12 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 2,5 mg safra tuzu kullanılarak ve safra tuzu(-) yapılan pankreatik sindirimlere kıyasla yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,005$, $p=0,001$, $p=0,006$, $p=0,000$, $p=0,012$). Gastrik pH6 sindirimini takiben 1 mg safra tuzu ile yapılan pankreatik sindirimde laurik asit miktarı, 5 mg safra tuzu kullanılan pankreatik sindirime göre artış göstermiştir ancak anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Sütün laurik asit içeriği gastrik pH 2 sindirimi takiben yapılan pankreatik sindirim sonrası gastrik pH 6 sindirimini takibene kıyasla yüksek bulunmuştur ($p=0,000$). Ancak, gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde safra tuzu dozları arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

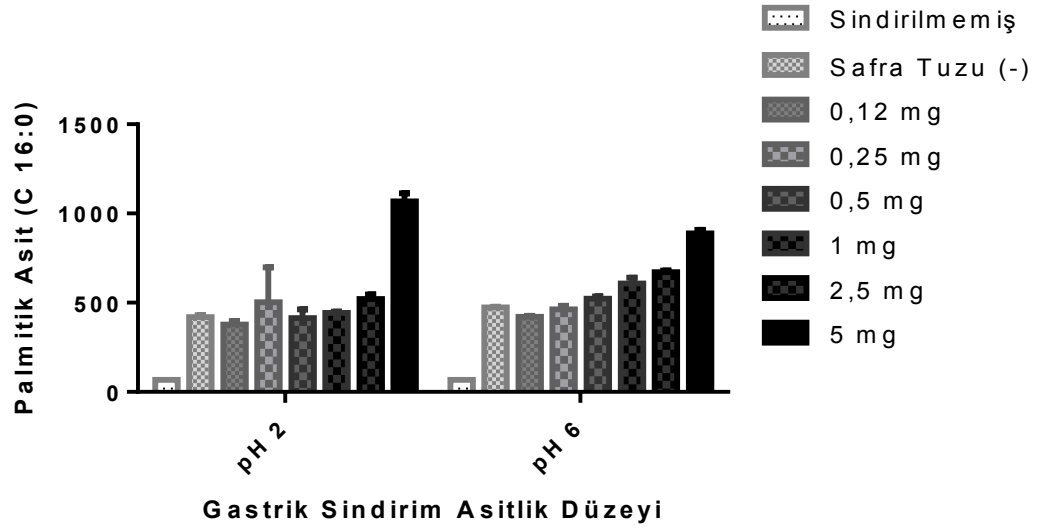


Şekil 3.6. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin miristik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir). Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde, miristik asit (C 14:0), her 1 mg için kullanılan safra tuzunun 0,12 mg ($p=0,038$), 1 mg ($p=0,45$), 2,5 mg ($p=0,027$) ve 0,5 mg ($p=0,029$) kullanıldığı analizlere kıyasla safra tuzu 5 mg kullanılanda daha yüksek bulunmuştur. Gastrik pH 2 sindirimini takiben 0,25 mg safra tuzu kullanılarak yapılan pankreatik sindirimde miristik asit yüksek gözlenmiştir ancak yüksek sapmadan kaynaklandığı için anlamlılık bulunmamıştır.

Gastrik pH 6'da sindirimi takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerin miristik yağ asidi seviyesi, 1 mg safra tuzu ile yapılan sindirimde diğer dozlardan daha fazla bulunmuştur, ancak anlamlı fark görülmemiştir.

Gastrik pH 6'da sindirimi takiben 0,5 mg safra tuzuyla yapılan pankreatik sindirimde miristik asit, gastrik pH 2 sonrası 2,5 mg safra tuzuyla yapılan sindirime kıyasla yüksek bulunmuştur ($p=0,024$). Gastrik pH 6'da sindirimi takiben safra tuzu(-) devam edilen pankreatik sindirimde miristik asit miktarı, gastrik pH 2 sonrası 0,12 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2,5 mg safra tuzuyla ve safra tuzu(-) yapılan sindirimlere kıyasla yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,003$, $p=0,033$, $p=0,009$, $p=0,006$, $p=0,005$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirim sonrası açığa çıkan miristik asit miktarı, gastrik pH 2'ye kıyasla daha fazla bulunmuştur ($p=0,000$).



Şekil 3.7. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin palmitik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde, palmitik asit (C 16:0) 5 mg safra tuzu kullanılarak yapılan sindirimde, 0,12 mg ($p=0,000$), 1 mg ($p=0,002$), 2,5 mg ($p=0,000$), 0,5 mg ($p=0,000$) safra tuzu kullanılan ve safra tuzu(-) ($p=0,001$) ile yapılanlara kıyasla yüksek bulunmuştur. Safra tuzu miktarı 2,5 mg ile yapılan deneylerde, safra tuzu bulunmayana ($p=0,047$) ve 0,12 mg ($p=0,004$) safra tuzu ile yapılanlara göre artışı gözlemlenmiştir.

Gastrik pH 6'da sindirimi takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerin palmitik asidin (C16:0) seviyesi, safra tuzu miktarı 5 mg ile yapılan sindirim analizinde, 0,12 mg, 1 mg, 2,5 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzlarıyla ve safra tuzu(-) sindirimlere kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,000$, $p=0,001$, $p=0,000$).

Gastrik pH 6 sindirimini takiben açığa çıkan palmitik asit miktarı, gastrik pH 2'ye kıyasla daha fazla bulunmuştur ($p=0,000$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu ile pankreatik sindirimde palmitik asit seviyesi, gastrik pH 2 sonrası 0,12 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2,5 mg safra tuzuyla ve safra tuzu(-) yapılan sindirimlere

kıyasla yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,000$, $p=0,008$, $p=0,000$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben 0,5 mg safra tuzu ile pankreatik sindirimde palmitik asit seviyesi, gastrik pH 2 sonrası 0,12 mg, 1 mg safra tuzuyla ve safra tuzu(-) yapılanlara kıyasla yüksek gözlenmiştir (sırasıyla $p=0,007$, $p=0,012$, $p=0,001$).



Şekil 3.8. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin stearik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde, stearik asit (C 18:0) içeriği safra tuzu miktarı 5 mg ile yapılan sindirimde, 0,12 mg ($p=0,012$), 1 mg ($p=0,016$), 2,5 mg ($p=0,035$), 0,5 mg ($p=0,007$), 0,25 mg ($p=0,042$) ile yapılanlara ve safra tuzu(-) ($p=0,037$) kıyasla daha yüksek bulunmuştur.

Gastrik pH 6'da sindirimi takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerin stearik asit içeriği safra tuzu miktarı 5 mg ile yapılan sindirimde, 0,12 mg safra tuzuna kıyasla yüksek bulunmuştur ($p=0,031$). Stearik asit seviyesinin, 2,5 mg safra tuzu kullanılan sindirimde, 0,12 mg, 1 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzlarıyla ve safra tuzu bulunmayan ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,002$, $p=0,035$, $p=0,003$, $p=0,000$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerin stearik asit içeriği safra tuzu miktarı

5 mg ile yapılan sindirimde, 2,5 mg safra tuzu kullanılarına kıyasla yüksektir ancak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde açığa çıkan stearik asit miktarı, gastrik pH 2'ye kıyasla daha fazla bulunmuştur ($p=0,000$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben 5 mg safra tuzuyla yapılan sindirimde, gastrik pH 2 0,5 mg safra tuzuyla yapılanla kıyasla yüksek gözlenmiştir ($p=0,035$). Diğer dozlar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

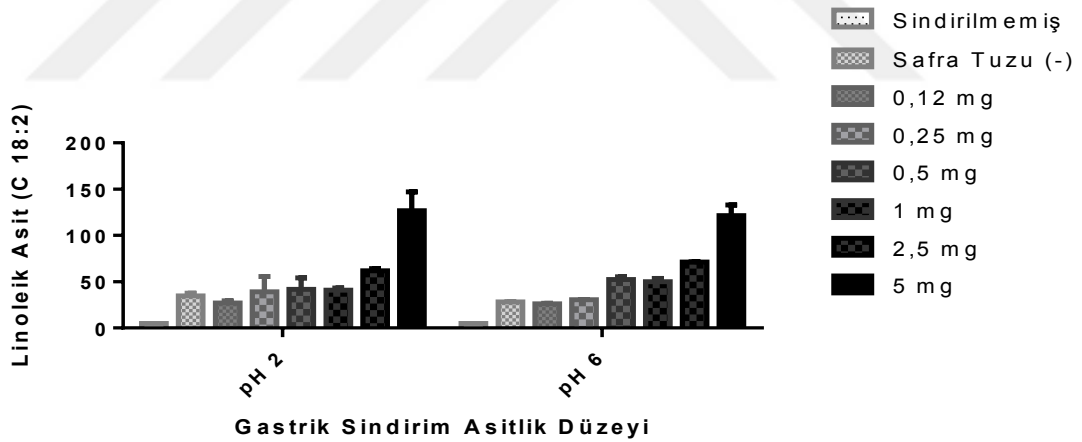


Şekil 3.9. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin oleik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde, oleik asidin (C 18:1) safra tuzu 2,5 mg ile yapılan sindirimi sonrası seviyesi, 0,12 mg ($p=0,004$) ve 1 mg ($p=0,004$) ile yapılanlara kıyasla yüksek bulunmuştur. Safra tuzu 5 mg ile yapılan sindirimde, 0,12 mg ($p=0,000$), 1 mg ($p=0,004$), 2,5 mg ($p=0,005$) ve safra tuzu(-) ($p=0,000$) olarak yapılanlara göre yüksek bulunmuştur. Gastrik pH 2 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu ile yapılan pankreatik sindirimi sonrası oleik asit seviyesi 2,5 mg safra tuzu kullanılarına kıyasla yüksek bulunmuştur ($p=0,005$).

Gastrik pH 6 sindirimini takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerde, oleik asit safra tuzu miktarı 1 mg ile yapılan deneyde, 0,25 mg safra tuzu kullanılarına kıyasla daha yüksek bulunmuştur ($p=0,035$). Safra tuzu miktarı 5 mg kullanılanda ise 0,12 mg, 1 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzlarıyla ve safra tuzu(-) ile karşılaştırıldığında artışı tespit edilmiştir ($p=0,013$, $p=0,010$, $p=0,027$, $p=0,006$, $p=0,021$).

Gastrik pH 2 sindirimini takiben açığa çıkan oleik asit miktarı, gastrik pH 6'ya kıyasla daha fazla bulunmuştur ancak anlamlı fark gözlenmemiştir. Gastrik pH 2 sindirimini takiben 5 mg safra tuzuyla yapılan sindirimde oleik asit içeriği, gastrik pH 6 sindirimi sonrası 0,12 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2,5 mg safra tuzuyla ve safra tuzu(-) yapılanlara göre yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,012$, $p=0,003$, $p=0,021$, $p=0,002$, $p=0,046$, $p=0,021$).



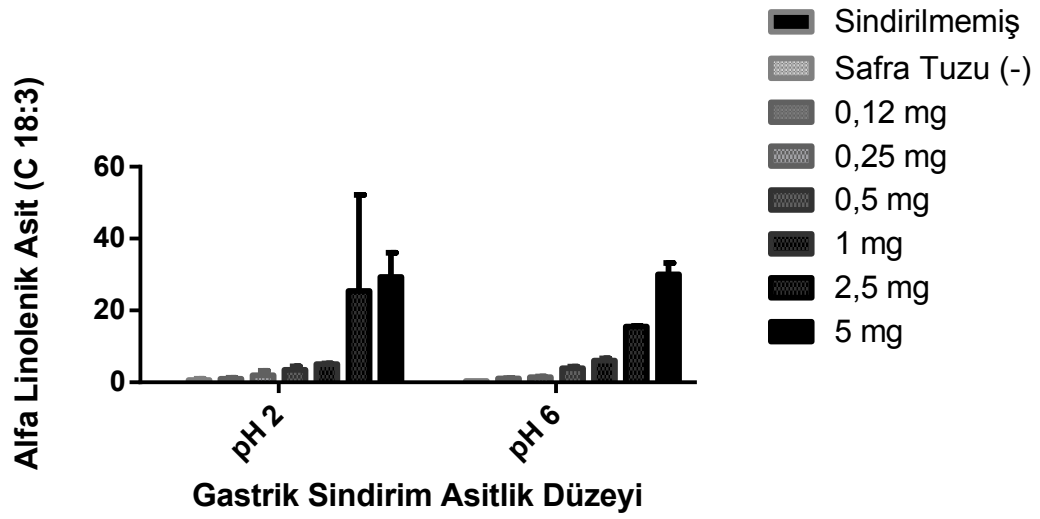
Şekil 3.10. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin linoleik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2'de sindirimi takiben yapılan pankreatik sindirimde linoleik asidin, safra tuzu 2,5 mg kullanılan sindirim sonrası seviyesinin, 0,12 mg ($p=0,000$), 1 mg ($p=0,000$) safra tuzlarıyla ve safra tuzu(-) ($p=0,000$) yapılanlara kıyasla artışı gözlenmiştir. Safra tuzu miktarı 5 mg ile yapılan sindirimde, 0,5 mg ($p=0,024$) ve 0,25 mg ($p=0,018$) ile yapılan analizlere göre linoleik asit düzeyi daha yüksek tespit

edilmiştir. Safra tuzu miktarı 1 mg kullanıldığında, safra tuzu 0,12 mg ile yapılan sindirime göre yüksek olduğu gözlenmiştir ($p=0,006$). Gastrik pH 2 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu ile yapılan pankreatik sindirimi sonrası linoleik asit seviyesi 2,5 mg safra tuzu kullanılabana kıyasla yüksek bulunmuştur ancak anlamlı fark gözlenmemiştir.

Gastrik pH 6 sindirimini takiben pankreatik sindirimde, linoleik asit içeriği safra tuzu 2,5 mg ile yapılan sindirim analizinde, 0,12 mg, 1 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzu miktarlarıyla ve safra tuzu(-) ile yapılan sindirime kıyasla yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,000$, $p=0,034$, $p=0,022$, $p=0,000$, $p=0,000$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu kullanılarak yapılan pankreatik sindirimde linoleik asit içeriği 0,12 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 1 mg safra tuzu kullanılan ve safra tuzu(-) pankreatik sindirimlere kıyasla yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,013$, $p=0,015$, $p=0,022$, $p=0,015$, $p=0,014$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu kullanılarak yapılan pankreatik sindirimde linoleik asit içeriği, 2,5 mg safra tuzu ile yapılabana kıyasla yüksektir ancak anlamlı fark saptanmamıştır.

Gastrik pH 6 sindirimini takiben açığa çıkan linoleik asit miktarı, gastrik pH 2'ye kıyasla daha fazla bulunmuştur ($p=0,000$). Gastrik pH 6 sindirimi sonrası 0,5 mg safra tuzuyla yapılan pankreatik sindirimde, gastrik pH 2 sindirimini takiben 0,12 mg safra tuzuyla ($p=0,001$) ve safra tuzu(-) ($p=0,004$) yapılabana göre yüksek bulunmuştur. Gastrik pH 6 sindirimi sonrası 5 mg safra tuzuyla yapılan pankreatik sindirimde linoleik asit miktarı, gastrik pH 2 sindirimini takiben 0,25 mg ($p=0,003$), 0,5 mg ($p=0,009$) safra tuzları kullanılarak ve safra tuzu(-) ($p=0,004$) yapılan pankreatik sindirimde yüksek bulunmuştur.

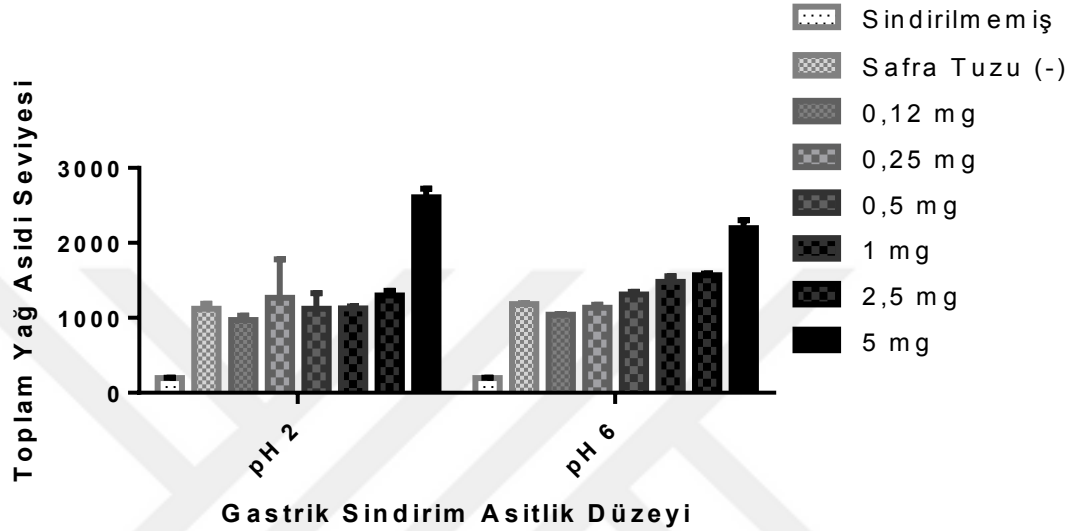


Şekil 3.11. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin alfa linolenik asit içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2’de sindirimi takiben alfa linolenik asit, 1 mg safra tuzu ile yapılan sindirim analizinde, 0,12 mg safra tuzuna ($p=0,000$) ve safra tuzu(-) ($p=0,000$) kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Gastrik pH 2’de sindirimi takiben 5 mg ve 2,5 mg safra tuzu kullanılan pankreatik sindirimde alfa linolenik asit miktarı diğer dozlardan daha yüksek bulunmuştur. Ancak, safra tuzu dozları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde ise alfa linolenik asit, safra tuzu miktarı 2,5 mg ile yapılan sindirimde, 0,12 mg, 1 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzları ve safra tuzu bulunmayan ile yapılan deneylere kıyasla yüksek bulunmuştur ($p=0,000$). Safra tuzu 5 mg ile yapılan sindirimde ise alfa linolenik asit, 0,12 mg, 1 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzları ve safra tuzu(-) ile karşılaştırıldığında artışı gözlemlenmiştir ($p=0,011$, $p=0,014$, $p=0,011$, $p=0,011$, $p=0,010$). Gastrik pH 2’de sindirimi takiben 5 mg ve 2,5 mg safra tuzu kullanılan pankreatik sindirimde alfa linolenik asit miktarı diğer dozlardan daha yüksek bulunmuştur

Gastrik pH 2 sindirimini takiben açığa çıkan alfa linolenik asit miktarı, gastrik pH 6'ya kıyasla daha fazla bulunmuştur ($p=0,000$). Ancak, pH 2 ve pH 6 sindirimini takiben yapılan safra tuzları arasında anlamlı fark bulunmamaktadır.



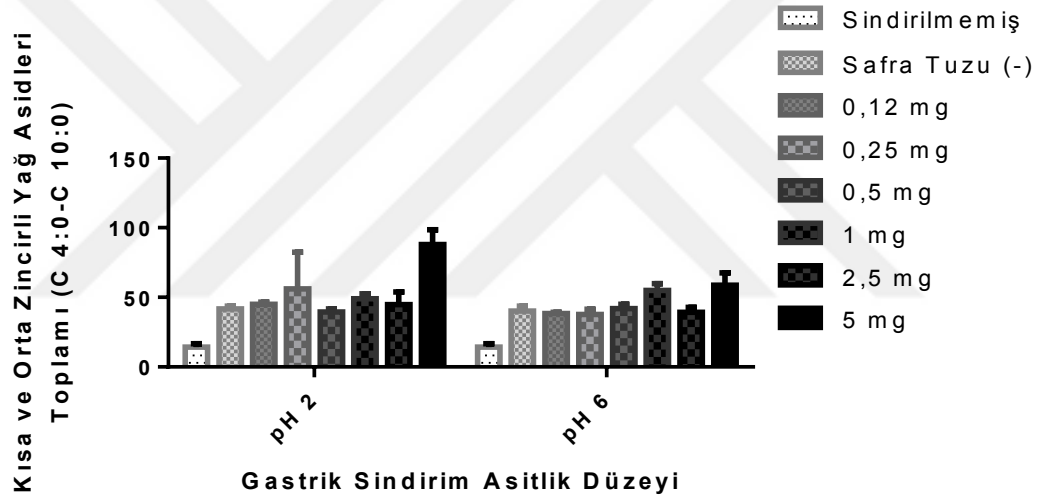
Şekil 3.12. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin toplam yağ asidi içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2'de sindirimi takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerin yağ asitlerinin toplamı, 5 mg safra tuzu ile yapılan sindirim analizinde, 0,12 mg ($p=0,000$), 1 mg ($p=0,002$), 2,5 mg ($p=0,000$), 0,5 mg ($p=0,002$) ve safra tuzu(-) ($p=0,000$) ile yapılan sindirim analizlerine kıyasla yüksek bulunmuştur. Safra tuzu miktarı 2,5 mg ile yapılan analizde yağ asitlerinin toplamı 0,12 mg ile yapılanla kıyasla artışı gözlemlenmiştir ($p=0,007$).

Gastrik pH 6'da sindirimi takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerin yağ asitlerinin toplamı, safra tuzu miktarı 2,5 mg kullanılan deneyde, 0,12 mg ($p=0,000$), 0,5 mg ($p=0,004$), 0,25 mg ($p=0,001$) safra tuzları ile yapılan ve safra tuzu(-) ($p=0,000$) analizlerine kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Safra tuzu miktarı 5 mg kullanılan sindirim analizinde, 0,12 mg, 1 mg, 2,5 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzları

ve safra tuzu(-) analizlere göre artışı gözlemlenmiştir (sırasıyla $p=0,006$, $p=0,002$, $p=0,031$, $p=0,005$, $p=0,002$, $p=0,009$).

Gastrik pH 2 sindirimini takiben açığa çıkan toplam yağ asit miktarı, gastrik pH 6'ya kıyasla daha fazla bulunmuştur ($p=0,000$). Gastrik pH 2'de sindirimi takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerin yağ asitlerinin toplamı, 5 mg safra tuzu ile yapılan sindirim analizinde, gastrik pH 6 sindirimini takiben 0,12 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2,5 mg safra tuzlarıyla ve safra tuzu(-) yapılarına kıyasla yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,010$, $p=0,006$, $p=0,001$, $p=0,030$, $p=0,014$).



Şekil 3.13. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin toplam kısa ve orta zincirli yağ asitleri içeriği sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir). Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

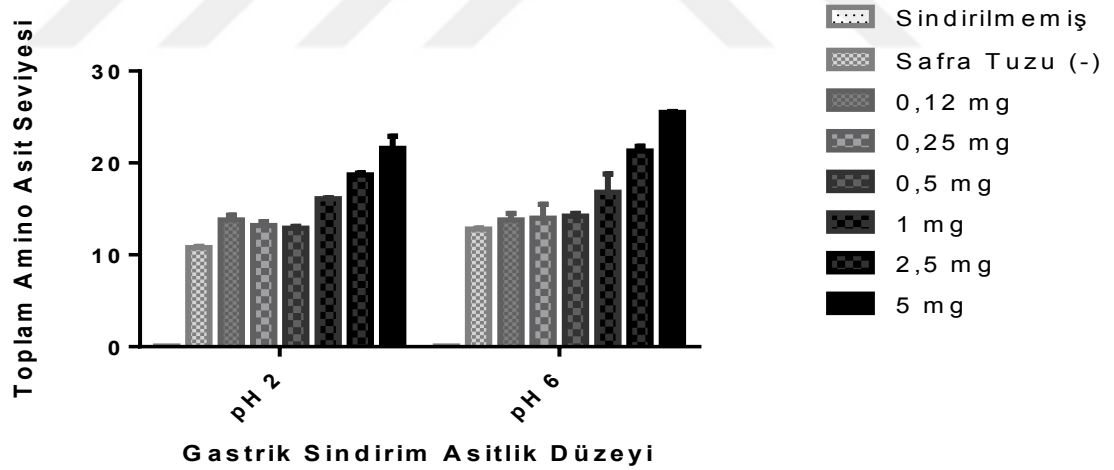
Gastrik pH 2'de sindirimi takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerin C4:0, C6:0, C8:0, C10:0 yağ asitleri toplamı 2,5 mg safra tuzu kullanılan sindirime kıyasla 5 mg safra tuzu kullanılanda yüksek bulunmuştur ($p=0,024$). Diğer safra tuzu dozları arasında anlamlı fark bulunmamaktadır.

Gastrik pH 6'da sindirimi takiben pankreatik sindirime uğrayan örneklerin C4:0, C6:0, C8:0, C10:0 yağ asitleri toplamı, 0,25 mg safra tuzu kullanılarak yapılan

sindirime kıyasla 1 mg safra tuzunda daha yüksek bulunmuştur ($p=0,046$). Safra tuzu miktarı 5 mg ile yapılanda ise diğer dozlardan yüksek olduğu gözlemlenmiştir, ancak anlamlı fark bulunmamaktadır.

Gastrik pH 2 sindirimini takiben açığa çıkan kısa ve orta zincirli yağ asit toplamı, gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirime kıyasla daha fazla bulunmuştur ($p=0,000$). Gastrik pH 2 sindirimini takiben 0,12 mg safra tuzuyla yapılan sindirim, gastrik pH 6'da aynı doz safra tuzuna kıyasla yüksek bulunmuştur ($p=0,037$). Diğer safra tuzları arasında anlamlı fark bulunmamaktadır.

3.2. Toplam Amino Asit Analiz Sonuçları



Şekil 3.14. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimini takiben farklı safra tuzu dozlarında pankreatik sindirime uğrayan örneklerin toplam amino asit sonuçlarının değerlendirilmesi (Her 1 mg süt örneği için safra tuzu miktarları belirtilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ ss olarak verilmiştir. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir).

Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirim sonucunda toplam amino asit seviyesi, safra tuzu miktarının 1 mg olduğu sindirimde, 0,5 mg safra tuzu ve safra tuzu(-) kıyasla daha yüksek bulunmuştur ($p=0,001$). Safra tuzu miktarı 2,5 mg ile yapılan analizlerde, 0,12 mg, 1 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzlarına ve safra

tuzu(-) kıyasla artışı gözlemlenmiştir (sırasıyla $p=0,005$, $p=0,003$, $p=0,000$, $p=0,001$, $p=0,000$). . Gastrik pH 2 sindirimini takiben 5 mg safra tuzu kullanılarak yapılan pankreatik sindirimde toplam amino asit seviyesi diğer dozlardan daha yüksek bulunmuştur. Safra tuzu miktarları 0,25 mg ($p=0,042$), 0,12 mg ($p=0,048$) kullanılan analizlere ve safra tuzu(-) sindirime ($p=0,048$) kıyasla, 5 mg safra tuzu kullanılan sindirimde toplam amino asit seviyesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer dozlar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.

Gastrik pH 6 sindirimi takiben yapılan pankreatik sindirim sonucu toplam amino asit seviyesi, safra tuzu miktarı 2,5 mg ile yapılan sindirimde, 0,12 mg ($p=0,001$), 0,5 mg ($p=0,000$) safra tuzları ile yapılanlara ve safra tuzu(-) ($p=0,001$) kıyasla yüksek bulunmuştur. Safra tuzu miktarı 5 mg ile yapılanda ise 0,12 mg, 2,5 mg, 0,5 mg safra tuzlarına ve safra tuzu(-) göre artışı bulunmuştur (sırasıyla $p=0,003$, $p=0,013$, $p=0,000$).

Gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde açığa çıkan toplam aminoasit seviyesi, gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirime kıyasla daha fazla bulunmuştur ($p=0,000$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben safra tuzu miktarı 2,5 mg ile yapılan pankreatik sindirim sonucu amino asit seviyesi toplamı, gastrik pH 2 sindirimi sonrası 0,12 mg, 1 mg, 2,5 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzlarına ve safra tuzu(-) kıyasla yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,000$, $p=0,013$, $p=0,043$, $p=0,000$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben safra tuzu miktarı 5 mg ile yapılan pankreatik sindirim sonucu amino asit seviyesi toplamı, gastrik pH 2 sindirimi sonrası 0,12 mg, 1 mg, 2,5 mg, 0,5 mg, 0,25 mg safra tuzları ve safra tuzu (-) sindirimlere kıyasla yüksek bulunmuştur ($p=0,000$). Gastrik pH 6 sindirimini takiben safra tuzu miktarı 5 mg ile yapılan pankreatik sindirim sonucu amino asit seviyesi toplamı, gastrik pH 2 sindirimi sonrası aynı dozda yapılan pankreatik sindirimden daha yüksek bulunmuştur ancak anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

4. TARTIŞMA

Araştırma sonucunda in vitro süt sindiriminde kullanılan safra tuzu dozuna ve gastrik asiditeye bağlı olarak açığa çıkan toplam aminoasit ve serbest yağ asitleri seviyelerinde farklılıklar gözlenmiştir. Sütte bulunan proteinlerin proteolizi sonrası açığa çıkan toplam amino asit seviyesi gastrik pH 6 sonrası yapılan pankreatik sindirimde daha yüksek bulunmuştur. Süt proteolizinin gastrik pH 6'da daha etkin olduğu düşünülebilir. Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde toplam yağ asidi seviyesi daha fazla gözlemlenmiştir. Gastrik pH düzeyine göre sindirilen yağ asidi türü değişiklik göstermiştir. Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde kısa ve orta zincirli zincirli yağ asitleri yüksek bulunmuşken, gastrik pH 6 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde uzun zincirli yağ asitleri yüksek saptanmıştır. Lipolitik etkinin gastrik pH 2 sindiriminde daha fazla olduğu söylenebilir. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimini takiben yapılan her bir mg örnek için 5 mg safra tuzu dozu kullanılan pankreatik sindirimlerde toplam amino asit, toplam yağ asidi ve serbest yağ asidi seviyeleri daha yüksek saptanmıştır.

Farklı bir çalışmada, pankreatik koşulların lipolize etkisi, 52 farklı gıdada safra tuzu konsantrasyonu 10 mM (pH 6), 1 mM (pH 6), 1 mM (pH 7) ve 10 mM (pH 7) seçilerek incelenmiştir. Çalışmada, gastrik sindirimi (pH 2, 37°C) takiben pankreatik sindirim gerçekleştirilip, serbest yağ asit seviyesine bakılmıştır. Seçilen gıdalarda, safra tuzu konsantrasyonu 10 mM (pH 7) ile yapılan intestinal sindirimde lipoliz etkisinin yaklaşık %90 kadar olduğu gözlemlenmiştir. Yanı sıra en az etki safra tuzu konsantrasyonu 1 mM (pH 6) gerçekleşmiştir (Calvo-Lerma ve ark., 2018). Bizim analiz sonuçlarımızda, toplam yağ asidi seviyesi, gastrik pH 2 ve pH 6 sindirim sonrası yapılan pankreatik sindirimde her 1 mg örnek için 5 mg safra tuzu kullanılan sindirimde daha yüksek çıkmıştır. Her iki analizde de safra tuzunun konsantrasyonunun artmasının yağ sindirimini de arttırdığı bulunmuştur. Bu sonuçlar literatürü desteklemektedir.

Diyet proteinlerinin safra asidine bağı proteolizi; fizyolojik konjuge safra asidi karışımı ve konjuge safra asidi/oleik asit/ monoolein karışım miseli kullanılan, başka bir çalışmada değerlendirilmiştir. İn vitro gastrik sindirimi (37°C, pH 2, 30 dakika) sonrası, pankreatik sindirimi pH 7.0'de gerçekleşen β -laktoglobülin sds poliakrilamid jel elektroforezi ile (SDS-PAGE) analizleri yapılmıştır. 10 mmol/L konjuge safra asidi kullanılarak gerçekleşen sindirimin β -laktoglobulin için daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, tripsinin ve kimotripsinin proteolitik etkisini, 0-14 mM safra tuzu konsantrasyonu arttırmıştır (Gass ve ark., 2007). Çalışmamızda, literatürde bulunan safra tuzunun yağ sindiriminde etkili olmasından farklı olarak protein sindiriminde de etkili olabileceği ilk kez ortaya konmuştur. Toplam amino asit seviyesi, gastrik pH 2.0 sonrası her bir örnek için 5 mg safra tuzu kullanılan sindirimde diğer dozlardan daha yüksek bulunmuştur. Gastrik pH 6 sonrası seviyesine bakıldığında ise 2,5 mg ve 5 mg safra tuzu ile yapılan sindirim analizlerinde daha yüksek bulunmuştur. Böylece, safra tuzunun konsantrasyonunun artmasıyla süt proteinlerinin sindiriminin iyileştiği gözlemlenmiştir.

İN vitro gastrik süt sindirimi pH 1.5'de 37°C, 3,2 mg/L pepsin ile bir saat gerçekleştirilen ve pankreatik sindirimi pH 7.0'de, 1,6 mg pankreatin, safra tuzu miktarı 5 mg/mL kullanılan başka bir çalışmada, serbest yağ asit profili incelenmiştir. Yapılan çalışmada, safra tuzu eklenmesiyle beraber lipolitik aktivitenin artmasıyla 18:1, 18:2, 18:3 yağ asitlerinin miktarlarında azalma gözlenmiştir (Tunick ve Van Hekken, 2017). İn vitro süt sindiriminin incelendiği başka bir çalışmada, süt örnekleri sırasıyla çiğ, tam yağlı, homojenize, pastörize, pastörize yarım yağlı, homojenize ve pastörize, sadece ultra yüksek ısı (UHT), UHT ve homojenize birlikte uygulanmış olarak seçilmiştir. Çalışmada, gastrik sindirim bir saat pH 1.5'de 37°C 'de 3,2 mg/L pepsin eklenerek gerçekleştirilmiştir. Pankreatik sindirim için pH 7.0'de pankreatik sıvının mL'si başına 5 mg safra ekstratı ve 1,6 mg pankreatin kullanılarak statik in vitro sindirim deneyi yapılmıştır. Farklı işlemler uygulanan sütlerin hepsinde sindirim süresince serbest yağ asidi seviyesi artmıştır. Yağ asit profili incelendiğinde, palmitik, stearik ve oleik yağ asitleri, miristik yağ asidine oranla daha hızlı sindirime uğradığı gözlemlenmiştir (Tunick ve ark., 2016).

Yukarıda bahsedilen in vitro süt sindiriminin incelendiği her iki çalışmada gastrik sindirim sadece pH 1.5’de değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak, gastrik sindirim pH 2.0 ve 6.0 olmak üzere farklı asitlik seviyelerinde incelenmiştir. Besinin mideye gelmesiyle, özellikle yaygın olarak kullanılan proton pompa inhibitörleri, antihistamin gibi ilaçların etkisiyle ve ülser, gastrit gibi hastalıklarda gastrik pH yükselmektedir. Bu nedenle, mide simüle edilen sindirim modellerinin farklı pH’larda tekrarlanması gerekmektedir. Ayrıca, yapılan in vitro sindirim modellerinde pankreatin içeriği verilmemiş ve IU cinsinden aktivitesi belirli değildir. Orta zincirli yağ asidi profili çalışmamızda, gastrik pH 6 sonrası stearik asit ve palmitik asit 5 mg safra tuzunda daha yüksek bulunmuşken, miristik asit için safra tuzları arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Gastrik pH 2 sindirimi takiben 18 karbonlu doymamış yağ asitleri 5 mg safra tuzu kullanılanda yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda, yağ asidi profiline bakıldığında gastrik asiditenin etkili olduğu saptanmıştır. Gastrik pH 2 sindiriminde, bütirik asit (C4:0), kaproik asit (C6:0), kaprilik asit (C8:0), kaprik asit (C10:0) yüksek bulunmuşken; miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), linoleik asit (C18:2) içeriğinin gastrik pH 6 sindirimini takibinde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Gastrik pH 2 sonrası kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin yüksek bulunması, uzun zincirli yağ asitlerinin gastrik pH 2 sonrası daha iyi sindirildiği şeklinde yorumlanabilir. Gastrik pH 2 ve pH 6 sindirimi sonrası oleik asit, linoleik asit 5 mg safra tuzu kullanılan sindirimde daha yüksek çıkmıştır. Yağ asit profiline bakıldığında safra tuzu miktarı her 1 mg süt örneği için en az 5 mg olması gerektiği düşünülebilir. İleride yapılacak çalışmalar için, sindirimin enterokinaz aktivitesi içeren enzimler ile modellenerek yapılması önerilebilir.

Yapılan başka bir çalışmada gastrik proteoliz sırasında süt yağ globül yapısı ve süt yağ globül membran proteinlerinin hidrolizi incelenmiştir. İn vitro gastrik süt sindirimi pH 1.6’da, 37°C, 2 saat olarak modellenmiş ve analizler SDS-PAGE ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçta, süt yağ globül membran proteinlerinden bütrofilin pepsine karşı ksantin oksidaz, periyodik asit schiff 6 (PAS 6) ve periyodik asit schiff 7 (PAS 7)’den daha dirençli olduğu gösterilmiştir. Ancak, gastrik sindirim sonunda tüm süt yağ globül membran proteinlerinin pepsin enzimi ile hidrolizi

gerçekleşmiştir (Ye ve ark.,2011). Ye ve ark, (2010) yaptığı başka bir çalışmada, çiğ sütte bulunan süt yağ globül membran ile rekombine edilmiş sütte bulunan yağ globül yapılarının in vitro pankreatik sindirim sırasında davranışlarını incelemiştir. İn vitro pankreatik sindirim pH 7.5-37°C gerçekleştirilmiş, pankreatik sindirim sıvısı ise safra tuzu(-) ve 5,0 mg/mL safra tuzu olarak hazırlanmıştır. Safra tuzu eklenmeden pankreatik lipaz ile yapılan sindirimde, serbest yağ asidi oluşumu çiğ sütte rekombine edilmiş süte göre daha yavaş oluşmuştur. Safra tuzu (5,0 mg/mL) varlığında ise pankreatik lipaz ile yapılan lipit sindirim oranı çiğ ve rekombine edilmiş sütte hem birbirlerine yakın hem de daha hızlı olduğu gözlemlenmiştir. Gallier ve ark., (2012) çalışmasında, çiğ sütün in vitro gastrik sindirimi pH 1.5-37°C 2 saat; pankreatik sindirim pH 7.5-37°C'de 2 saat, kullanılan safra tuzu 5 mg/mL olarak gerçekleştirilmiştir. Açığa çıkan serbest aminoasit analizi yapılmamıştır. Pankreatik sindirimde ise yağ globül üzerinde kalan proteinlerin tamamının sindirildiği gözlenmiştir. Süt yağ globül membran proteolizinin incelendiği çalışmalarda sindirim modelleri tek faz gastrik pH'da incelenmiştir. Bizim çalışmamızda, daha önce belirtildiği gibi in vitro sindirimde safra tuzunun konsantrasyonunun artmasıyla toplam amino asit seviyesi de artmıştır. Serbest yağ asitleri ve toplam amino asit seviyeleri safra tuzu miktarı her bir mg örnek için en az 5 mg olması gerektiği önerilmektedir. Safra tuzunun süt yağ globülüne etkisi sadece yapısında bulunan yağların yanı sıra proteinlere de olabileceği bu çalışmayla beraber açıklanmıştır.

İn vitro sindirim protokolü oluşturmak için yapılan INFOGEST çalışmasında statik in vitro sindirim oral, gastrik ve intestinal fazlarda gerçekleştirilmiştir. Oral faz sindirimi, simüle tükürük sıvısı içinde α -amilaz (75 U/mL), CaCl_2 (1,5 mM) eklenerek 2 dakika, 37°C'de, pH 7.0'de inkübe edilmesi; in vitro gastrik sindirim ,pH 3,0'de simüle gastrik sıvı içerisine CaCl_2 (0,15 mM), pepsin (2000 U/mL) ve gastrik lipaz (60 U/mL) ile beraber eklenerek 37°C'de 2 saat inkübasyonu; intestinal faz 2 saat, 37°C'de, pH 7.0'de gastrik sindirim sonrası safra tuzu (10 mM/L), CaCl_2 (0,6 mM), pankreatin (tripsin aktivite 100 U/mL) kimusa ilave edilerek inkübasyonu önerilmiştir (Brodkorb,2019). Egger ve ark. (2017b), yaptığı çalışmada protein hidrolizi, INFOGEST yöntemi kullanılarak yapılan in vitro yağsız süt tozu sindirimi

ve domuz GIS karşılaştırılmıştır. Hayvanlara süt tozu tükettirilmiş, sonrasında ötenazi uygulanarak GIS organlarından örnekler toplanmıştır. İn vitro süt tozu sindirimi ile karşılaştırıldığında açığa çıkan serbest yağ asit miktarı her iki analiz sonucunda benzer bulunmuştur. INFOGEST yönteminin kullanıldığı başka bir çalışmada, süt tozu sindirimi in vitro statik ve dinamik olarak gözlenmiştir. Protein hidrolizinin dinamik model kullanılarak yapılan sindirimde daha fazla olduğu bulunmuş ve dinamik model önerilmiştir (Egger ve ark., 2017a). Yapılan bu çalışmalarda, mide pH'sı tek fazda incelenmiştir. İn vitro sindirim, in vivo modellerle yapılan protein hidroliz sonuçlarına yakın bulunmuştur. Ancak, intestinal sindirimde kullanılan safra tuzu miktarı yaklaşık 4 mg olarak kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda, in vitro süt sindiriminde toplam amino asit ve serbest yağ asidi seviyeleri analizlerine göre safra tuzu miktarının en az 5 mg olması gerektiği ortaya konmuştur. INFOGEST yönteminde kullanılan gastrik lipaz, özellikle süt yağ globül yapılarının lipolizinde ve pankreatik lipazın uyarılmasında önemlidir. İnsan gastrik lipazı (HGL) özellikle sütte bulunan kısa ve orta zincirli yağ asitlerine etki ederek açığa çıkmasını sağlamaktadır. Çocukluk döneminde gastrik lipaz aktivitesi daha yüksektir. Bu nedenle, özellikle in vitro süt sindiriminin incelendiği bebeklik, çocukluk dönemlerinde modellendiğinde gastrik lipaz aktivitesi göz önünde bulundurulmalıdır (Sams ve ark., 2016).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada in vitro süt sindiriminde safra tuzu dozu optimizasyonu, serbest yağ asitleri ve toplam aminoasit analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Gastrik asiditenin, in vitro süt sindiriminde etkili olabileceği ortaya konmuştur. Uzun zincirli doymuş yağ asitleri (C 14:0, C 16:0, C 18:0) ve linoleik asit (C 18:2) içeriği gastrik pH 6 sindiriminde daha yüksek bulunmuştur. Gastrik pH 2 sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde kısa zincirli yağ asitleri (C 4:0, C 6:0) ve orta zincirli yağ asitleri (C 8:0, C 10:0, C 12:0) seviyesi daha fazla saptanmıştır. İn vitro süt sindirimini takiben yapılan pankreatik sindirimde toplam amino asit seviyesi gastrik pH 6'da daha fazla görülmüştür. Pankreatik sindirim için safra tuzu dozunun serbest yağ asitleri ve toplam amino asit seviyesi için her 1 mg örnek için en az 5 mg olması gerektiği saptanmıştır. Bulgular ışığında, in vitro süt sindirim modelleri için gastrik asidite ve safra tuzu miktarı belirlenmiştir. İn vitro intestinal sindirimin de modellenmesi daha ileri çalışmalar için aydınlatıcı olacaktır.

ÖZET

İn Vitro Süt Protein Sindiriminde Safra Tuzu Konsantrasyonunun Optimizasyonu

Besinlerin ağızdan vücuda girmesiyle beraber anüse kadar ilerlemesini ve vücutta kullanılabilir hale gelmesi için gerekli enzim ve hormonların sentezi gastrointestinal sistemde (GIS) meydana gelmektedir. GIS, besinlerin sindirimini, emilimini ve atılımını sağlamaktadır. İn vitro sindirim modelleri ile insan GIS fizyolojisi modellenmiştir. İn vitro sindirim yönteminin etik kısıtlamaları olmaması, hızlı ve ucuz olmasından dolayı birden fazla örneğin analizi yapılabilmektedir. Böylelikle, hem gıda- sağlık ilişkisinin hem de sindirim sırasında besinin yapısında meydana gelen değişimlerin kolaylıkla açıklanabilmesi için in vitro sindirim modellerine eğilim giderek artmıştır. Son yirmi yılda in vitro sindirim yöntemi kullanılarak yapılan çalışma sayısı giderek artmıştır. İn vitro sindirim farklı modeller ve protokollerle uygulanmakla beraber özellikle yağ sindiriminde rol alan safra tuzlarının proteinlerle kompleks matriksler içeren gıda yapılarındaki proteinlerin sindirime etkileri ve etkin dozları henüz bilinmemektedir. Bu doğrultuda in vitro süt sindirimi, 0,12 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2,5 mg, 5 mg safra tuzları kullanılarak ve safra tuzsuz olarak gerçekleştirilmiştir. Serbest yağ asit analizi GC ile toplam aminoasit tayini TNBS yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuçta, serbest yağ asitlerinin her biri için dozlar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Toplam amino asit seviyesi 5 mg safra tuzu ile yapılan sindirimde yüksek bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: İn vitro sindirim, Protein sindirimi, Safra tuzu, Süt, Yağ sindirimi

SUMMARY

Optimization of Bile Salt Concentration in In Vitro Milk Protein Digestion

The synthesis of enzymes and hormones necessary for nutrients to enter the body and move to the anus and make them available in the body occurs in the gastrointestinal tract (GIS). GIS provides digestion, absorption and excretion of nutrients. Human GIS physiology was modeled by in vitro digestion models. Since the in vitro digestion method does not have ethical limitations, it is fast and inexpensive to analyze multiple samples. Thus, the tendency to in vitro digestion models has increased gradually, in order to easily explain both the food-health relationship and the changes in the structure of food during digestion. The number of studies using in vitro digestion method has increased gradually in the last two decades. Although in vitro digestion is carried out with different models and protocols, the effects and effective doses of bile salts involved in fat digestion on the digestion of proteins in food structures containing complex matrix and proteins are not yet known. Accordingly, in vitro milk digestion was performed using 0.12 mg, 0.25 mg, 0.5 mg, 1 mg, 2.5 mg, 5 mg bile salts and without bile salt. Total amino acid determination by free fatty acid analysis GC was determined by TNBS method. As a result, a significant difference was found between the doses for each of the free fatty acids. Total amino acid level was found high in digestion with 5 mg bile salt.

Keywords: Bile salt, Fat digestion, In vitro digestion, Milk, Protein digestion

KAYNAKLAR

- ALMINGER M, AURA AM, BOHN T, DUFOUR C, EL SN, GOMES A, KARAKAYA S, MARTÍNEZ-CUESTA MC, MCDUGALL GJ, REQUENA T ve SANTOS CN (2014). In Vitro Models for Studying Secondary Plant Metabolite Digestion and Bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **13**(4): 413-436
- ARDÖ Y ve POLYCHRONIADOU A (1999). Laboratory manual for chemical analysis of cheese: improvement of the quality of the production of raw milk cheeses, Publications Office.
- AUGUSTIN MA, SANGUANSRI L, RUSLI JK, SHEN Z, CHENG LJ, KEOGH J ve CLIFTON P (2014). Digestion of microencapsulated oil powders: in vitro lipolysis and in vivo absorption from a food matrix. *Food & function*, **5**(11): 2905-2912.
- BARRETT KE, BARMAN SM, BOITANO S ve BROOKS HJNM-HM (2009). Ganong's Review of Medical Physiology, 23rd Ed., Chapter 27.
- BHUTIA YD ve GANAPATHY V (2018). Protein Digestion and Absorption. Physiology of the Gastrointestinal Tract, Elsevier: p:1063-1086.
- BORNHORST GM, GOUSETI O, WICKHAM MS ve BAKALIS S (2016). Engineering Digestion: Multiscale Processes of Food Digestion. *Journal of Food Science*, **81**(3): 534-543.
- BRODKORB A, EGGER L, ALMINGER M, ALVITO P, ASSUNÇÃO R, BALLANCE S, BOHN T, BOURLIEU-LACANAL C, BOUTROU R ve CARRIÈRE F (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, **14**(4): 991.
- CABRAL D ve SMALL D (1989). Physical chemistry of bile: Handbook of Physiology. *American Physiology Society, Bethesda, USA*, Chapter 6.
- CALVO-LERMA J, FORNES-FERRER V, HEREDIA A ve ANDRES A (2018). In Vitro Digestion of Lipids in Real Foods: Influence of Lipid Organization Within the Food Matrix and Interactions with Nonlipid Components. *Journal of Food Science*, **83**(10): 2629-2637.
- CHADEGANI AA, SALEHI H, YUNUS MM, FARHADI H, FOOLADI M, FARHADI M ve EBRAHIM NA (2013). A Comparison between Two Main Academic Literature Collections: Web of Science and Scopus Databases. *Asian Social Science*, **9**(5).
- COLES L, MOUGHAN P ve DARRAGH A (2005). In vitro digestion and fermentation methods, including gas production techniques, as applied to nutritive evaluation of foods in the hindgut of humans and other simple-stomached animals. *Animal Feed Science and Technology*, **123**: 421-444.

- DE JONG C VE BADINGS HT (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.
- DE KRUIF CG, HUPPERTZ T, URBAN VS VE PETUKHOV AV (2012). Casein micelles and their internal structure. *Advances in Colloid and Interface Science*, **171**: 36-52.
- DEAN JR VE MA R (2007). Approaches to assess the oral bioaccessibility of persistent organic pollutants: a critical review. *Chemosphere*, **68**(8): 1399-1407.
- DRESSMAN JB (1986). Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. *Pharmaceutical Research* **3**(3): 123-131.
- DUPONT D, BORDONI A, BRODKORB A, CAPOZZI F, VELICKOVIC TC, CORREDIG M, COTTER PD, DE NONI I, GAUDICHON C VE GOLDING M (2011). An international network for improving health properties of food by sharing our knowledge on the digestive process. *Food Digestion*, **2**(1-3): 23-25.
- EGGER L, MÉNARD O, BAUMANN C, DUERR D, SCHLEGEL P, STOLL P, VERGÈRES G, DUPONT D VE PORTMANN R (2017a). Digestion of milk proteins: Comparing static and dynamic in vitro digestion systems with in vivo data. *Food Research International*, **118**: 32-39.
- EGGER L, SCHLEGEL P, BAUMANN C, STOFFERS H, GUGGISBERG D, BRÜGGER C, DÜRR D, STOLL P, VERGÈRES G VE PORTMANN R (2017b). Physiological comparability of the harmonized INFOGEST in vitro digestion method to in vivo pig digestion. *Food Research International* **102**: 567-574.
- FERNÁNDEZ-GARCÍA E, CARVAJAL-LÉRIDA I, JARÉN-GALÁN M, GARRIDO-FERNÁNDEZ J, PÉREZ-GÁLVEZ A VE HORNERO-MÉNDEZ D (2012). Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*, **46**(2): 438-450.
- FOX P (2003). Milk proteins: General and Historical Aspects. *Advanced Dairy Chemistry 1 Proteins*, Springer, p:1-48.
- GALLIER S, YE A VE SINGH H (2012). Structural changes of bovine milk fat globules during in vitro digestion. *Journal Dairy Science*, **95**(7): 3579-3592.
- GANTNER V, MIJIĆ P, BABAN M, ŠKRTIĆ Z VE TURALIJA A (2015). The overall and fat composition of milk of various species. *Mljekarstvo/Dairy*, **65**(4).
- GASS J, VORA H, HOFMANN AF, GRAY GM VE KHOSLA C (2007). Enhancement of dietary protein digestion by conjugated bile acids. *Gastroenterology*, **133**(1): 16-23.

- GUERRA A, ETIENNE-MESMIN L, LIVRELLI V, DENIS S, BLANQUET-DIOT S ve ALRIC M (2012). Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. *Trends Biotechnol*, **30**(11): 591-600.
- HALL J (2010). Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology: Enhanced E-book: Elsevier Health Sciences, 12th Ed., p :753-797
- HEDREN E, DIAZ V ve SVANBERG U (2002). Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. *European Journal of Clinical Nutrition*, **56**(5): 425.
- HENDRY C, FARLEY A, MCLAFFERTY E ve JOHNSTONE CJNS (2014). The digestive system: part 2. *Nursing Standard*, **28**(25).
- HUR SJ, LIM BO, DECKER EA ve MCCLEMENTS DJ (2011). In vitro human digestion models for food applications. *Food Chemistry*, **125**(1): 1-12.
- JENSEN RG (2002). The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, **85**(2): 295-350.
- JOHNSTONE C, HENDRY C, FARLEY A ve MCLAFFERTY EJNS (2014). The digestive system: part 1. *Nursing Standard*, **28**(24):37
- KALANTZI L, GOUMAS K, KALIORAS V, ABRAHAMSSON B, DRESSMAN JB ve REPPAS C (2006). Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies. *Pharmaceutical Research*, **23**(1): 165-176.
- KONG F ve SINGH RP (2010). A human gastric simulator (HGS) to study food digestion in human stomach. *Journal of Food Science*, **75**(9): E627-E635.
- KULKARNI BV ve MATTES RD (2014). Lingual lipase activity in the orosensory detection of fat by humans. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **306**(12): R879-R885.
- LAI WYW, CHUA JWM, GILL S ve BROWNLEE IA (2019). Analysis of the Lipolytic Activity of Whole-Saliva and Site-Specific Secretions from the Oral Cavity of Healthy Adults. *Nutrients*, **11**(1): 191.
- LUCAS-GONZALEZ R, VIUDA-MARTOS M, PÉREZ-ALVAREZ JA ve FERNANDEZ-LOPEZ J (2018). In vitro digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. *Food Research International*, **107**: 423-436.
- MALAGELADA J-R, LONGSTRETH G, SUMMERSKILL W ve GO V (1976). Measurement of gastric functions during digestion of ordinary solid meals in man. *Gastroenterology*, **70**(2): 203-210.

- MALDONADO-VALDERRAMA J, WILDE P, MACIERZANKA A ve MACKIE A (2011). The role of bile salts in digestion. *Advances in Colloid and Interface Science*, **165**(1): 36-46.
- MARCIANI L, GOWLAND PA, FILLERY-TRAVIS A, MANOJ P, WRIGHT J, SMITH A, YOUNG P, MOORE R ve SPILLER RC (2001). Assessment of antral grinding of a model solid meal with echo-planar imaging. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **280**(5): 844-849.
- MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, BALLANCE S, BOHN T, BOURLIEU C, CARRIERE F, BOUTROU R, CORREDIG M, DUPONT D, DUFOUR C, EGGER L, GOLDING M, KARAKAYA S, KIRKHUS B, LE FEUNTEUN S, LESMES U, MACIERZANKA A, MACKIE A, MARZE S, MCCLEMENTS DJ, MENARD O, RECIO I, SANTOS CN, SINGH RP, VEGARUD GE, WICKHAM MS, WEITSCHIES W ve BRODKORB A (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus. *Food Function*, **5**(6): 1113-1124.
- MUKHOPADHYAY S ve MAITRA U (2004). Chemistry and biology of bile acids. *Current Science*, **87**(12): 1666-1683.
- O'CONNOR CJ, CH'NG BT ve WALLACE RG (1983). Studies in bile salt solutions: 1. Surface tension evidence for a stepwise aggregation model. *Journal of Colloid and Interface Science*, **95**(2): 410-419.
- PARADA J ve AGUILERA J (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*, **72**(2): 21-32.
- SAMS L, PAUME J, GIALLO J ve CARRIÈRE F (2016). Relevant pH and lipase for in vitro models of gastric digestion. *Food & function* **7**(1): 30-45.
- TUNICK MH ve VAN HEKKEN DL (2017). Fatty Acid Profiles of In Vitro Digested Processed Milk. *Foods*, **6**(11).
- TUNICK MH, REN DX, VAN HEKKEN DL, BONNAILLIE L, PAUL M, KWOCZAK R ve TOMASULA PM (2016). Effect of heat and homogenization on in vitro digestion of milk. *J Dairy Science*, **99**(6): 4124-4139.
- VERTZONI M, DRESSMAN J, BUTLER J, HEMPENSTALL J ve REPPAS C (2005). Simulation of fasting gastric conditions and its importance for the in vivo dissolution of lipophilic compounds. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **60**(3): 413-417.
- WEN AC ve CAMPBELL C (1977). Bile Salt Metabolism: I. The Physiology of Bile Salts. *Australian and New Zealand Journal of Medicine*, **7**(6): 579-586.
- YAZIHAN N (2017). İnsan sindirim sistemi ve gıda uygulamalarında kullanılan modeller. Erişim Adresi: [https://www.researchgate.net/publication/313161119_INSAN_SINDIRIM_SISTEM_I_VE_GIDA_UYGULAMALARINDA_KULLANILAN_MODELLER]. Erişim Tarihi: 24/04/2019

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 Dairy Science*, **94**(6): 2762-2770



ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Ad: Hatice

Soyad: KANIBİR

Doğum yeri ve tarihi: Ankara / 16.07.1992

Uyruğu: T.C

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: Sancaktepe Mah. 1596.sok. Manzara Evleri Sitesi
No:10/17 Etlik/ANKARA /05387984137

II- Eğitimi

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Disiplinlerarası Gıda, Metabolizma ve Klinik Beslenme Anabilim Dalı
(09/2017-2019)

Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi
Beslenme ve Diyetetik Bölümü (09/2013-06/2016)

Yabancı dili :İngilizce /

Puan: 80

III- Ünvanı :Diyetisyen

IV- Mesleki Deneyimi

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları:

- Kanibir H., Gezer I. S., Akdas S., Isin S., Alemdar M., Bakirarar B. ,
Ayrar P. A., Yazihan N., Low Magnesium Status Could be One of the
Risk Factors for Gestational Diabetes: A Systematic Review, 1st
International Food and Medicine Congress, Ankara, 2018

VII- Bilimsel Etkinlikleri

VIII- Diğer Bilgiler

Sertifika Programları

- Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (4-13.12.2017)

Katıldığı Seminer Ve Eğitim Programları

- III. Lipit Araştırmaları alıştayı ‘Hastalıkta ve Sağlıkta Lipitler’ (17.05.2019)
- MEDCON’19 (20-21.04.19)
- Ankara Üniversitesi, İç Hastalıkları Güncellemesi (21-23.03.2019)
- 1.st International Food and Medicine Congress (24-27.05.2018)
- Hastalıklarda Güncel Nütrisyon Yaklaşımları Sempozyumu-I (13-14.10.2017)
- Sağlık Bilimleri Üniversitesi – Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1. Gülhane Mikrobiyotave Fekal Transplantasyon Sempozyumu, 2018
- Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2. Metabolik Hastalıklar Sempozyumu, 2017
- Hacettepe Sağlık Zirvesi Nisan 2016 KEPAN,
- Klinik Nutrisyon ėrenci Kongresi – Mart 2016
- Hacettepe Sağlık Zirvesi Nisan 2015

Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar

1.st International Food and Medicine Congress, 24-27 Mayıs 2017, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kongre Sekreterliėi