

## KEFİRİN LİPİD PEROKSİDASYONUNA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI\*

Aysel GÜVEN\*\*

Abamüslüm GÜVEN\*\*\*

Nadide Nabil KAMILOĞLU\*\*\*\*

Yayın Kodu: 2004/10-A

**Özet:** Bu çalışmada, CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> + vitamin E ve CCl<sub>4</sub> + kefir verilen farelerin eritrosit paketi ve kan plazmasında lipid peroksidasyon düzeyi redükte glutatyon (GSH) miktarı, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerinin belirlenmesi amaçlandı. Çalışmada 40 adet Swiss albino erkek fare kullanıldı. Fareler deneme öncesi bir hafta adaptasyon sağlamak amacıyla standart fare yemi ve su ile *ad libitum* beslendi. Sonra tesadüfi olarak 4 eşit gruba ayrılan hayvanlara oral yolla 7 hafta boyunca günlük olarak her gün saat 9<sup>00</sup> da I. Gruba (kontrol n:10) standart fare yemi + su, II. Gruba (n:10) 1.5 ml/kg CCl<sub>4</sub>, III. Gruba (n:10) 1.5 ml/kg CCl<sub>4</sub> + 30 ml/kg kefir, IV. Gruba (n:10) ise 1.5 ml/kg CCl<sub>4</sub> + vitamin E 250 mg/kg (DL  $\alpha$ -tocopherol asetat) verildi. Kefir örneklerinde genel aerop mezofilik canlı, laktik asit bakterileri, laktik streptokok, enterokok, total koliform ve maya sayıları sırasıyla 1.04x10<sup>9</sup> kob/ml, 9.87x10<sup>8</sup> kob/ml, 4.38x10<sup>8</sup> kob/ml, 7.80x10<sup>4</sup> kob/ml, 0 kob/ml ve 1.26 x10<sup>5</sup> kob/ml olarak bulundu. Kefir ve vitamin E uygulanan gruplarda plazma MDA düzeyleri anlamlı derecede düşük (p<0.01), GSH düzeyi, GSH-Px ve CAT aktiviteleri ise yüksek bulundu. Kontrol ve II. Grup arasındaki lipid peroksidasyonu farkı istatistikî açıdan anlamlı (p<0.01) bulundu. Sonuç olarak, kefirin GSH, GSH-Px ve CAT üzerine indükleyici rol oynadığı ve lipid peroksidasyonunu azaltma yönünde vitamin E den daha etkili olduğu görüldü.

**Anahtar sözcükler:** Kefir, antioksidan enzimler, vitamin E, lipid peroksidasyonu.

### The Investigation of Kefir Effect on Lipid Peroxidation

**Summary:** The aim of work was to determine the levels of lipid peroxidation in erythrocyte pack and blood plasma by measuring the activity of glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT) and to establish the levels of reduced glutathione (GSH) in the red blood cells (RBC) of Swiss Albino mice treated with various levels CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> + vitamin E and kefir. Total of 40 Swiss albino mice were used in the study. During a week of adaptation 2 period, mice were fed *ad libitum* with Standard mouse feed and tap water. Randomly assorted into following groups: Group I (n: 10): Animals were put on a normal diet and sham-treated with 1.5 ml/kg distilled water through oral gavage, daily for 7 weeks; this group of animals served as control. Group II (n:10): Animals were put on a normal diet and treated with 1.5 ml/kg b.w CCl<sub>4</sub> dissolved in 1.5 ml distilled water through oral gavage, daily for 7 weeks. Group III (n:10): Animals were put on a normal diet and treated with 1.5 ml/kg b.w CCl<sub>4</sub> + 30 ml/kg b.w kefir through oral gavage, daily for 7 weeks. Group IV. Group (n: 10): Animals were put on a normal diet and treated with 1.5 ml/kg BW CCl<sub>4</sub> + 250 mg/kg BW vitamin E (DL  $\alpha$ -tocopherol asetat) oral gavage, daily for 7 weeks. At the end of microbiological analysis of kefir, the average total mesophilic aerobic colony counts, lactic acid bacteria, lactic streptococcus, enterococcus, total coliforms and mould counts were found to be 1.04x10<sup>9</sup> cfu/ml, 9.87x10<sup>8</sup> cfu/ml, 4.38x10<sup>8</sup> cfu/ml, 7.80x10<sup>4</sup> cfu/ml, 0 cfu/ml and 1.26 x10<sup>5</sup> cfu/ml respectively. The plasma MDA levels of CCl<sub>4</sub> treated groups were markedly low while GSH levels with GSH-Px and CAT activities were significantly high than that of controls. Difference between control Group and Group II was statistically important. As a result, kefir has played a inducible role on the GSH, GSH-Px and CAT, and was more effective than that of vitamin E on the lowering the lipid peroxidation. Separately used of the vitamin E and kefir indicated that kefir is more efficacy than vitamin E in the prevention of the hazardous effects.

**Keywords:** Kefir, antioxidant enzymes, vitamin E.

### GİRİŞ

Aerobik organizmalarda, moleküler oksijenin varlığı ve bunların elektron alma eğiliminden dolayı, hücrelerde sürekli reaktif oksijen türleri ve bunun sonucu olarak da lipid peroksidasyon ürünleri oluşur<sup>1</sup>. Bu nedenle eritrositler sürekli olarak hücre içi ve hücre dışı serbest radikallere maruz kalırlar. Çünkü poliansatüre yağ asitlerince zengin olan eritrosit zarları birden çok mekanizma ile sürekli olarak süper oksit anyonlarının oluşmasına neden olurken<sup>2</sup> aynı zamanda granülositler,

makrofajlar ve metabolik aktif hücreler de süper oksit anyonu üretilir<sup>3</sup>. Eritrositlerde lipid peroksidasyonunun artmasının bir diğer nedeni de serbest radikaller artarken antioksidanlarda görülen azalmadır. Normal eritrosit, oksidatif hasara karşı oldukça dirençlidir. Çünkü etkin bir korunma mekanizması oluşturan CAT, SOD, GSH-Px gibi antioksidan enzim sistemine sahiptir. Ancak alınan toksik madde oranı enzim kapasitesini aşarsa serbest radikaller, zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşan lipid hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşenlere dö-

\* Bu çalışma 17. Ulusal Biyokimya Kongresinde poster bildiri olarak sunulmuştur. ODTÜ Kültür ve Kongre Merkezi, 24-27 Haziran, Ankara

\*\* Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyokimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

\*\*\* Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

\*\*\*\*Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE



nüşmesiyle sonuçlanır. Böylece membran yapısı bozulur ve fonksiyonu etkilenir<sup>3</sup>. Karbon tetraklorür hücrede böyle bir toksik etki gösteren kimyasal bir maddedir. Son yıllarda bu ürünlerin olumsuz etkilerinin azaltılması veya ortadan kaldırılması yönünde çeşitli nonenzimatik antioksidan besinlerin tespiti çalışmaları yoğunluk kazanmıştır. Bu besin maddelerinden birini de kefir oluşturmaktadır.

Kefir, asit ve alkol fermentasyonunun birlikte gelişimi ile oluşan fermente bir süt ürünüdür<sup>4</sup>. Sütteki tüm besin öğelerini içerdiği için beslenme değeri oldukça yüksektir. Süte göre vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> ve folik asit yönünden zengindir. Alkol ve karbondioksit içermesi kefirin en önemli iki özelliğidir<sup>5</sup>. Kefir, kefir granülü, taze kefir veya kefir starteri ile hazırlanmaktadır. Mikroorganizma kompozisyonu granüller arasında farklıklar gösterebilmektedir<sup>6-9</sup>. Genel olarak laktokoklar, homofermentatif ve heterofermentatif laktobasiller, mayalar ile asetik asit bakterileri bulunur<sup>9,10</sup>. Granüllerden *Candida kefir*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Sac. delbrueckii*, *Cand. holmii*, *Sac. unisporus* ve *Sac. byopoliticus*<sup>11,12</sup> gibi mayalar ve ayrıca *Lactobacillus brevis*, *Lb. viridescens*, *Lb. casei*, *Lb. kefir*, *Lb. kefiranofaciens*, *Lb. kefiranum*, *Lb. parakefir*, *Leuconostok türleri* ve *Lactococcus lactis* identifiye edilmiştir<sup>7,8,13,14</sup>.

Kefirin insan sağlığı üzerine birçok faydasının olduğu, bazı hastalıklardan korunmada ve tedavisinde rol oynadığı bilinmektedir<sup>15,16</sup>. İn vivo ve invitro olarak yapılan çeşitli çalışmalarda, kefir ve kefir granüllerinin antibakteriel antifungal<sup>15-18</sup>, antitumoral<sup>15,16,19,20</sup> hipokolesterolemik<sup>21,22</sup> ve immunomodülatör<sup>16,23,24</sup> etkisinin bulunduğu belirtilmiştir. James ve ark.<sup>22</sup>, kefir sütü ve granüllerinde de bulunan bir bakteri olan *L. acidophilus* içeren 200 ml fermente sütü günlük olarak tüketen hiperkolesterolemik bireylerde % 2.4-3.2 oranında kolesterol düzeyinde azalma meydana geldiğini, her %1'lik kolesterol azalmasının kalp hastalıkları riskini %3 oranında azalttığı bildirilmektedirler.

Ayrıca Kafkaslarda insanların uzun yaşamasında fazla tüketilen kefirin etkisinin olduğu belirtilmiştir<sup>25-27</sup>. Belirtilen olumlu etkilerine karşılık olarak kefirin ispat edilmiş negatif bir etkisi bilinmemektedir.

Bu çalışmanın amacı, kimyasal ve mikrobiyolojik yükü belirlenen kefirin nonenzimatik bir antioksidan olan vitamin E ile karşılaştırmak suretiyle lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim sistemi üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

## MATERYAL ve METOT

### Hayvan gruplarının oluşturulması

Çalışmada 40 adet Swiss albino erkek fare deneme öncesi bir hafta boyunca adaptasyon sağlamak amacıyla standart fare yemi ve su ile ad libitum beslendi (Tablo 1). Daha sonra tesadüfi olarak 4 eşit gruba ayrılan hayvanlara 12 saat ışık ve 12 saat karanlık, yaklaşık 22±2°C ısı ve nem oranı ortalama % 50±5 olan özel bir ortam sağlandı. Her gün saat 09<sup>00</sup> da I. Gruba (kontrol grubu) standart fare yemi + su; II. Gruba 1.5 ml/kg CCl<sub>4</sub> + standart yem; III. Gruba ise aynı zaman aralığında 1.5 ml/kg CCl<sub>4</sub> +30 ml/kg kefir + standart yem ve IV. Gruba da 1.5 ml/kg CCl<sub>4</sub>+250 mg/kg vitamin E (DL α-tokoferol asetat) + standart yem verildi. Uygulamaya 7 hafta devam edildi.

Tablo 1. Standart fare yeminin içeriği.

Table 1. The components of standard mice fed.

Karışım	%
Buğday	10
Mısır	23
Arpa	15
Kepek	8
Soya	26
Balık unu	8
Et-kemik unu	4
Melas	5
Tuz	0.8
Vitamin + mineral*	0.2

\*Vitamin A,D3, E, K3, B1 ve B12, nikotinamid, folik asit, biotin, Mn, Fe, Cu, I, Co, Se, antioksidan (butilhidroksitoluen) ve Ca.

**Kefir yapımı:** Kefir yapımında kullanılan süt, 90°C de 10 dakika ısıtıldıktan sonra bir kaba konuldu ve 25°C'ye kadar soğutuldu, 1/2 litreye 20 gram kefir granülü katıldı ve iyice karıştırıldı. Kabın kapağı kapatılıp 22 °C'de 20 saat fermentasyona bırakıldı. Fermentasyon sonunda granüller süzgeçten geçirilmek suretiyle ayrıldı. Süzgeçte kalan granüller yeni bir kefir yapımı için kullanıldı<sup>4,26</sup>. Elde edilen kefir 4°C de 24 saat tutulduktan sonra bu ısıda bekletilerek belirtilen oranlarda farelere günlük olarak verildi ve aynı zamanda kimyasal ve mikrobiyolojik analizlerde kullanıldı. Her üç günde bir yeni kefir yapıldı ve bunlar da analiz edildi.

**Kefirin kimyasal analizleri:** Numunelerin kuru madde, yağ ve kül miktarları ile asidite değerleri ve laktoz miktarı standart metotlar kullanılarak belirlendi<sup>28,29</sup>.



**Kefir mikroflorası:** 25 ml kefir 225 ml % 0.1'lik steril peptonlu su solüsyonu üzerine ilave edilerek blenderde (Waring, 32BL80, New Hartford, Conn. USA) düşük devirde homojenize edildi ve bu şekilde elde edilen homojenizatın yine aynı solüsyon ile  $10^8$ 'e kadar desimal seyreltileri hazırlandı. Daha sonra her bir bakteri grubu için uygun seyreltilerden seçilen besiyerlerine ekimler yapıldı.

Genel aerop mezofilik mikroorganizmaların belirlenmesinde plate count agar (Oxoid, CM 463) kullanıldı ve petri 35°C'de 48 inkübe edildikten sonra üreyen tüm koloniler sayıldı<sup>30</sup>. Laktik asit bakterilerini saymak amacıyla MRS agar (MRS-Oxoid), kullanıldı ve petri plakları 30°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra plaklar değerlendirildi<sup>431,32</sup>. Laktik streptokokların belirlenmesi için kullanılan M17 agar (Oxoid-CM), 30°C'de 48 saat inkübe edildi<sup>31,33</sup>. Enterokokların belirlenmesinde Slanetz ve Bartley agar (SBA-Oxoid, CM 377), kullanıldı ve plaklar 35°C'de 48 saat inkübe edildi<sup>31</sup>. Total koliform grubu bakteri sayılarının belirlenmesinde violet red bile agar (Oxoid, CM 107), kullanıldı. 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra plaklardaki kırmızı koloniler değerlendirmeye alındı<sup>31</sup>. Maya sayısının belirlenmesinde ise %10'luk tartarik asit kullanarak pH'sı 3.5'e ayarlanmış olan potato dekstroz agar (Oxoid, CM) kullanıldı. Petri ler 22°C'de 5 gün inkübe edildikten sonra değerlendirildi<sup>30,32,34</sup>.

### Kan örneklerinin alınması

Uygulamanın 49. gününde eter anestezisi altında heparinli enjektörler ile kanlar alındı ve 15 dakika 2500 g de +4°C de santrifüjasyonla plazmaları çıkarıldı. Plazmalar analiz gününe kadar -20°C de derin dondurucuda saklandı. Eritrosit paketi için hemolizat 3 kez % 0.9'luk sodyum klorid ile yıkandı ve 9 oranında diionize su ile karıştırılarak -20°C 18 saat saklandı.

### Lipid peroksidasyonu ve enzim analizleri

Plazma MDA düzeyleri Placer ve ark.<sup>35</sup> belirttiği metod ile tayin edildi. Bu metod lipid peroksidasyonunun aldehid ürünlerinden biri olan MDA ile Tiobarbitürik asit (TBA)'nın reaksiyonu temeline dayanır. Redükte glutasyon, Sedlak ve Lindsay<sup>36</sup>'in belirttiği yöntem göre yapılırken; eritrosit glutasyon peroksidaz; Lawrence and Burk<sup>37</sup>'un belirttikleri metoda göre tespit edildi. Eritrosit katalaz aktivitesi ise Aebi<sup>38</sup> tarafında modifiye edilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in parçalanması sonucu 240 nm'deki absorbans azalmasının ölçülmesine dayanan metoda göre yapıldı.

### İstatistiksel hesaplamalar

İstatistiksel hesaplamalar varyans analizi (ANOVA) yapılarak, her grubun kontrol grubuna göre farkını belirlemek için Student's t-testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama+standart sapma olarak belirlendi ve P< 0.05, P<0.01 düzeyinde istatistiksel farklılık gösterildi.

### BULGULAR

Tablo 2'de kefirin kimyasal analiz sonuçları verilmiştir. Tablodan da anlaşılacağı üzere kefirin bileşimi daha çok üretildiği sütün bileşimine benzemektedir.

Tablo 2. Kefirin kimyasal analiz sonuçları.

Table 2. The chemical analysis of kefir.

Madde	%
Su	86.0-89.0
Kuru madde	11.0-14.0
Yağ	2.8-3.3
Süt şekeri	2.7-2.9
Mineral madde	0.6-0.9

Tablo 3. Kefirin mikrobiyolojik analizleri.

Table 3. Microbiological analysis of kefir.

Aerop mezofilik canlı	1.04x10 <sup>9</sup> kob/ml,
Laktik asit bakterileri	9.87x10 <sup>8</sup> kob/ml,
Laktik streptokok	4.38x10 <sup>8</sup> kob/ml,
Enterokok	7.80x10 <sup>4</sup> kob/ml,
Total koliform	0 kob/ml
Maya sayıları	1.26x10 <sup>5</sup> kob/ml

Tablo 4. CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> + kefir ve CCl<sub>4</sub> + vit. E uygulanan farelerde lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim düzeyleri.

Table 4. Lipid peroxidation and the level of some of the antioxidant enzymes in mice fed with supplementation of CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> + kefir and CCl<sub>4</sub> + vit. E.

Parametreler	Grup (kontrol)	II.Grup (1.5 ml/kg CCl <sub>4</sub> )	III.Grup (1.5 ml/kg CCl <sub>4</sub> +30 ml/kg kefir)	IV.Grup (1.5 ml/kg CCl <sub>4</sub> +250 mg/kg vit E)
MDA(nmol/ml)	0.90±0.02	5.84±0.04**	2.62±0.04**	2.92±0.02**
GSH(nmol/ml)	1.56±0.02	0.90±0.04**	1.65±0.04*	1.32±0.02*
GSH-Px(U/gHb)	32.38±1.70	29.22±1.47**	35.54±0.98**	34.14±1.72**
CAT(k/mgHb)	29.4±2.72	27.4±2.14**	28.8±2.75*	28.4±0.2*

P<0.05\*, p<0.01\*\*

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Kefirin antioksidan etkisi içerdiği laktik asit bakterilerinden kaynaklanmaktadır<sup>39,40</sup>. Ayrıca bu bakteriler tarafından oluşturulan çok sayıda metabolik ürün sap-



rofit ve patojen bakteriler üzerine güçlü inhibitör etki yapmaktadır. Garrote ve ark.<sup>8</sup>, farklı şartlarda saklanmış granüllerden elde edilen kefirin  $10^9$ - $10^{10}$  cfu/ml laktokok,  $10^9$ - $10^{10}$  cfu/ml laktobasil ve  $10^6$ - $10^7$  cfu/ml maya içerdiğini belirtmişlerdir. Marshall<sup>41</sup>, ise incelediği kefirlerden  $10^9$  cfu/ml laktokok,  $10^8$  cfu/ml laktobasil ve  $10^6$  cfu/ml maya izole etmiştir. Bir diğer çalışmada<sup>42</sup>, incelenen kefir örneklerinde  $10^9$  cfu/ml laktobasil,  $10^{10}$ - $10^{11}$  cfu/ml streptokok ve  $10^6$  cfu/ml maya saptanmıştır. Kılıç ve ark.<sup>43</sup> kefirlerden  $10^8$  cfu/ml laktokok,  $10^8$  cfu/ml laktobasil ve  $10^7$  cfu/ml oranında maya izole etmiştir. Bizim çalışmamızda aerop mezofilik canlı, laktik asit bakterileri, laktik streptokok, enterokok, total koliform ve maya sayıları sırasıyla  $1.04 \times 10^9$  kob/ml,  $9.87 \times 10^8$  kob/ml,  $4.38 \times 10^8$  kob/ml,  $7.80 \times 10^4$  kob/ml, 0 kob/ml ve  $1.26 \times 10^5$  kob/ml olarak diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Laktik streptokok ve laktobasil popülasyonu daha önceki çalışmalarda<sup>8,41,42,43</sup> olduğu gibi çalışmamızda da mayalardan fazla bulunmuştur. Koliform grubu bakterilerin bulunmaması kefir florasının bu bakteriler üzerindeki baskılayıcı etkilerine bağlanabilir. Nitekim Kılıç ve ark.<sup>43</sup>; kefirle beslenen farelerin gaitalarındaki koliform grubu bakterilerin önemli oranda azaldığını, Garrote ve ark.<sup>25</sup>, *E. coli* 3'ün kefir florası tarafından inhibe edildiğini bildirmişlerdir. Fermente süt ürünleri için ortak bir özellik olan laktoz miktarının süte oranla kefirde düşük olması nedeniyle laktoza karşı duyarlılığı olan (laktoz intolerans) kişilerce daha kolay sindirilmektedir<sup>1,32</sup>.

Vitamin E'nin bilinen en önemli antioksidan etkisi doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemesidir<sup>44,45</sup>. Bir fermente süt ürünü olan kefirin antioksidan özelliğinin esasını laktobasillerin oluşturduğu, örneğin *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Lactobacillus sp.* SBT 2028 suşlarının antioksidatif etkide rol oynadığı kabul edilmelidir<sup>39,40,46</sup>.

Bu çalışmada kontrol grubunda MDA düzeyi  $0.90 \pm 0.02$  iken sadece  $CCl_4$  uygulanan grupta  $5.84 \pm 0.04$  nmol/ml olarak yüksek bulundu. Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyindeki bu artışın tersine GSH-Px enzim aktivitesinde önemli düzeyde azalış ( $P < 0.01$ ) olurken CAT aktivitesindeki azalma daha az anlamlı ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur. GSH düzeyinde de benzer bir azalış gözlenmiştir. Bulgularımız daha önce kronik veya akut toksik zehirlenme çalışmalarda<sup>47,48</sup> verilen sonuçlarla uyumluluk içindedir. Bildik ve ark.<sup>49</sup> tavşanlarda akut ve kronik  $CCl_4$  uygu-

laması çalışmalarında deneme gruplarındaki MDA düzeylerinin kontrol gruplarına oranla önemli bir artış ( $p < 0.05$ ) gösterildiği ileri sürülmektedir. Farelerle yapılan bir diğer çalışmada<sup>50</sup> 200 mg/kg damar içi verilen  $CCl_4$ 'ün protein oranında artışa, antioksidan enzimlerde düşüşe neden olduğunun bildirilmesi olası bir peroksidasyonla açıklanabilir.

Çalışmamızda E vitamini ve kefirden yoksun diyetle beslenen II. Gruptaki hayvanlarda  $CCl_4$ 'ün oksidatif stres arttırabildiği lipid peroksidasyonuna neden olduğu bu grupta lipid peroksidasyonunun yüksek bulunmasıyla açıklanabilir. Hücrelerde oksidatif stres göstergeleri yükselirken, GSH seviyelerinde düşüş, bununla birlikte GSSH seviyelerinde yükselme görülebileceği ifade edilmektedir<sup>51</sup> Kefir ve vitamin E verilen farelerde GSH-Px seviyelerinin yüksek bulunması ve lipid peroksidasyonunda düşüş gözlenmesi kefir ve vitamin E destekli beslenmenin lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim sistemi üzerine etkilerini doğrulamaktadır.

Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan plazma MDA düzeyi,  $CCl_4$  ile birlikte vitamin E verilen grupta diğer gruplarda düşük bir oranda tespit edilmesi eritrosit GSH-Px ve GSH aktiviteleri  $CCl_4$  ve vitamin E uygulanan farelere göre anlamlı derecede yüksek bulunması, kefirin hem serbest radikal toplayıcı, hem de antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırıcı yönde etki gösterdiğini düşündürmektedir. Sonuçta, besleyici değeri yüksek<sup>2</sup>, diyetetik, terapötik ve profilaktik etkili<sup>4,26,45,52</sup> bir ürün olan kefirin daha iyi tanıtılması ve bu özelliklerinin daha kapsamlı araştırmalarla ortaya konulması gerektiği görüşüne varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- 1 **Sözmen EY, Onat T, Tanyalçın T, Erlaçın S:** Eritrositlerin antioksidan enzimlerde yaşa bağlı değişiklikler. *Biyokimya Derg.* 18(3): 83-89, 1993.
- 2 **Das SK, Nair RC:** Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxidation of normal and sickled erythrocytes. *Br J Haematol.* 44,87-92, 1980.
- 3 **Gutteridge JMC:** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 41(12):1819-1828, 1995.
- 4 **Marshall MV, Cole WM:** Methods for making kefir and fermented milks based on kefir. *J Dairy Res.* 52, 451-456, 1985.
- 5 **Libudzis Z, Paitkiewicz A:** Kefir production in Poland. *Dairy Industries International.* 55(7):31-33, 1990.
- 6 **Hirota T, Kikuchi T:** Studies on kefir grains. I. Isolation and classification of microorganisms from kefir grains and their characteristics. Reports of Research of Snow Brand Milk Products Co. Laboratory No. 74,63-82, 1976.
- 7 **Zourari A, Anifantakis EM:** Le kefir caracteres physico-chimiques, microbiologiques et nutritionnels. *Technologie de*



- production. Une revue, *Le Lait*, 68,373-398, 1988.
- 8 **Garrote GL, Abraham AG, De Antoni GL:** Preservation of kefir grains, a comparative study. *Lebensmitte-Wissenschaft und Technologie*, 30,77-84, 1997.
  - 9 **Angulo L, Lopez E, Lema C:** Microflora present in kefir grains of the Galician Reigon (North-West of Spain). *J Dairy Resc*, 60,263-267, 1993.
  - 10 **Rea MC, Lennartsson T, Dillon P, Drinan FD, Reville WJ, Heapes M, Cogan TM:** Irish kefir-like grains, their structure, microbial compozition and fermentation kinetics. *J Applied Bacteriol*, 81,83-94, 1996.
  - 11 **Marshall WM, Cole WM, Farrow JAE:** A note on the heterofermentative lactobacillus isolated from kefir grains. *J Applied Bacteriol*, 56, 503-505, 1984.
  - 12 **Toba T, Uemura H, Mukai T, Fujii Y, Itah T, Adachi S:** A new fermented milk using capsular polysaccharide-producing Lactobacillus kefiranofaciens isolated from kefir grains. *J Dairy Resc*, 58,497-502, 1991.
  - 13 **Yaman H:** Partial characterisation of lactobacilli isolated from commercial kefir grain. Ph Thesis.University of Huddersfield. UK, 2000.
  - 14 **Yaygın H:** Kefir ve özellikleri. III. Milli Süt Ürünleri Sempozyumu, 2-3 Haziran 1996 İstanbul. MPM Yayını 548, 246-252, 1996.
  - 15 **Çevikbaş A, Yemeni E, Ezzedenn FW, Yardımcı T:** Antitumoral, antibacterial and antifungal activities of kefir and kefir grain. *Phytother Res*, 8,78-82, 1994.
  - 16 **Hoolihan LK:** Prophylactic and therapeutic use of probiotics: A review. *J Am Diet Assoc*, 101:220-238, 241, 2001.
  - 17 **Saloff-Coste CJ:** Kefir: Nutritional and health benefiths of yogurt and fermented milks. *Danone World Newsl*, 11,1-7, 1996.
  - 18 **Glaeser H, Sigmaringen F:** Kefir: Kulturen, herstellung, chemische zusammentzung, ernahrungs-physiologischer wert. *Ernahrungs-Umschau*, 28, 156-158, 1981.
  - 19 **Shiomi M, Sasaki K, Murofushi M, Aibara K:** Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from kefir grains. *Jpn J Med Sci Biol*, 35:75, 1982.
  - 20 **Murofushi M, Shiomi M, Aibara K:** Effect of orally administered polysaccharide from kefir grain on delayed-typed hypersensitivity and tumor growth in mice. *Jpn J Med Sci Biol*, 36,49, 1983.
  - 21 **Tamai Y, Yoshimitsu N, Watanabe Y, Kuwara Y:** Effect of milk fermented by culturing with various Lactic acid bacteria and yeast on serum cholesterol level in Rats. *J Ferment Bioeng*, 81,181-182, 1996.
  - 22 **James W, Anderson MD, Stanly F, Gilliland PHD:** Effeect of fermented Milk (yoğurt) containing lactobacillus acidophilus 11 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *J Am Col Nutr*, 18 (1): 43-50, 1999.
  - 23 **Osada K, Nagira K, Teruya K, Tachibana H, Shirahata S, Murakami H:** Enhancement of interferon-b production with sphingomyelin from fermented milk. *Bitherapy*, 115-123, 1994.
  - 24 **Thoureaux K, Schmucker DL:** Kefir: Milk enhances intestinal immunity in young but not old rats. *J Nutr*, 131(3):807-812, 2001.
  - 25 **Garotte GL, Abraham AG, De Antoni GL:** Inhibitory power of kefir: The role of organic acids. *J Food Prot*, 63(3):364-369, 2000.
  - 26 **Klupsch HJ:** Produktverbsserung an beisbeil kefir. *Deutsche molkerei Zeitung*, 15, 466-473, 1984.
  - 27 **Tepyl M, Hylmar B:** Cultured milk products in rational nutrition. *Vizira Lidu*, 29, 1974.
  - 28 **Oysun G:** Süt ürünlerinde analiz yöntemleri. Ege Üniv Ziraat Fakültesi Yayınları, No:504. Bornova, İzmir, 1991.
  - 29 **Anonymus:** Food composition and analysis. Milk and milk products. Chapter 12, Ed. Aurand, LW, Woods, AE. And Wells, MR. Van Nostrand Reinhold. New York. USA, 1987.
  - 30 **Harrigan FW, McCance ME:** Laboratory methods in food and dairy microbiology. Acedemic Press, London. 1976.
  - 31 **Anonymus:** The Oxoid Manual, Seventy Ed. (Ed by Bridson) Hampshire, England, 1995.
  - 32 **Axelsson L:** Lactic acid bacteria: Classification and physiology, In, Salbabinens S, Wright A (Eds): Lactic acid bacteria microbiology and functional aspects, 2nd ed, Marcel Dekker, Inc, New York, 11-15, 1993.
  - 33 **Terzaghi BE, Sandine VE:** Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Appl Microbiol*, 29,807-813, 1975.
  - 34 **ICMSF:** Microorganisms in foods, their significance and methods of enumeration. 2nd ed. University of Toronto Press, Toronto, Buffalo, London, 1978.
  - 35 **Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC:** Estemination of product of lipid peroxidation (Malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*, 16:359-364, 1966.
  - 36 **Sedlak J, Lindsay RH:** Estimation of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's Reagent. *Anal Biochem*, 25:192-205, 1968.
  - 37 **Lawrence RA, Burk RF:** Biochem Biophys-Res-Comin, 71, 952, 1976.
  - 38 **Aebi H:** Catalase-In methods of enzymmatic analysis (3rd edn) Bergmeyer HU (Ed). Verlag Chenie: Deerfield Beach. FLVCH: 273-286, 1987.
  - 39 **Lin MY:** The beneficial effect of lactic acid bacteria. *J Chin Nutr Soc*, 20:367-380, 1995.
  - 40 **Lin MY:** The beneficial effect of Lactic acid bacteria. *J Chin Nutr Soc*, 20, 367-380, 1995.
  - 41 **Marshall WM:** Starter cultures for milk fermentation and their characteristics. *J Soc Dairy Tech*, 1993.
  - 42 **Yun Kuo C and Wen Lin C:** Taiwanese kefir grains: Their growth, microbial and chemical composition of fermented milk. *Aust J Dairy Tech*, 54(4):19-23, 1999.
  - 43 **Kılıç S, Ataman G, Akbulut N:** Kefirin invivo koşullarda barsak mikroflorası ve canlı ağırlık üzerine etkisi. XII. Biyoteknoloji Kongresi. 17-21 Eylül Ayrıalık, Balıkesir, 2001.
  - 44 **Ürek RÖ, Bozkaya LA, Tarhan I:** The effects of antioxidant vitamin-and trace elements of Cu, SOD, CAT, GSH-Px, and LPO levels in chicken tissues. *Cell Biochem Funct*, 19:125-132, 2001.
  - 45 **Aydemir T, Öztürk RO, Bozkaya LA, Tarhan L:** Effects of antioxidant vitamins A, C, E and trace elements Cu, Se on Cu Zn SOD, GSH-Px, CAT and LPO levels in chicken erythrocytes. *Cell Biochem Funct*, 18:109-115, 2000.
  - 46 **Lin MY, Chang, FJ:** Antioxidative effect of intestinal bacteria Bifidobacterium longum ATCC 15708 and Lactobacillus acidophilus ATCC 4356. *Dig Dis Sci*, 45(8):1617-1622, 2000.
  - 47 **Kaizu H, Sasaki M, Nakajima H, Suzuki Y:** Effect of antioxidative lactic acid bacteria on rats fed a diet deficient in vitamin E. *J Dairy Sci*, 76,2493-2499, 1993.
  - 48 **Vajdovich PA, Szilagy T, Gaal N:** Evaluation of blood lipid peroxidation parameters in carbon tetrachloride (CCl4) toxicity in sheep. *Acta Vet Hung*, 43, 423-429, 1995.
  - 49 **Yılmaz S, Bahçelioğlu HI:** Karbon tetraklorür ile siroz oluşturan ratlarda lipid peroksidasyonu antioksidant enzim ile pırtivat kinaz aktiviteleri. *Tr J Vet Anim Sci*, 24,25-28, 2000.
  - 50 **Bildik A, Ertekin A, Vur F, Dede S:** Karbon tetraklorür toksikasyonu lipid peroksidasyonu, glutatyon ve Vit C üzerine etkileri. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği II. Ulusal Kongresi, 1997.
  - 51 **Manno M, Bertazzon A, Burlina A, Galzigna L:** Interaction of low doses of ionizing radiation an carbon tetrachloride on liver superoxide dismutase and glutatione peroxidase in mice. *Enzym*, 34, 107-112, 1985.
  - 52 **Korolev A:** Kefir and kumys Starters. IDF, 179, 1988.

Yazışma adresi (Correspondence address)

Yrd. Doç.Dr. Aysel Güven  
Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı  
36040- Kars-TÜRKİYE  
Tel : +90 474 2120201  
Fax : +90 474 2122736  
e-mail: ayselguven@hotmail.com