

# Kafkas Dağlarından Günümüze: Kefir

İlker TURAN, Tankut İLTER

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Namık Kemal Mentesh Gastroenteroloji Kliniği, İzmir

**K**efir krema kıvamında, hafif ekşimsi tadı olan fermente bir süt içeceğidir. Probiyotik kullanımının giderek yaygınlık kazandığı günümüzde, Kafkas dağlarında eski Türkler'in bulduğu ve Kafkas ırkının uzun yaşamasının sırrı olarak görülen kefir ne yazık ki, ülkemizde hak ettiği ilgiyi görememiştir. Oysa diğer ülkelerde 21. yüzyılın yoğurdu ünvanını alacak kadar çok ilgiyle karşılanmıştır (1). Kefir kelimesinin 'keyif veren, coşturan, mest eden' keyf kelimesinden türemiş olabileceği sanılmaktadır. Kefiri diğer fermente süt ürünlerinden ayıran özelliği, kefir taneleri denen ("grains") özelleşmiş ve biyolojik olarak canlı organizmalar olarak davranan yapılardan üretilir (Şekil 1). Kefir taneleri 8-10 mm çapında karnıbahara benzeyen jelatinöz ve düzensiz partiküllerdir. Bu taneler büyür, çoğalır ve özelliklerini bir sonraki jenerasyona aktarırlar. Kefir tanelerinin mikroflorası oldukça stabildir, eğer uygun kültürel ve fizyolojik koşullarda saklanırsa yıllarca aktivitelerini koruyabilirler. Günümüzde doğal kefir taneleri kullanılarak kefir yapılabildiği gibi, starter kültürler kullanılarak yapılan endüstriyel kefirlerde piyasada mevcuttur.

## Kefir Nasıl Yapılır?

Kefir yapımında kullanılacak süt 5 dakika kadar iyice kaynatıldıktan sonra bir kaba konur ve 25°C'ye



Şekil 1. Kefir taneleri

soğutulur. Üzerindeki kaymak tabakası alınır, 1 litre süte 15-20 gram kadar kefir tanesi katılır ve iyice karıştırılır. Kabın kapağı kapatılır ve süt 20-25°C'de kalacak şekilde muhafaza edilir. Soğuk havalarda kabın etrafı bezle sarılır. Kabın 20-30°C'lerde olması sağlanır. Bu sıcaklık yoğurt yapmak üzere süütün mayalandığı dereceden düşüktür. Zira yoğurt için mayalama sıcaklığı 42-45°C'dir. Kap içindeki süt normal olarak 18-24 saat sonra pıhtılaşıır. Pıhtılaşıma süresi üzerine süte katılan kefir tanesi miktarı, bekleme sırasındaki süütün sıcaklığı etkili olmaktadır. Kış günleri ve soğuk havalarda kabın etrafı sarılmaz ise

sütün sıcaklığı düşeceğinden, bazen pıhtılaşma gecikir veya hiç gerçekleşmez.

Kefir oluşunca buzdolabına alınır ve soğuyuncaya kadar burada bekletilir. Buzdolabından alınan kefir, tanelerin ayrılması için bir kabın üzerine yerleştirilen tel süzgeçten geçirilir. Süzgeç üzerinde kalan taneler hemen kefir yapımında kullanılabileceği gibi yıkılarak bir su bardağı içerisinde buzdolabında bir hafta kadar saklanabilir. Saklanmak istendiği zaman taneleri örtecek kadar bardağa su koymak gerekir.

Elde edilen kefir hemen içilebilir veya 2-3 gün buzdolabında kalabilir. Bu süre içinde kefirde asit fazlaşır, karbondioksit oluşur dolayısıyla tat ve aroma değişir. Kefirin bileşiminde yer alan maddeler esas itibarıyla yapıldığı sütün özelliklerine bağlıdır. Ayrıca bileşimi, tadı ve aroması üzerine sütün mayalama sıcaklığı, bekleme süresi, yapımdan sonra içilinceye kadar geçen süre etkili olmaktadır (www.agr.ege.edu.tr/depts/sut/kefir.htm).

### Kefir Tanelerinin Yapısı

Kefir taneleri kompleks bir mikrobiyolojik yapıya sahiptir. Bu karışık popülasyon sütün asit-alkolik bir fermentasyonuna neden olur. Fermentasyon sonucu yoğurttaki gibi laktoz içeriği azalır ve  $\beta$ -galaktosidaz düzeyi artar. Mayalar final kefir ürününde düşük laktoz içeriği oluşmasına katkıda bulunur (2). İçime hazır kefirde esas olarak L(+) formda bulunan laktik asit, ayrıca formik, süksinik ve propiyonik asitler, CO<sub>2</sub>, etil alkol, çeşitli aldehytlar ve az miktarda izoamil alkol ve aseton bulunur (3). Laktik asit, proteolitik aktivite ve asetaldehit kefire tadını veren esas bileşenlerdir.

Kefir taneleri içinde bulunan bakteri ve mayalar, “kefiran” denen jel kıvamında bir polisakarit matris içine gömülü olarak bulunurlar. Kefiran, tanelerde bulunan *Lactobacillus* türlerinin kapsüller polisakaritidir ve kuru materyalin en az %24’ünü oluşturur. İçerik olarak yaklaşık eşit miktarda D-glukoz ve D-galaktoz rezidüleri içeren suda çözünebilir bir dallı (branched) glukogalaktandır. Hidrolize oldukça dirençlidir ve etanol içeren sulu solüsyonlarda jel formu oluşturur (4).

Kefirde bulunan mikroorganizmalar, kefir tanelerinin orijinine göre değişmekle birlikte sıklıkla, laktik asit bakterileri (*Lactic streptococci* ve *Lactobacilli*), asetik asit bakterileri (*Acetobacter*) ve mayalar bulunur (3, 5, 6, 7, 8, 9). Kültür ortamına ve kefirin yapıldığı coğrafyaya göre değişmekle birlikte, kefir tanelerinde yaklaşık 30 ila 50 değişik bakteri ve maya türü bulunur. Koklar ayrıcalıklı olarak mantar hücrelerinin yüzeyinde görülürken, rod şekilli bakteriler esas olarak maya hücrelerinin arasında görülür.

Bazı yazarlara göre kefir tanelerinde bulunan predominant *Lactobacilli* türleri; *L. Paracasei* subsp. *paracasei*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. plantarum* and *L. kefiranofaciens*’dir. Bu suşlar kefir tanesi popülasyonunun %90’ını oluştururken, final fermente içecekteki *Lactobacilli*’nin sadece %20’sini meydana getirirler. Kalan %80’lik LAB’i ise *L. kefir* oluşturur (10). *L. kefiranofaciens* ve *L. kefirgranum* homofermentatif laktobasillerdir ve kefir tanelerinin majör mikrobiyal yapısını oluşturmaktadır. *L. kefiranofaciens* oldukça viskoz koloniler oluştururlar ve kefiran oluşumundan sorumludurlar (11). Bu bakterinin *Saccharomyces cerevisiae* ile miks kültüründe hücre büyümesi ve kefiran üretimi artar (12). Bu da kefir içindeki bakteri ve mantarların simbiyotik ilişkisinin önemini göstermektedir.

Simova ve ark. kefir tanelerinde mikrobiyal içeriğin %83-90’ını laktik asit bakterileri olarak saptamışlardır (13). Bazı çalışmalarda *Streptococcus lactis* gibi laktik asit streptokokları %40-80 gibi yüksek oranlarda saptanırken (13), bir kısım çalışmalarda ise streptococci varlığı oldukça az tespit edilmiştir (14, 15). Bazı yazarlar tarafından *S. lactis*, kefir tanelerini oluşturan mikrofloranın değişmez bir parçası olarak düşünülmektedir (16, 17). Türk kefirinde bulunan *Lactobacillus* spp suşları ve metabolik aktiviteleri ile ilgili bir çalışmada Yüksekdağ ve ark. 21 *Lactobacillus* izolatu tanımlanmıştır [*L. acidophilus* (4%), *L. helveticus* (%9), *L. brevis* (%9), *L. Bulgaricus* (%14), *L. plantarum* (%14), *L. casei* (%19) and *L. lactis* (%28)] (18). Çalışmada izole edilen *Lactobacillus* türlerinden en fazla laktik asit üretenler *L. lactis* Z21L ve *L. brevis* Z13L, en az üretenler ise *L. bulgaricus* Z14L ve *L. plantarum* Z15L olarak saptanmış-

tır. Kefir tanelerinin yapısında yer aldığı gösterilmiş olan bakteriler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Kefir-spesifik mayalar kefirin tat ve aromasının oluşumunda esas rolü oynarlar. Kefirde tanımlanmış mayalardan bazıları: *Kluyveromyces marxianus*, *Torulasporea delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus*, *Candida kefir*, *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces turicensis*, *Pichia fermentans*, *Yarrowia lypolytica*’dır (19, 20). Kefirde 23 farklı mantar türü bildirildiği rapor edilmiştir. Ancak en sık izole edilen türler *K.marxianus*, *C.kefir* ve *S.cerevisiae*’dir. Yakın bir çalışmada bakteri ve maya türleri içinde en sık izole edilenler *Lactococcus lactis* ve *C. kefir* olarak bildirilmiştir (21). Kefir tanelerinin yapısında yer aldığı gösterilmiş olan funguslar Tablo 2’de gösterilmiştir.

## Saklama Yöntemleri

Kefir tanelerinin saklama koşulları için çeşitli yöntemler kullanılabilir. Bu yöntemler arasında dondurma, liyofilizasyon, hava ile kurutma (air-drying) ve buzdolabında saklama sayılabilir. Araştırmalar geleneksel kefir tanelerinin hava ile kurutma ve liyofilizasyon ile 12-18 aya kadar aktivitelerini koruyabildiklerini göstermiştir. Kefir tanelerinin dondurularak -20 derecede saklanması ile mikrobiyal aktivitelerini 7-8 ay koruyabildikleri, buzdolabında koşullarında ise aktivitelerinin yaklaşık 10 günden sonra azaldığı bildirilmiştir (22).

## Gastrointestinal Flora Üzerine Etkileri

Kefirin gastrointestinal sistemdeki flora üzerine önemli etkileri vardır. Farelerde yapılan araştırmalarda en belirgin etki laktik asit bakterileri ve clostridiumlar üzerinde gözlenmiştir. İnce barsak ve kalın

**Tablo 1.** Farklı kefir tanelerinde izole edilen bakteriyel mikrobiota

Esas terminoloji	Eski terminoloji
Lactobacilli	
Lactobacillus acidophilus	
Lactobacillus brevis	
Lactobacillus casei subsp. casei	Lactobacillus casei
Lactobacillus paracasei subsp.paracasei	Lactobacillus casei subsp.pseudoplantarum
Lactobacillus fermentum	
Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus	
Lactobacillus helveticus	
Lactobacillus kefir	
Lactobacillus kefirnofaciens subsp. kefirnofaciens	Lactobacillus kefirnofaciens
Lactobacillus kefirnofaciens subsp. kefirgranum	Lactobacillus kefirgranum
Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis	Lactobacillus lactis
Lactobacillus parakefir	
Lactobacillus plantarum	
Diğer bakteriler	
Lactococcus lactis subsp. cremoris	Lactococcus cremoris, Streptococcus cremoris
Lactococcus lactis subsp. lactis	Lactococcus lactis, Streptococcus lactis
Streptococcus thermophilus	
Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris	
Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides	
Enterococcus durans	
Acetobacter aceti	

**Tablo 2.** Farklı kefir tanelerinde izole edilen fungal mikrobiota

Esas terminoloji	Eski terminoloji
Dekkera anomala/ Brettanomyces anomalus	
Torulaspota delbrueckii	Saccharomyces delbrueckii
Candida friedrichii	
Candida humilis	
Saccharomyces exiguus	Torulopsis holmii; Candida holmii
Candida inconspicua	
Kluyveromyces marxianus / Candida kefir	Kluyveromyces marxianus var marxianus
Pichia fermentans / Candida firmetaria	Candida lambica
Issatchenkia orientalis / Candida krusei	
Candida maris	
Cryptococcus humicolus	
Debaromyces hansenii / Candida famata	
Debaromyces occidentalis	
Galactomyces geotrichum	
Kluyveromyces lactis var. lactis	Kluyveromyces lactis; Kluyveromyces marxianus var. marxianus
Kluyveromyces lodderae	
Saccharomyces cerevisiae	
Saccharomyces pastorianus	Saccharomyces carlsbergensis
Saccharomyces unisporus	
Yarrowia lypolytica / Candida lypolitica	
Zygosaccharomyces rouxii	
Saccharomyces turicensis sp nov	

barsakta laktik asit bakterileri artarken, sülfid-azaltıcı clostridiaların önemli oranda azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca ince barsak entorococci sayısında 10 kat artma izlenmiştir. Kalın barsak mukozasında Enterobacteriaceae üyelerinin bir miktar azaldığı, anaerobik bakteri sayısının ve Gram-negatif anaerobik bakteri sayısının önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir (2). Bu sonuçlar belli bir süre kefir alınmasının anaerobik mikroflora karşı antagonistik bir etki gösteriyor gibi durmaktadır. Medikal açıdan bakıldığında, örneğin postoperatif intra-abdominal septik komplikasyon gelişen hastalarda enfekte bölgelerden sıklıkla Gram-negatif anaerobların izole edilmesi nedeniyle bu etki önemli olabilir.

Kefirin insanlarda intestinal mikroflora üzerine etkisini araştıran ise az sayıda çalışma vardır. Figler ve ark. Biofir® (“Hungarian Dairy Research Institute” tarafından geliştirilen, ekzopolisakkarit üreten ter-

mofilik suşlarca oluşturulan probiyotik laktik asit bakteri kültürü temelinde yapılan Rus tipi kefir) ile geleneksel Rus tipi kefir karşılaştırdıkları bir çalışmada, 4 haftalık kullanım sonrasında fekal mikroflora analizinde tüm mikrop sayısının kontrol grubunda (geleneksel Rus kefir) 4.3 kat, Biofir grubunda ise 6.8 kat arttığını, ancak probiyotik bakteri oranlarında (Lactobacillus, Streptococcus ve Bifidobacterium) ise Biofir grubunda %12.7’den %72’ye artış gözlenirken, kontrol grubunda %8.9’dan %2.7’ye azalma gözlenmiştir. Biofir grubunda probiyotik bakterilerinden en fazla artış (59.7 kat) bifidobacterium grubunda izlenmiştir. Lactobacilli sayısında ise değişiklik gözlenmemiştir. Çalışmanın sonucu olarak Biofir tüketimi ile probiyotik bakterilerde önemli artış gözlenirken, geleneksel kefirde ise bu artış gösterilememiştir (23).

## Antimikrobiyal Etkisi

Kefir içinde bulunan mikroorganizmalar tarafından laktik asit, antibiotikler ve çeşitli bakterisidler üretilir. Bu ürünler çeşitli patojenlerin yıkımında ve çoğalmalarının inhibisyonunda rol oynar (19). Kefirin Salmonella, Helicobacter, Shigella, Staphylococcus, E. Coli, Enterobacter aerogenes, Proteus vulgaris, Bacillus subtilis, Micrococcus luteus, L. monocytogenes, S. pyogenes ve C. albicans gibi çeşitli Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere, ayrıca funguslara karşı anti-mikrobiyal etkisi ve ayrıca anti-inflamatuvar özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (24-26). Rodrigues ve ark. kefir ve kefiranın 7 bakteri ve bir mantar üzerine antibakteriyel etkilerini disk difüzyon yöntemiyle araştırdıkları bir çalışmada, S.pyogenes'i en sensitif mikroorganizma, S.aureus, S.salivarius, S. typhimurium, C. albicans, L.monocytogenes daha az sensitif mikroorganizmalar, P.aeruginosa ve E.coli ise en az sensitif mikroorganizmalar olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada farelerde S.aureus ile enfekte edilmiş yara üzerine %70'lik kefir jelinin skatrizan etkisi araştırılmış ve clostebol-neomisin emülsiyonundan daha iyi yara iyileşmesi sağladığı gösterilmiştir (27). Santos ve ark. 58 farklı lactobacillus spp. suşunun antimikrobiyal özelliklerini test ettikleri çalışmada, bu suşların eritrosit-benzeri Caco-2 hücrelerine karşı Salmonella typhimurium adezyonunu inhibe etme yetenekleri değerlendirilmiş ve en iyi probiyotik özellik *L.acidophilus* CYC 10051 ve *L.kefirifaciens* CYC 10058 suşlarında izlenmiştir (28). Anselmo ve ark. Arjantin'in Lugar nehrinden izole ettikleri 53 Salmonella enteritidis suşunun kefir varlığında survival'ını değerlendirmek için 22 ve 4°C'de kefir içine kültüre ve inoküle etmişler ve 4°C'de 24 saat inkübasyon, 22°C'de ise 18 saat inkübasyon sonrasında S.enteritidis tespit edilmemiştir (29). Bir başka çalışmada ise, E.coli O157:H7 ve ATCC 25922 suşlarına karşı kefirin antibakteriyel aktivitesi değerlendirilmiş ve nötral pH'da bakteriyel büyüme etkilenmezken, asidik pH ortamında kısa sürede her iki suşunda büyümesinin inhibe olduğu görülmüştür (30). Bu da kefirde bulunan antibakteriyel maddelerin asidik çevrede aktive olduklarını düşündürmektedir.

## İmmüno-Modulatuvar Etkisi

Kefirin mürin modelinde Th2 sitokinleriyle kontrol edilen bir Th1 cevabını indüklediği (doza bağımlı şekilde) gösterilmiştir (31). Bu çalışmada kefir mikrolorası ile fermente edilen süttten elde edilen ürünün (PMFKM), fare ince barsak epitel hücrelerinde IL-6 sekresyonunu up-regüle ettiği, kalın ve ince barsak lamina propriasında (LP) IgA+ hücre sayısını ve IL-4+, IL-10+, ve IL-6+ hücre sayılarını arttırdığı tespit edilmiştir. Çalışmada PMFKM verilmesini takiben kalın barsakta immünoglobulin ve sitokin oluşumunun ince barsak LP'daki kadar belirgin olmadığı gözlemlenmiştir. Bu durum kefirin esas olarak ince barsaktan emilmesine ve kalın barsaktaki immün etkilerden daha çok solubl ekzopolisakkarit fraksiyonu olan kefiranın sorumlu olabileceğine bağlanmıştır. Kefir taneleri %34 oranına kadar ekzopolisakkarit kefiran içerebilirken, son ürün içeceklerinde bu oran %0.2-0.7 olmaktadır (32).

Kefirin fermentasyonu esnasında gerçekleşen en önemli kimyasal değişikliklerden bir tanesi, süt kazeyinin proteolizisidir. Oluşan peptidik fraksiyonların kefir bakterileri üzerinde büyümeyi uyarıcı etkilerinin yanında, immün düzenleyici etkileri olabilir (31).

Başka bir çalışmada ise, peritoneal ve pulmoner makrofajlarda fagositik aktiviteyi ve bronşial doku gibi alanlarda IgA aracılı mukozal immüniteyi arttırdığı saptanmıştır (33). Doğal (innate) immün sistem üzerine etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada, peritoneal makrofajlarda ve Peyer plaklarındaki adherent hücrelerde TNF $\alpha$  ve IL-6 başta olmak üzere çeşitli sitokin salınımlarını etkileyerek immün sistemi modüle ettiği tespit edilmiştir (34). Kefirde bulunan lipidlerden elde edilen sfingomyelininde immün sistemi stimüle ettiği rapor edilmiştir (35).

Kolera toksini (CT) ile immünize edilen ratlarda kefirin intestinal immünite üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, kefir verilen genç ratlarda serum anti-CT IgA düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Yaşlı ratlarda ise bu etki gözlenmemiştir. Artan immünoglobulin sekresyonu, mukoza-ilişkili lenfoid dokuda (GALT) antikor sekrete eden hücrelerin sayısının artışı ile ilişkilidir (10).

### Anti-Tümöral Etkisi

Kefirin immün sistem üzerine olumlu etkilerinin yanı sıra, bazı kanser tipleri üzerinde de koruyucu etkileri gösterilmiştir. LeBlanc ve ark.'nın meme kanserinin mürin modelinde yaptıkları bir çalışmada, 2 günlük sikluslar halinde kefir ve kefir fraksiyonu (kefir cell-free fraction) verilen mürinlerde tümör gelişiminin geciktiği gözlemlenmiştir. Hem kefir hem de kefir fraksiyonunun serum IL-10 (regulator sitokin) düzeyini arttırdığı, meme bezinde ise IL-6 (östrojen sentezinde rol alan pro-anjiojenik sitokin) pozitif hücre sayısının ise azaldığı, ayrıca kefir fraksiyonu verilen grupta meme bezinde ve tümörde IL-10 (+) hücre sayısının arttığı, tümörde IL-6 (+) hücre sayısının azaldığı rapor edilmiştir (36). Sonuçta kefir tüketiminin, östrojen-bağımlı tümörlerde çok önemli olan immün ve endokrin sistemler arasındaki ilişkiyi module edebildiği (IL-6 düzeylerini azaltarak) gösterilmiştir. Shiomi ve ark. Ehrlich karsinoma ve Sarkoma-180 inoküle edilen farelerde kefirde elde edilen suda-çözünbilir polisakkaritin tümör büyümesini sırasıyla %40-59 ve %21-81 azalttığını saptamışlardır. Benzer etki intraperitoneal uygulama ile de görülmüştür. Bu anti-tümör etki daha çok konakçı-aracılı olarak düşünülmektedir, çünkü aynı etki tümör hücrelerinde in vitro olarak gözlemlenmemiştir (37). Çok yakın bir çalışmada meme tümör hücresi enjekte edilen farelerde 2 veya 7 günlük sikluslarla kefir ve kefir "cell-free" fraksiyonu (KF) verilmesi ile meme bezindeki immün hücre popülasyonları ve apoptozis değerlendirilmiş ve sonuç olarak her iki ürünün 2 günlük sikluslarla uygulanmasının tümör gelişimini geciktirdiği ve meme bezinde IgA (+) hücre sayısını arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca 2 günlük sikluslarla KF alan grupta meme bezinde apoptotik hücre sayısının önemli oranda arttığı ve Bcl-2 (+) hücrelerin ise azaldığı gösterilmiştir (38). Furukawa ve ark. kefir tanelerinin suda-çözünbilen (WP) ve suda-çözünmeyen (WIP) polisakkarit fraksiyonlarının farelerde Lewis akciğer karsinomu ve B16 melanoma hücrelerine karşı etkisini araştırmışlar ve WP fraksiyonunun pulmoner metastazlara karşı koruyucu, ancak melanoma hücrelerinin metastazına karşı ise az etkileri olduğunu, WIP fraksiyonu-

nun ise melanoma metastazını inhibe ettiğini rapor etmişlerdir (39). Tümör oluşumuna karşı bu koruyucu etkiler bildirilmiş olsa da, yakın bir çalışma nutrisyonel gerçeklerinde önemli olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada farelere sırasıyla %3.5 yağ içeren kefir, %1.1 yağ içeren kefir ve %1.1 yağ içeren süt vermişler ve en yüksek adenokarsinom gelişimi %3.5 yağ içeren kefir grubunda gözlenirken, en az adenokarsinom gelişimi ise %1.1 yağ içeren süt grubunda gözlenmiş (40). Çalışmanın sonucunda yazarlar kefirin koruyucu olabileceğini, ancak adenokarsinom gelişimi ile yağ alımı arasında yüksek korelasyon olduğunu ve diyet faktörlerinin de önemli olduğunu belirtmişlerdir.

### Anti-Apoptotik Etkisi

Kefirin ratlarda radyasyonla-indüklenen apoptozise karşı da koruyucu etkisi saptanmıştır. Matsuu ve ark. kolonda X-ray ile indüklenen apoptozis üzerine kefirin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada, radyasyon verilmeden önce 12 gün fermente süt kefirini verilen ratlarla kontrol grubunu karşılaştırdıklarında, kefir verilen ratlarda apoptotik indeksin ve aktif caspase-3 ekspresyonunun önemli oranda azaldığını göstermişlerdir (41). Bu etki en belirgin olarak kriptlerde stem hücrelerinin olduğu bölgede izlenmiştir. Kefirin anti-apoptotik etkisi caspase-3 aktivasyonunun inhibe olmasına bağlanmıştır. Yine insan melanoma hücrelerinde ultraviyole ile indüklenen apoptozise karşı kefirin koruyucu bir etkisi olduğu bildirilmiştir (42). Fermente süt ürünlerinin pelvik malignansilerde radyasyon tedavisinden sonra ortaya çıkan kronik barsak rahatsızlıklarını azalttığı bilinmektedir (43).

### Anti-Alerjik Etkisi

Gıda alerjisinin patogenezinde rol oynayan faktörlerden birisi de gastrointestinal kanalda gıda antijenlerine karşı hiperpermiabilite olmasıdır. Farelerde ovalbümine karşı oral sensitizasyon ve intestinal permiabilite üzerine kefirin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, kefir verilen grupta kontrollere göre plazma ovalbümin konsantrasyonunun azaldığı, anti-ovalbümin IgG konsantrasyonunun daha düşük olduğu ve ex vivo olarak ovalbümin tarafından uyarılan splenik

mononükleer hücre proliferasyonunun da daha az olduğu tespit edilmiştir (44). Bu bulgular farelerde diyetle verilen kefir ile ovalbümine karşı oral sensitizasyonun baskılandığını düşündürmektedir. Yazarlar bu supresyonda kısmen de olsa, antijenin intestinal geçirgenliğinin azalmasının ve kefir içinde bulunan aktif canlı bakterilerin etkisinin olabileceğini ifade etmişlerdir. Nitekim kommensal bakterilerin oral tolerans indüksiyonunda önemli olduğu bilinmektedir. Çalışmanın sonuçları kefirin gıda alerjisinin önlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir.

### **Anti-Oksidant, Anti-Mutajenik, Anti-İnflamatuvar Etkisi**

Kefirin anti-oxidant etkisi de çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (45-47). Güven ve ark. farelerde CCl4 ile indüklenen oksidatif hasarda kefirin redükte glutatyon (GSH) ve GSH peroksidaz düzeylerini arttırarak, lipid peroksidasyonunu ise azaltarak vitamin E'den daha koruyucu etki gösterdiğini saptamışlardır (47). Yine Liu ve ark. kefirin anti-mutajenik ve anti-oksidant etkisini araştırdıkları bir çalışmada, anti-mutajenik etki Salmonella mutajenite assay yöntemiyle değerlendirilmiş, süt-kefiri ve soymilk-kefirin fermente edilmemiş süt ve soymilke göre önemli oranda daha belirgin anti-mutajenik etki gösterdiği saptanmıştır (48). Matar ve ark. L.helveticus ile süütün fermentasyonu sırasında anti-mutajenik ürünlerin meydana geldiğini rapor etmişlerdir (49). Kefir tanelerinden izole edilen L.helveticus'un yüksek oranda proteolitik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (50). Bu bulgular ışığında kefirin anti-mutajenik etkisinin daha çok fermentasyon sırasında serbestleşen peptidlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Çalışmada anti-oksidant etkiye bakıldığında ise, süt-kefiri ve soymilk kefirin DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl) radikalleri üzerinde daha fazla "scavenging" aktivite, linoleik asit peroksidasyonu üzerinde de daha fazla inhibisyon etkisi gösterdiği rapor edilmiştir (48).

Farelerde kefirin anti-inflamatuvar etkisi, pamukla indüklenen (cotton-induced) granülom dokusu üzerinde çalışılmış, inflamatuvar süreçte kefir süspansiyonlarının %41, kefirle hazırlanan fermente süütün

%44, kefiran ekstraktının ise %34 inhibisyon gösterdiği bildirilmiştir (51). Aynı çalışmada "rat paw ödem testi" ile kefir süspansiyonlarının anti-ödematojenik etkileri değerlendirilmiş, carrageenan, dextran ve histamin ile oluşturulan ödemde kontrol grubuna (%0.9 NaCl) göre önemli azalma bulunmuştur.

Kefirin rapor edilen bir diğer etkisi ise insan hücre hatlarında interferon  $\beta$ , kortizol ve noradrenalin üretimini arttırıcı etkisidir (52). Bu nedenle stres-azaltıcı gıda komponenti olarak öne sürülmüştür.

### **Kefirin Kan Basıncı ve Serum Lipidleri Üzerine etkisi**

SHRSP/Hos ratlarda (stroke-prone spontaneously hypersensitive rats) kefiran verilen grup kontrol grubu (distile su) ile karşılaştırıldığında kefiran grubunda sistolik ve diastolik kan basınçlarının daha düşük olduğu ve anjiotensin-dönüştürücü enzim (ACE) düzeylerinin serum ve torasik aortada kontrol grubuna göre önemli oranda az olduğu bildirilmiştir (53). Caprine (bir tür keçi) sütünden yapılan kefirde ACE inhibitörü aktivitesi bulunmuş ve bu aktivitenin fermentasyon sırasında kazeinden salgılanan peptidlere bağlı olduğu bildirilmiştir (54).

Maeda ve ark.'nın yaptıkları çalışmada (53) yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda 30 günlük kefiran verilmesini takiben serum ve karaciğer lipid düzeylerinin (total-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserit, fosfolipid) kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Yazarlar çalışmanın farklı bir kolunda genetik olarak diabetik farelerde (KKAy) kefiranın etkisini araştırdıklarında kan glukoz seviyesinin kontrol grubuna göre düşmeye eğilimli olduğunu, SD (Sprague-Dawley) ratlarda kefiranın konstipasyon üzerine etkisine baktıklarında ise kefiran grubunda fekal nemin ve feçes ıslak ağırlığının arttığını ve kefiran uygulanmasının defekasyonu iyileştirmede etkili olduğunu rapor etmişlerdir (55).

Liu ve ark. kolesterol ile beslenen hamsterlerde 8 hafta süre ile verilen süt-kefiri, soyasütü ve soyasüt-kefiri ile serum triaçilgliserol ve total kolesterol konsantrasyonlarında düşmeye eğilim, özellikle serum non-HDL kolesterol fraksiyonlarında düşme ve karaciğerde kolesterol akümülyasyonunda azalma olduğu

nu göstermişlerdir. Soyasütü-kefiri verilen grupta diğer iki diyetle kıyaslandığında nöral sterollerin ve safra asidlerinin fekal atılımında önemli artış olduğu, serum non-HDL/HDL kolesterol oranının önemli oranda azaldığını bildirmişlerdir (56).

Kefir tüketiminin plazma lipid düzeylerinde ve kolesterol fraksiyonel sentez oranlarında (FSR) değişikliğine neden olup olmadığının araştırıldığı bir insan çalışmasında St-Onge ve ark. 13 birey çalışmaya dahil ederek, 4 hafta boyunca günlük olarak bu kişilerin 7 tanesine kefir, 6 tanesine ise süt (besin değerleri aynı) vermişler. Daha sonra 4 haftalık “washout” periyodundan sonra gruplar diğer içeceklerle değiştirilmiş. Çalışmanın sonucunda ne kefir grubunda, ne de süt grubunda serum total-kolesterol, LDL, HDL ve trigiliserid konsantrasyonlarında değişiklik saptanmamış. Benzer şekilde kolesterol fraksiyonel sentez oranlarında fark bulunmamış. Ayrıca serum yağ asidi düzeyleri her 2 grupta da çalışma boyunca sabit kalmış. Hem süt hem de kefir grubunda fekal SCFA (kısa zincirli yağ asidi) artış göstermekle beraber bu artış istatistiksel öneme ulaşmamış (57). Lactobacilli ve Streptococci gibi çeşitli bakteriyel suşların erkeklerde serum kolesterol düzeyini azalttığı gösterilmiştir (58,59). Kolonik bakterilerce kolesterol konsantrasyonlarının değiştirilmesinin bir mekanizması safra asidi dekonjugasyonudur. Bunların fekal materyallerle atılması, de novo safra asidi sentezi için kolesterol kullanımının artması ile sonuçlanır. Kefirin kolesterol düşürücü etkisinin gösterilememesi, kolonik bakteriyel içerikte yeterli artış sağlayamaması olabilir. Bu çalışmada kullanılan kefir 109 CFU içermekteymiş. Saxelin ve ark. kolonizasyon sağlamak için 1011 bakteriyel konsantrasyonun gerektiğini rapor etmişlerdir (60). Kolonik bakteriler ayrıca hipokolesterolemik etkilerini SCFA üretimi aracılığıyla gösterebilir. Kolonik propiyonat, asetatın (kolesterol sentezinin bir öncüsü) kolesterol-üretici etkisini inhibe eder. Bu nedenle barsak bakteriyel fermentasyonunun hipokolesterolemik etki gösterebilmesi için yeterli miktarda propiyonat üretimi olmalıdır. Bu çalışmada da kefirin plazma kolesterol konsantrasyonları üzerine düşürücü etkisinin gösterilememesi, yeterli propiyonik asit üretimini sağlayama-

miş olmamasına da bağlı olabilir. Bazı makalelerde Vujicic ve ark.’nın kefirin insanlarda kolesterol düşürücü etkisini gösterdiğine atıfta bulunulmuş olsa da bu makaleye ulaşmak mümkün olmamıştır (61). Kefirin serum lipidleri üzerindeki bu farklı etkileri kefir tanelerini oluşturan mikrobiyal içeriğin farklılığına bağlı olabilir. Laktik asit bakterilerinin farklı suşlarının serum kolesterol konsantrasyonları üzerine farklı etkileri olduğu bilinmektedir (62).

### Laktöz İntoleransı Üzerine Etkisi

Laktöz sindirim bozukluğu (maldigestion) dünyada erişkin popülasyonun yaklaşık %75’ini etkilemektedir. En sık olarak 3-5 yaşlarından sonra intestinal laktöz aktivitesinin genetik olarak programlı azalmasına bağlıdır. Eskiden beri fermente gıda ürünleri laktöz intoleransına karşı kullanılmaktadır. Örneğin yoğurdun laktöz sindirimini düzelttiği gösterilmiştir (63, 64). Bu durum yoğurt starter kültür bakterilerinde bulunan  $\beta$ -galaktosidaz enziminin varlığıyla ilişkili gözükmemektedir. Kefir starter kültürlerinde yoğurttan daha fazla ve farklı türlerde mikroorganizma içermektedir. Kefirin laktöz sindirimi üzerine yapılmış kısıtlı çalışma vardır. De Vrese ve ark.’nın 10 “minipig” üzerinde yaptıkları bir çalışmada, deneklere taze veya ısı-uygulanan (heat-treated) kefir taneleri inokule edilmiş kefir vererek, plazma venöz galaktöz konsantrasyonlarını ölçerek mikrobiyal  $\beta$ -galaktosidaz aktivitesini değerlendirmişler. Taze kefir tanesi kullanılan grupta ortalama postprandiyal plazma galaktöz piki ve AUC değerlerinin sırasıyla %30 ve %23 arttığını bildirmişlerdir (65). Bu çalışmada ayrıca laktözla besleme ile intestinal  $\beta$ -galaktosidaz aktivitesinin veya intestinal laktöz-hidrolyze eden bakterilerin indüklenmediği rapor edilmiştir. Hertzler ve ark.’nın laktöz sindirim bozukluğu olan 15 sağlıklı gönüllüde yaptıkları ve laktöz sindirimini hidrojen nefes testiyle değerlendirdikleri çalışmada, olgular laktöz miktarı aynı olan (20 gr) süt, düz yoğurt, tatlandırılmış (flavored) yoğurt, düz kefir, tatlandırılmış kefir olmak üzere 5 tedavi grubuna ayrılmış (çalışmada kullanılan kefirin içerdiği mikroorganizmalar; Streptococcus lactis, Lactobacillus plantarum, Streptococcus cremoris, Lactobacillus casei, Streptococcus diacetylactis, Saccharomyces florenti-



nus, and *Leuconostoc cremoris*). Çalışma sonucunda düz yoğurt, tatlandırılmış yoğurt ve düz kefirin süte göre laktoz sindirimini düzelttiği gösterilmiştir. Tatlandırılmış kefir ile süt arasında nefes hidrojen AUC değerleri arasında ise istatistiksel fark bulunmamıştır. Bu durum laktoz sindiriminin bozulmasından ziyade muhtemelen tatlandırma amacıyla kullanılan tatlandırıcıların veya meyvenin fermente edilebilir karbonhidrat oluşturmaya bağlanmıştır (66).

### Sonuç

Kefir özellikle Sovyet ülkelerinde kronik hastalık risklerini azaltmak için yaygın şekilde önerilmektedir.

### KAYNAKLAR

1. Gorski D. Kefir: 21st century yogurt? *Dairy Foods* 1994; 95: 49.
2. Marquina D, Santos A, Corpas I et al. Dietary influence of kefir on microbial activities in the mouse bowel. *Lett Appl Microbiol*. 2002; 35: 136-40.
3. Libudzisz Z, Piatkiewicz A. Kefir production in Poland. *Dairy Ind. Int.* 1990; 55, 31-3.
4. Micheli L, Uccelletti D, Palleschi C, et al. Isolation and characterization of a novel *Lactobacillus* strain producing the exopolysaccharide kefiran. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1999; 53: 69-74.
5. Mitsue T, Tachibana K, Fujii Y. Efficient kefir production by a mixed culture of *Lactobacillus kefirifaciens* KF - 75 and yeast strains. *Seibutsu - Kogaku Kaishi* 1999;77:99 - 103.
6. Pintado M, Lopez da Silva J, Fernandes P. et al. Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. *Int J Food Sci Technol* 1996; 31: 15 - 26.
7. Takizawa S, Kojima S, Tamura S. et al. *Lactobacillus kefirgranum* sp. nov. and *Lactobacillus parakefir* sp. nov., two new species from kefir grains. *Int J Syst Bacteriol* 1994;44:435- 439.
8. Yokoi H, Watanabe T, Fujii Y. et al. Isolation and characterization of polysaccharide - producing bacteria from kefir grains. *J Dairy Sci* 1990;73: 1684-1689.
9. Yoshida T, Toyoshima K. Lactic acid bacteria and yeast from kefir. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 1999; 47: 55- 59.
10. Thoreux K, Schmucker DL. Kefir milk enhances intestinal immunity in young but not old rats. *J Nutr*. 2001;131:807-12.
11. Vancanney M, Mengaud J, Cleenwerck I. et al. Reclassification of *Lactobacillus kefirgranum* Takizawa et al. 1994 as *Lactobacillus kefirifaciens* subsp. *kefirgranum* subsp. nov. and emended description of *L. kefirifaciens* Fujisawa et al. 1988. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004;54:551-6.
12. Cheirsilp B, Shimizu H, Shioya S. Enhanced kefir production by mixed culture of *Lactobacillus kefirifaciens* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biotechnol*. 2003;100:43-53.
13. Simova E, Beshkova D, Angelov A. et al. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2002;28:1-6.
14. Duitschaever C, Kemp N, Smith A. Microscopic studies of the microflora of kefir grains and kefir made by different methods. *Milchwissenschaft* 1988; 43: 479- 481.
15. Neve H. analysis of kefir grain starter cultures by scanning electron microscopy. *Milchwissenschaft* 1992; 47: 275- 278.
16. Hosono A, Tanabe T, Otani H. Binding properties of lactic acid bacteria isolated from kefir milk with mutagenic amino acid pyrolyzates. *Milchwissenschaft* 1990; 45: 647- 651.
17. Rossi J, Gobetti M. Use of a multi -component starter for continuous manufacture of kefir. *Ann Microbiol Enzimol* 1991; 41:223-226.
18. Yuksekdogan ZN, Beyath Y, Aslim B. Metabolic activities of *Lactobacillus* spp. strains isolated from kefir. *Nahrung*. 2004;48:218-20.
19. Angulo L, Lopez E, Lema C. Microflora present in kefir grains of the Galician region ( North -West of Spain ) . *J Dairy Res* 1993;60:263- 267.
20. Koroleva N. Starters for fermented milks. Section 4: Kefir and kumis starters. *Bull IDF* 1988; 227: 35-40.
21. Kwon CS. Identification of effective microorganism from kefir fermented milk. *Food Sci Biotech* 2003;12:476-79.
22. Oberman H, Libudzisz Z. Fermented milks In *Microbiology of Fermented Foods*. 1998, 2nd edition pp. 308-350 (Ed. BJB Wood). London:Blackie Academic & Professional.
23. Figler M, Mozsik G, Schaffer B. et al. Effect of special Hungarian probiotic kefir on faecal microflora. *World J Gastroenterol*. 2006;12:1129-32.
24. Cevikbas A, Yemni E, Ezzedenn FW, Yardimci T. Antitumoral, antibacterial and antifungal activities of kefir and kefir grain. *Phytotherapy Research* 1994; 8, 78-82.
25. Zacconi C, Parisi MG, Sarra PG, Dallavalle P, Bottazzi V. Competitive exclusion of *Salmonella kedougou* in kefir fed chicks. *Microbiology, Aliments and Nutrition* 1995; 12, 387-390.
26. Lopitz-Otsoa F, Rementeria A, Elguezal N et al. Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. *Rev Iberoam Micol*. 2006;23:67-74.

27. Rodrigues KL, Caputo LR, Carvalho JC. et al. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;25:404-8.
28. Santos A, San Mauro M, Sanchez A. et al. The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir. *Syst Appl Microbiol*. 2003;26:434-7.
29. Anselmo RJ et al. Effect of kefir bactericide on *Salmonella* spp. *Informacion Technologica* 2001;12:91-95.
30. Takahashi F, Kawakami H. Antibacterial action of kefir against *E.coli* O157:H7. *Jpn J Food Microbiol* 1999;16:245-247.
31. Vinderola CG, Duarte J, Thangavel D. et al. Immunomodulating capacity of kefir. *J Dairy Res*. 2005;72:195-202.
32. Farnworth ER, Mainville I. Kefir: a fermented milk product. In *Handbook of Fermented Functional Foods*, 2003. pp 77-112. Florida: CRC Press.
33. Vinderola CG, Duarte J, Thangavel D. et al. Remote-site stimulation and duration of the immune response by kefir. *European Journal of Inflammation* 2005;3:63-73.
34. Vinderola G, Perdigon G, Duarte J. et al. Effects of kefir fractions on innate immunity. *Immunobiology*. 2006;211:149-56.
35. Osada K, Nagira K, Teruya K. et al. Enhancement of interferon-beta production with sphingomyelin from fermented milk. *Biotherapy*. 1993-1994;7:115-23.
36. de Moreno de LeBlanc A, Matar C. et al. Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir. *Cytokine*. 2006;34:1-8.
37. Shiomi M, Sasaki K, Murofushi M, Aibara K. Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from Kefir grain. *Jpn J Med Sci Biol*. 1982;35:75-80.
38. de Moreno de LeBlanc A, Matar C, Farnworth E, Perdigon G. Study of immune cells involved in the antitumor effect of kefir in a murine breast cancer model. *J Dairy Sci*. 2007;90:1920-8.
39. Furukawa N, Matsuoka A, Takahashi T et al. Anti-metastatic effect of kefir grain components on Lewis lung carcinoma and highly metastatic B16 melanoma in mice. *J Agric Sci Tokyo* 2000;45:62-70.
40. Hiastan-Ribic C, Cerar A, Pokorn D. et al. Effects of kefir containing various levels of fat on chemically induced colorectal epithelial tumors in Wistar rats. *Nutr Res* 2005;25:55-63.
41. Matsuu M, Shichijo K, Okaichi K. et al. The protective effect of fermented milk kefir on radiation-induced apoptosis in colonic crypt cells of rats. *J Radiat Res (Tokyo)*. 2003;44:111-5.
42. Nagira T, Narisawa J, Teruya K. et al. Suppression of apoptosis in UV-damaged human melanoma cells kefir was mediated through the inhibition of caspase-3 activation. by a fermented milk, Kefir. In: *Animal Cell Technology: Products from Cells, Cells as Products*, Eds. A. Bernard et al. 1999, pp. 437-439, Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
43. Henriksson R, Franzén L, Sandström K. et al. Effects of active addition of bacterial cultures in fermented milk to patients with chronic bowel discomfort following irradiation. *Support Care Cancer* 1995; 3:81-83.
44. Umeda C, Sonoyama K, Yamaguchi N. et al. Oral administration of freeze-dried kefir reduces intestinal permeation of and oral sensitization to ovalbumin in mice. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2005;69:249-51.
45. Lin MY, ChangeFJ. 2000: Antioxidative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. *Dig Dis Sci* 2000;45:1617-1622.
46. Hoolihan LK. Prophylactic and therapeutic use of probiotics: a review. *J Am Diet Assoc* 2001;101:220-238.
47. Guven A, Guven A, Gulmez M. The effect of kefir on the activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissues. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 2003;50:412-6.
48. Liu JR, Chen MJ, Lin CW. Antimutagenic and antioxidant properties of milk-kefir and soymilk-kefir. *J Agric Food Chem*. 2005;53:2467-74.
49. Matar C, Nadathur SS, Bakalinsky AT. et al. Antimutagenic effects of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* L89 and a protease-deficient derivative. *J Dairy Sci* 1997;80:1965-1970.
50. Lin CW, Chen CL, Liu JR. Identification and characterization of lactic acid bacteria and yeasts isolated from kefir grains in Taiwan. *Aust J Dairy Technol* 1999;54:14-18.
51. Rodrigues KL, Carvalho JC, Schneedorf JM. Anti-inflammatory properties of kefir and its polysaccharide extract. *Inflammopharmacology*. 2005;13:485-92.
52. Kabayama S, Osada K, Tachibana H. et al. Enhancing effects of food components on the production of interferon  $\beta$  from animal cells suppressed by stress hormones. *Cytotechnology* 1997;3:119-125.
53. Maeda H, Zhu X, Suzuki S. et al. Structural characterization and biological activities of an exopolysaccharide kefir produced by *Lactobacillus kefirifaciens* WT-2B(T). *J Agric Food Chem*. 2004;52:5533-8.
54. Quiros A, Hernandez-Ledesma B, Ramos M. et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from caprine kefir. *J Dairy Sci*. 2005;88:3480-7.
55. Maeda H, Zhu X, Omura K. et al. Effects of an exopolysaccharide (kefir) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *Biofactors*. 2004;22:197-200.
56. Liu JR, Wang SY, Chen MJ. et al. Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soymilk-kefir in cholesterol-fed hamsters. *Br J Nutr*. 2006;95:939-46.
57. St-Onge MP, Farnworth ER, Savard T. et al. Kefir consumption does not alter plasma lipid levels or cholesterol fractional synthesis rates relative to milk in hyperlipidemic men: a randomized controlled trial. *BMC Complement Altern Med*. 2002;2:1.
58. Agerbaek M, Gerdes LU, Richelsen B. Hypocholesterolaemic effect of a new fermented milk product in healthy middle-aged men. *Eur J Clin Nutr*. 1995;49:346-52.
59. Bertolami MC, Faludi AA, Batlouni M. Evaluation of the effects of a new fermented milk product (Gaio) on primary hypercholesterolemia. *Eur J Clin Nutr*. 1999;53:97-101.
60. Saxelin M, Elo S, Salminen S, Vapaatalo J. Dose response colonisation of faeces after oral administration of *Lactobacillus casei* strain GG. *Am J Clin Nutr* 1991;59:929-934.
61. Vujcic IF, Vulic M, Könyves T. Assimilation of cholesterol in milk by kefir cultures. *Biotechnol Lett*. 1992;14:847-850.
62. Anderson JW, Gilliland SE. Effect of fermented milk (yogurt) containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *J Am Coll Nutr* 1999;18, 43-50.

- 
63. Pelletier X, Laure-Boussuge S, Donazzolo Y. Hydrogen excretion upon ingestion of dairy products in lactose-intolerant male subjects: Importance of the live flora. *Eur J Clin Nutr.* 2001;55:509-512.
  64. Savaiano DA, AbouElAnouar A, Smith DE, Levitt MD. Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactase-deficient individuals. *Am J Clin Nutr* 1984;40:1219-1223.
  65. De Vrese M, Keller B, Barth CA. Enhancement of intestinal hydrolysis of lactose by microbial  $\beta$ -galactosidase (EC 3.2.1.23) of kefir. *Br J Nutr* 1992;67:67-75.
  66. Hertzler SR, Clancy SM. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *J Am Diet Assoc* 2003;103:582-7.
  67. Koroleva NS. Technology of kefir and kumys. *Fed Int Laiterie Int Dairy Fed Bull* 1988;227:96-10.