

**PASTÖRİZE SÜTLERDE GHRELİN HORMONU
VE BAZI ANTİOKSİDANLARIN ZAMANA
BAĞLI
OLARAK İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hadice ULUS

Anabilim Dalı: Kimya

**Danışman: Prof. Dr. Fikret KARATAŞ
MAYIS - 2012**

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PASTÖRİZE SÜTLERDE GHRELİN HORMONU VE BAZI
ANTİOKSİDANLARIN ZAMANA BAĞLI
OLARAK İNCELENMESİ**

**PASTÖRİZE SÜTLERDE GHRELİN HORMONU
VE BAZI ANTİOKSİDANLARIN ZAMANA
BAĞLI
OLARAK İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hadice ULUS

Anabilim Dalı: Kimya

**Danışman: Prof. Dr. Fikret KARATAŞ
MAYIS - 2012**

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PASTÖRİZE SÜTLERDE GHRELİN HORMONU VE BAZI
ANTIÖKSİDANLARIN ZAMANA BAĞLI
OLARAK İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hadice ULUS

Enst. No: 08117104

Ana Bilim Dalı : Kimya

Programı : Biyokimya

Tezin Enstitüye Verildiği Tarihi : 9 Mayıs 2012

Tezin Savunulduğu Tarih : 24 Mayıs 2012

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Fikret KARATAŞ

Diğer Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Süleyman SERVİ

Doç. Dr. Süleyman AYDIN

MAYIS – 2012

ÖNSÖZ

Tezi planlanmasında, yürütülmesinde ve çalışmalarım her safhasında benden sabır ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Fikret KARATAŞ'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya anabilim dalından Sayın Doç. Dr. Süleyman AYDIN'a teşekkür ederim.

Bu çalışmada maddi desteğini esirgemeyen ve 1772 numaralı projeye destek olan FÜBAP'a teşekkür ederim.

Ayrıca tez aşamasında bana destek veren değerli eşim Mehmet Erol ULUS'a teşekkür ederim.

Hadice ULUS

ELAZIĞ - 2012

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	IV
SUMMARY	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
SEMBOLLERİN LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Sütün Tanımı	1
1.1.1. Süt Verimini Etkileyen Faktörler	1
1.1.2. İçme Sütü Teknolojisi	2
1.1.2.1. Pastörizasyon	2
1.1.2.2. Sterilizasyon	3
1.1.2.3. Kaynatma	4
1.1.3. Sütün Bileşimi	4
1.2. Ghrelin Hormonu	5
1.3. Vitaminler	7
1.3.1. A vitamini	8
1.3.2. E vitamini	9
1.3.3. C vitamini	9
2. MATERYAL VE METOT	11
2.1. Materyal	11
2.2. A ve E vitamini tayini	12
2.3. C vitamini tayini	13
2.4. Ghrelin hormonu tayini	14
3. BULGULAR	16
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	22
KAYNAKLAR	26
ÖZGEÇMİŞ	31

ÖZET

Süt ve süt ürünleri canlıların beslenmesinde en önemli gıda maddelerinin başında yer almaktadır. Bu çalışmada hem paket sütlerin raf ömrüne bağlı olarak, hemde taze çiğ süt ile kaynatılmış sütlerde antioksidan vitaminler (A, E ve C) ve ghrelin hormonu miktarlarındaki değişimleri belirlemek amacıyla, piyasada yaygın olarak tüketilen beş markaya ait sütler tercih edildi. Bu sütlerin üretim tarihinden itibaren 1'er aylık periyotlarla toplam 6 aylık süre için toplandı. Daha sonra A, E ve C vitamini ile açile ve desaçile ghrelin miktarları HPLC ile analiz edildi.

Sütlerin üretiminin 1. ayında en yüksek A, E, C vitamini ile açile ve desaçile ghrelin miktarları sırası ile $1,87\pm 0,25$ $\mu\text{g/mL}$; $1,79\pm 1,23$ $\mu\text{g/mL}$; $23,66\pm 2,25$ $\mu\text{g/mL}$; $5,84\pm 0,56$ pg/mL ; $220,27\pm 1,64$ pg/mL olduğu belirlendi.

Aynı şekilde sütlerin üretiminin 6. ayında en düşük A, E, C vitamini ile açile ve desaçile ghrelin miktarları sırası ile $0,33\pm 0,13$ $\mu\text{g/mL}$; $0,48\pm 0,03$ $\mu\text{g/mL}$; $13,05\pm 1,38$ $\mu\text{g/mL}$; $0,84\pm 0,14$ pg/mL ; $193,28\pm 1,86$ pg/mL olduğu gözlemlendi.

Taze çiğ sütün A, E, C vitamini ile açile ve desaçile ghrelin miktarları sırası ile $1,54\pm 0,38$ $\mu\text{g/mL}$; $3,58\pm 0,76$ $\mu\text{g/mL}$; $14,13\pm 1,34$ $\mu\text{g/mL}$; $5,06\pm 0,86$ pg/mL ; $226,11\pm 9,09$ pg/mL iken, taze kaynatılmış sütteki miktarlarının ise $0,97\pm 0,12$ $\mu\text{g/mL}$; $2,92\pm 0,71$ $\mu\text{g/mL}$; $6,88\pm 1,13$ $\mu\text{g/mL}$; $1,80\pm 0,37$ pg/mL ; $101,95\pm 6,19$ pg/mL olduğu belirlendi.

Bütün markaların paket sütlerindeki antioksidan vitaminler (A, E ve C) ile açile ve desaçile ghrelin hormonunun da her iki formunun da miktarlarının raf ömrüne bağlı olarak azaldığı belirlendi. Taze sütün vitamin ve ghrelin miktarları bakımında paket sütlere göre azda olsa yüksek olduğu, kaynatılmış sütlerde ise bu değerlerin daha düşük olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Süt, Ghrelin hormonu, A vitamini, E vitamini, C vitamini

SUMMARY

Investigation of Some Antioxidants and Ghreline Amount in Pasteurized Milk Based on Time Dependency

Milk and milk products are the most important food items for feeding of the living. In this study, five common different brands were analyzed and were investigated packaged milk depending on the shelf life, both fresh uncooked milk and boiled milk the amount of change of antioxidant vitamins and hormone ghreline. This milks were collected for a total period of 6 months with one-month periods beginning from date of manufacture. Later, amounts of A, E and C vitamins with acylated and desacylated forms of ghreline hormone were analyzed with HPLC.

The packaged milks were determined the highest amounts of A, E and C vitamins with acylated and desacylated forms of ghreline hormone respectively $1,87\pm 0,25$ $\mu\text{g/mL}$; $1,79\pm 1,23$ $\mu\text{g/mL}$; $23,66\pm 2,25$ $\mu\text{g/mL}$; $5,84\pm 0,56$ pg/mL ; $220,27\pm 1,64$ pg/mL in the first month of production. In the same way, that milks were observed the lowest amounts of A, E and C vitamins with acylated and desacylated forms of ghreline hormone respectively $1,87\pm 0,25$ $\mu\text{g/mL}$; $1,79\pm 1,23$ $\mu\text{g/mL}$; $23,66\pm 2,25$ $\mu\text{g/mL}$; $5,84\pm 0,56$ pg/mL ; $220,27\pm 1,64$ pg/mL in the sixth month of production.

The fresh uncooked milks were determined the amounts of A, E and C vitamins with acylated and desacylated forms of ghreline hormone respectively $1,54\pm 0,38$ $\mu\text{g/mL}$; $3,58\pm 0,76$ $\mu\text{g/mL}$; $14,13\pm 1,34$ $\mu\text{g/mL}$; $5,06\pm 0,86$ pg/mL ; $226,11\pm 9,09$ pg/mL while the boiled milks were determined respectively $0,97\pm 0,12$ $\mu\text{g/mL}$; $2,92\pm 0,71$ $\mu\text{g/mL}$; $6,88\pm 1,13$ $\mu\text{g/mL}$; $1,80\pm 0,37$ pg/mL ; $101,95\pm 6,19$ pg/mL .

In the packaged milks of all brands were determined to decrease over time amounts of A, E and C vitamins with acylated and desacylated forms of ghreline hormone depending on the shelf life of milk. It was observed that the fresh uncooked milks had higher amounts than the packaged milks in terms of the vitamin and ghreline hormone, while the the boiled milks had lower amounts.

Key Words : Milk, Ghreline hormone, Vitamin A, Vitamin E, Vitamin C

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Ghrelin Hormonun Ana Sentez Kaynakları ve Fizyolojik Etkileri	6
Şekil 1.2. Rat, insan ve domuz ghrelinin yapısı	7
Şekil 2.1. A vitaminin çalışma grafiği	13
Şekil 2.2. E vitaminin çalışma grafiği.....	13
Şekil 2.3. C vitaminin çalışma grafiği	14
Şekil 2.4. Açile ghrelinin çalışma grafiği	15
Şekil 2.5. Desaçile ghrelinin çalışma grafiği.....	15
Şekil 3.1. Markalara ait sütlerin 1.ve 6.aylar arasındaki A vitamini miktarlarının değişim grafiği	18
Şekil 3.2. Markalara ait sütlerin 1.ve 6.aylar arasındaki E vitamini miktarlarının değişim grafiği	19
Şekil 3.3. Markalara ait sütlerin 1.ve 6.aylar arasındaki C vitamini miktarlarının değişim grafiği	19
Şekil 3.4. Markalara ait sütlerin 1.ve 6.aylar arasındaki açile ghrelin miktarlarının değişim grafiği	20
Şekil 3.5. Markalara ait sütlerin 1.ve 6.aylar arasındaki desaçile ghrelin miktarlarının değişim grafiği	20
Şekil 3.6. Taze çiğ süt ile kaynatılmış sütteki A, E, C vitaminleri, açile ve desaçile ghrelinin değişim grafiği	21

TABLULAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1. 1. Markaya ait sütlerin aylara göre A, E, C vitaminleri ve ghrelin miktarları	16
Tablo 3.2. 2. Markaya ait sütlerin aylara göre A, E, C vitaminleri ve ghrelin miktarları	16
Tablo 3.3. 3. Markaya ait sütlerin aylara göre A, E, C vitaminleri ve ghrelin miktarları	17
Tablo 3.4. 4. Markaya ait sütlerin aylara göre A, E, C vitaminleri ve ghrelin miktarları	17
Tablo 3.5. 5. Markaya ait sütlerin aylara göre A, E, C vitaminleri ve ghrelin miktarları	18
Tablo 3.6. Taze iğ süt ile kaynatılmış sütteki A, E, C vitaminleri ile ghrelin miktarları	21

SEMBOLLERİN LİSTESİ

GH	: Büyüme hormonu
GHS	: Büyüme hormonu salgılatıcıları
GAH	: Ghrelin hormonu
Ghr	: Ghrelin hormonu
a GAH	: Aktif ghrelin hormonu
dGAH	: İnaktif ghrelin hormonu
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
mRNA	: Mesajcı RNA
HClO₄	: Perklorik asit
NaClO₄	: Sodyum perklorat
KH₂PO₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
H₃PO₄	: Fosforik asit
H₂O	: Su
FÜBAP	: Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi
ppm	: µg/mL (milyonda bir)
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
LDPE	: Low Density Polyethylene
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
WHO	: World Health Organization
UNICEF	: United Nations Children's Fund

1. GİRİŞ

İnsan yaşamının bütün evrelerinde süt gerekli bir besindir [1]. Yeni doğan canlının sağlıklı büyüüp gelişebilmesi için, yeterli miktarda süt ile beslenmesi gerekmektedir [2]. Süt ve süttten oluşan ürünlerde mineraller (kalsiyum ve fosfor gibi) başta olmak üzere, protein ve riboflavin gibi B grubu vitaminlerinin kaynağı olduğu tespit edilmiştir. Süt proteinleri vücutta büyüme ve gelişmeyi sağladığı, doku farklılaşmalarında etkin rol aldığı yanı sıra; kalsiyum emilimi ve immün fonksiyonlar üzerine pozitif etkilerinin olduğu, kan basıncını ve vücut ağırlığının kontrolünde etkin olduğu ve diş çürüklerine karşı koruyucu özelliği olduğu bilinmektedir [3, 4].

Anne sütü, içeriği yeni doğanın gereksinimlerine göre değişmesi, enfeksiyonlara karşı koruyucu özellik taşıması, ekonomik olması açısından iyi bir besin kaynağıdır [2]. Anne sütünün sindirimi kolay, her an taze ve temiz olmasının yanında basit bir yöntem olması da tercih sebepleri arasında olmalıdır. Doğadaki bütün memelilerin sütleri, kendi yavruları için iyi bir besin kaynağıdır [3]. Bunun yanı sıra manda, koyun, keçi, inek, deve gibi birçok hayvanın sütü insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Sütteki besin maddelerinin içeriği elde edildiği hayvan türüne göre çeşitlilik göstermektedir. İnek sütünün % 88'i su olup, 100'den farklı bileşen içermektedir. Süt ve süttten elde edilen ürünlerde; protein, kalsiyum, fosfor, A vitamini ve bazı B vitaminleri açısından iyi bir kaynaktırlar [5].

1.1. Sütün Tanımı

Dişi memeli hayvanların dünyaya getirdikleri yavrularını beslemek amacıyla, süt bezlerinden hayvan türlerine göre değişik sürelerde salgılanan ve içerik olarak yavrunun kendi kendisini besleyecek duruma gelinceye kadar bütün ihtiyaçlarını karşılayan, beyaz-krem renkli kendine has bir kokusu ve tadı olan bir sıvıdır. Süt besleyici, koruyucu özelliklerini barındıran temel bir besin maddesidir [6].

1.1.1. Süt Verimini Etkileyen Faktörler

Sütün kimyasal içeriği çeşitli teknolojik işlemler ve depolama sonucu değişikliğe uğramaktadır. Sağımdan önce ve sonra çiğ sütün bileşimin etkileyen faktörler aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- Hayvanın yaşı
- Hayvanın ırkı
- Hayvanın sağlık durumu
- Mevsimsel değişim
- Yem
- Sağım zamanı ve sağım şekli
- Psikolojik durum ve bakım süresi

Bunların yanı sıra hayvanın gebelik durumu, kızgınlık durumu da süt üzerinde belli oranlarda etkiye sahiptir [6, 7].

1.1.2. İçme Sütü Teknolojisi

İnsan beslenmesinde çok önemli bir yere sahip olan süt, hijyenik koşullarda üretilmediği, saklanmadığı, işlenmediği, takdirde ve gerekli kontrollerinin yapılmadığı durumlarda insan sağlığı açısından zararlı hale dönüşebilmektedir [8]. Herhangi bir işleme tabi olmamış çiğ sütte olası bakteri mikroorganizmalarını yok edebilmek ve bu işlem sonrası besin değerini koruyabilmek için dünya standartlarında kabul gören ısıll işlemler (pastörizasyon ve UHT gibi teknikler) uygulanmaktadır [1].

Böylece sütün besin değerini büyük oranda korurken içerisinde bulunabilecek bakteri mikroorganizmalarının yok olması sağlanmış olacaktır. Bunun sonucunda sütün kullanım süresine göre uygulanacak ısıll işlem çeşitli seçenekler barındırmaktadır. Bu seçenekler arasında sütün doğal özelliğinde deformasyona yol açmayacak ve kullanım amacına uygun bir yöntem tercih edilmelidir. Bu belirtilen amaçlara uygun olmak üzere, süt teknolojisinde uygulanan yöntemler çok değişken olmakla birlikte en çok tercih edilen üç işlem açıklanacaktır [9].

1.1.2.1. Pastörizasyon

Pastörizasyon, sütün biyolojik ve tabi özelliklerine zarar vermeden hastalık meydana getiren mikroorganizmaların tamamını ve diğer mikroorganizmaların ise büyük bir çoğunluğunu sıcaklıkla yok edilerek daha sonra soğutulması işlemidir. Bu

işlem 1860-1864 yılları arasında ilk defa bir Fransız araştırmacı olan Pasteur tarafından şarap için uygulanmıştır. Daha sonraki yıllarda (1873-1886) ise süt içinde uygulanmış ve olumlu sonuçlar alınmış olup, günümüze kadar hala tercih edilmektedir [8, 9].

Pastörizasyon süte 100°C altında uygulanan işlemler olarak açıklanmaktadır [7]. Pastörize edilmiş sütte bakteri mikroorganizmaları tamamen yok edilmiştir ancak diğer organizmaların ise büyük bir kısmının yok edilmesi için yapılan bir tekniktir [1].

Bu nedenle pastörizasyon sonrası sütteki canlı sayısında % 95 bir azalma gözlemlenmiştir. Canlı sayısı tamamen yok edilemediğinden bu sütlerin raf ömürleri 2-3 gün ile sınırlandırılmaktadır. Uluslararası normlarda kabul gören farklı biçimlerde pastörizasyon teknikleri uygulanmaktadır. Türkiye de ise 12-16 saniye süre ile 72-80°C'lik ısı uygulanması yapılmaktadır [1].

1.1.2.2. Sterilizasyon

Sterilizasyon süte 100°C üstünde uygulanan işlemler olarak açıklanmaktadır. Sterilize edilmiş sütte bakteri mikroorganizmaları tamamen yok edildiği gibi hastalık yapıcı diğer bütün mikroorganizmalarda % 100 bir başarıyla yok edilmiştir [9]. Mikropsuz şartlar altında steril ambalaj malzemesiyle paketlenerek raf ömrü 4 ay gibi uzun bir süreye çıkabilmektedir [1].

Bu şekilde hazırlanan süte "Uzun Ömürlü Taze Süt" ya da UHT denilmektedir. UHT yöntemiyle elde edilen süt LDPE (Low density polyethylene) / karton / alüminyum folyo kombinasyonundan oluşan plastik şişelerde muhafaza edilmektedir [9]. UHT yöntemi için iki farklı teknik kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi; direkt UHT yöntemi, ikincisi ise indirekt UHT yöntemidir. Direkt UHT yöntemi; süütün buharla (ısı aktarımıyla) doğrudan karşılaşması sağlanır. İndirekt UHT yönteminde ise hem borulu hemde plakalı ısı aktarıcılıyla karşılaşmaktadır [9]. UHT tekniği farklı biçimlerde yapılmasıyla birlikte, Türkiye'de 2-6 saniye süre ile 135-145°C'lik ısı uygulaması ile yapılmaktadır [1].

1.1.2.3. Kaynatma

Süt için uygulanan diğerk bir ısıl işlem ise evlerimizde, dışarıdan aldığımız çiğ sütleri herhangi bir işleme maruz bırakmadan direkt kaynatma sürecidir. Kaynatma işlemi ise sütün içerisinde bulunan mikroorganizmaları yok etmek için 15-20 dakika kadar ateş üzerinde bekletmektir. Kaynatma süresinin uzunluğu, ısının yüksek oluşu ve sürekli hava ile temas söz konusu olduğu düşünülecek olursa bu yöntemin sütün besin değerinde oldukça yüksek miktarlarda kayıplara neden olacağı bir gerçektir [10]. Bu kayıplar kaynatılma süresine bağlı olarak pastörizasyon işleminden daha fazla olmaktadır. Süt içerisinde bulunan ve ısıya karşı oldukça hassas vitaminlerin (C vitamini, B1, B6, B12 ve folik asit) kayıp yüzdeleri diğerk maddeler göre daha fazladır [11].

Isıl işlem görmemiş ve bu yüzden sağlık açısından güvenli olmayan sokakta satılan sütlerin tüketim oranı Türkiye de % 50 civarındadır. Bu sütlerin tercih edilme nedenlerinin başında büyüklerimizden kalma alışkanlıklar ve tabii ki fiyat gelmektedir. Ancak çok değerli bir besin olan süt mikroorganizma açısından da iyi bir besi yeridir bu nedenle hastalıklara da kapı aralamaktadır [12]. Canlıların doğumdan sonra hayatın ilk aşamasında önemli bir besin olan anne sütü gayet sterildir. Bu nedenle anne sütü ile beslenen yavru kansızlık, kabızlık gibi problemlere maruz kalmazken anne sütünün her an taze, steril ve hazır olması gibi avantajlara da sahip olmaktadır [12].

1.1.3. Sütün Bileşimi

Sütün içerisindeki bütün bileşenler bugünkü analiz yöntemleriyle tespit edilmektedir. Memeden sağılan sütte 200 civarında madde tespit edilmiştir. Bu 200 maddeden bir kısmı ana besin maddeleridir, geriye kalanı da daha az miktarda bulunan minör bileşenlerdir [6].

Sütün bileşimi dışarının etkisiyle değişmektedir. Bu bileşimi su ve kuru madde olarak iki kısımda inceleyebiliriz. Su canlının tüketimi ile orantılı olarak değişirken, kuru madde miktarı ise aldığı yemle değişiklikler göstermektedir. Kuru madde denildiği

zaman ise, sütün ana besin öğeleri, yağın dışındaki süt şekeri (laktoz), azotlu maddeler, mineral maddeler ve sütün diğer bileşenleri anlaşılır [13].

Laktoz (süt şekeri) doğada yüksek oranda sütte bulunur ve iyi bir enerji kaynağıdır. Laktoz vücudumuz için gerekli olan A, D, E, K vitaminlerinin iletimini sağlar. Sütteki vitaminlere en iyi örnek B₂ vitamini verilebilir ancak diğer B vitamini türevleri ve C vitamini de eser miktarda bulunmaktadır. Mineral madde olarak da fosfor ve kalsiyum vücut için önemli bir rol oynar. Süt proteinleri ise büyüme ve gelişmeyi sağlamaktadır. Büyüme hormonu olarak ghrelin hormonu sütte az da olsa bulunmaktadır [13].

1.2. Ghrelin Hormonu

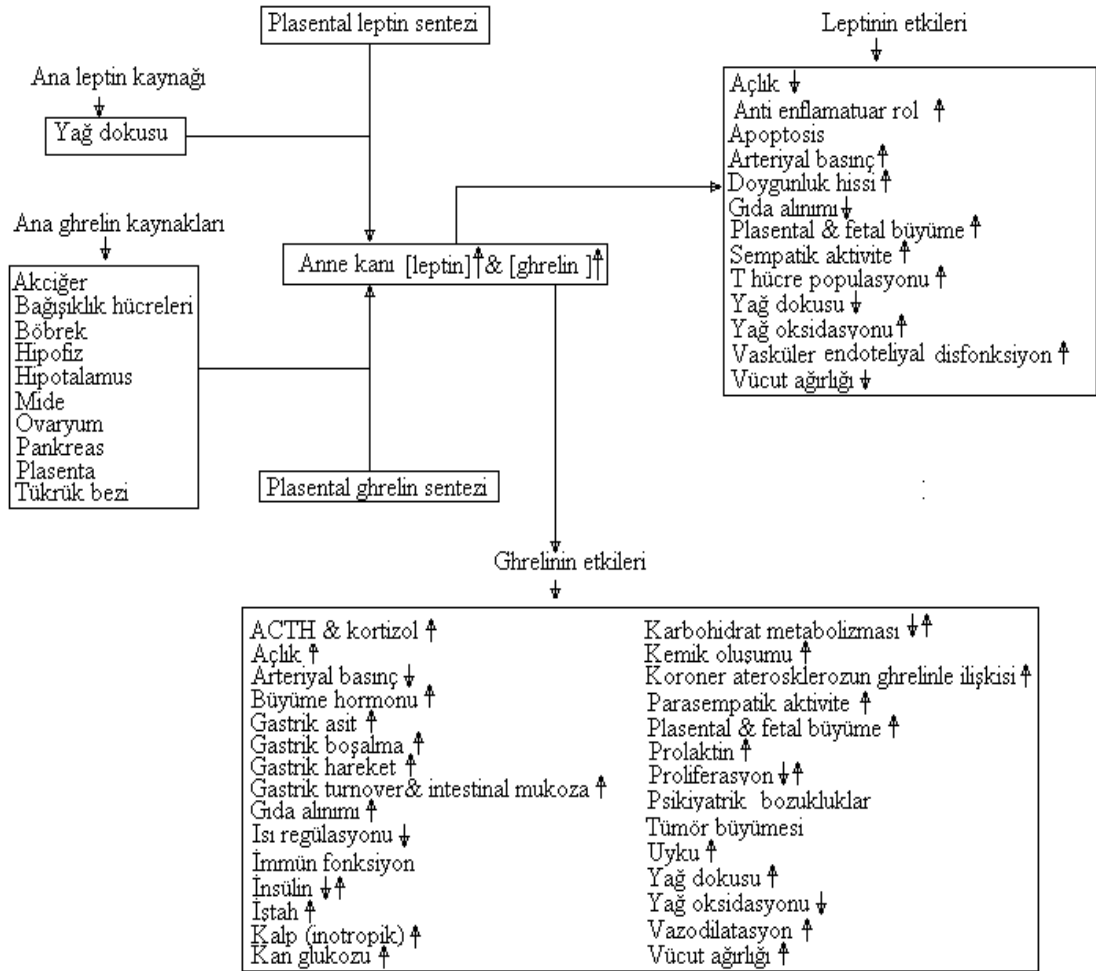
Ghrelin, büyüme hormonu salgılatıcı etkisi olan ve besin alınımının düzenlenmesinde rol oynayan 28 aminoasitli bir peptid hormonudur [14]. Yeme davranışı ve vücut ağırlığının ayarlanmasında görev almaktadır [15]. İlk üç ay anne sütü ile beslenen bebeklerde hızlı bir büyüme ve daha sonra obezite'ye karşı koruyucu bir faktör olarak ghrelin hormonu karşımıza çıkmaktadır. Ancak mama ile beslenen bebeklerde ise bu koruyucu etkinin var olmadığı gözlemlenmiştir ve bu nedenle obezite'ye yatkınlık daha fazladır [16].

Bu peptidin sentez yeri midedir [17]. Mide dışında bağırsak, yanak mukozası, özefagus, hipofiz, tiroid, lenf düğümü, lenfositler, akciğer, karaciğer, safra kesesi, pankreas, kalp, dalak, testis, prostat, ovaryum ve plasenta dokularında da bulunmaktadır [18] (Şekil 1.1.). Bir yağ asidi tarafından aktifliğinin değiştirilebilmesi özelliğiyle de ayrı bir önem kazanmaktadır. Ghrelin hormonu N – terminal ucundaki 3. amino asit olan serine bağlı oktanil grubu adı verilen 8 karbonlu bir yağ asidi içermektedir. Bu oktanil grubunu içerip veya içermemesiyle ghrelin hormonun açıl ve desaçil formları ortaya çıkmaktadır. Desaçile formu yağ asidi içermeyen inaktif ghrelin, açile formu ise yağ asidi içeren aktif ghrelin hormonu olarak açıklanmaktadır [19-21] (Şekil 1. 2).

Vücuda alınan orta zincirli yağ asitlerinin (örneğin n-heptanoil, gliserol triheptanoate, vs.) ghrelinin açil modifikasyonunda kullanıldığı rapor edilmektedir. Ayrıca ghrelinin

3. threnonin aminoasidine n-oktanoik asit yada n-dekanoik asidin de bağlı olabileceğini belirtmektedir [22, 23]

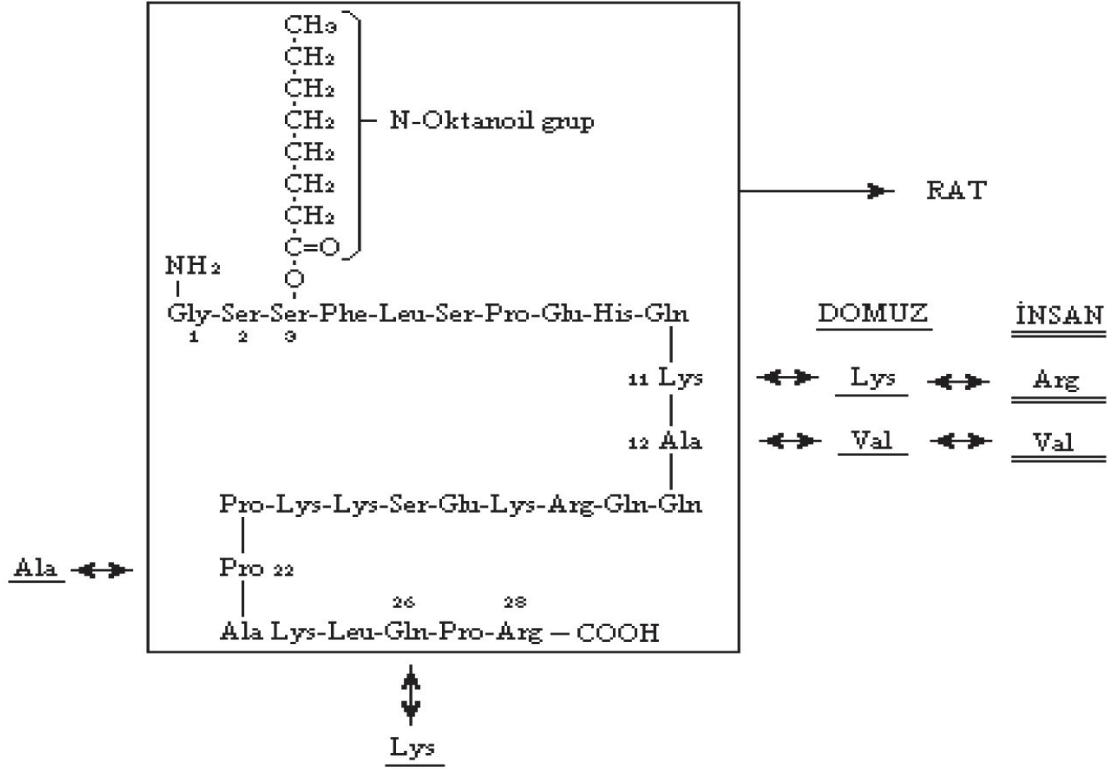
Diğer yandan ghrelin hormonunun hem *in vivo* hemde *in vitro* koşullarda antioksidan özellik gösterdiği de kanıtlanmıştır [24].



şekil 1.1. Ghrelin hormonunun ana sentez kaynakları ve fizyolojik etkileri

Beslenme ghrelin salınımının kontrolünde önemli bir yer tutmaktadır [19, 25]. Uzun süren bir açlıkta ghrelin düzeyi düşerken, besin alınımıyla ghrelin seviyesi tekrar normal düzeyine ulaşır. Bu yüzden ağız veya damar yolu ile glikoz takviyesi tokluk hissi yaratacağında ghrelin seviyesini düşürür [26, 27]. Ghrelin hormonunun yapısal

olarak insan ve faredeki farkı ise yalnızca iki aminoasit kalıntısından kaynaklanmaktadır [19] (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Rat, insan ve domuz ghrelinin yapısı

1.3. Vitaminler

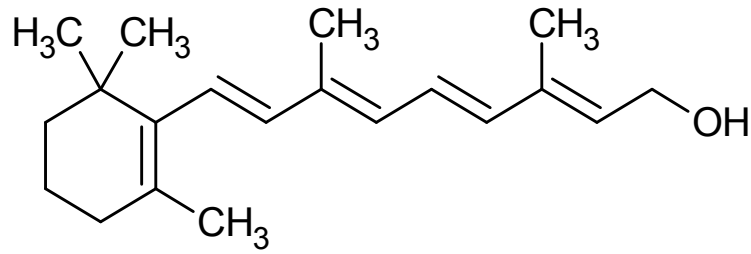
Vitaminler, insan tarafından sentezlenemeyen ve sağlıklı olmak için vücuda alınması gereken diyetdeki küçük organik moleküllerdir. Vitaminler, suda çözünenler ve yağda çözünenler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Suda çözünenler; vitamin C, vitamin H, folik asit ve vitamin B türevleridir. Yağda çözünenler ise A, D, E, K vitaminleridir [28].

Yaşam için gerekli olan vitaminlerin hemen tümü sütte bulunmaktadır. Sütteki bu vitaminlerin bazıları vücut için yeterli olmayabilir, bu yüzden başka gıda alımı ile yeterli miktarlara ulaşılabilir. Yukarıda bahsettiğimiz gibi vitaminler sütte iki şekilde bulunurlar, yağda çözünenler yoğun olarak tereyağı, krema ve süt yağı gibi ürünlerde

bulunurken, suda çözünen vitaminler ise yağı alınmış taze sütte daha yoğun olarak bulunurlar [29].

Sütte uygulanan ısı işlem, sıcaklık derecesi ve süresine göre vitaminlerde tahribata yol açabilir. Pastörizasyon işleminde vitamin kaybı az iken, üstü açık ev usulü kaynatmalarda vitamin (vitamin B türevleri, vitamin C) kaybı bir hayli fazla olmaktadır. UHT tekniği uygulanmış sütte ise vitamin kaybı belli oranlarda mevcuttur [13].

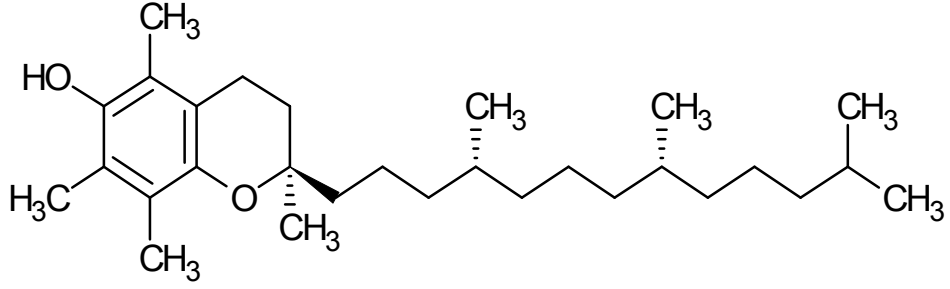
1.3.1. A vitamini



A vitamini retinol olarak bilinen bir alkoldür, 11-cis veya tüm-trans izomeri halinde bulunur. Vitamin A başlıca karaciğerde ve özellikle balık karaciğer yağında bulunur.

A vitaminin öncülü olan β -karoten, havuç ve diğer bitki dokularında bulunan turuncu renkli bir pigmenttir. A vitaminin biyolojik etkisine sahiptir ve bitkisel gıdalarda bulunan A vitamini öncülüdür [30]. Suda çözünmez, yağda çözünen bir vitamindir. İçerdiği konjuge çift bağlardan dolayı ışık, oksijen ve asitlere karşı oldukça dayanıksızdır. Bu parametreler devre dışı kaldığında ısıya karşı oldukça dayanıklıdır [30]. Vitamin A yoğun olarak krema, tereyağı ve yağlı peynirde bulunmaktadır [13]. Eksikliğinde epitel tabakasının bozulmasına, gece körlüğüne ve enfeksiyonlara karşı genel bir dayanıksızlık oluştururlar [1].

1.3.2. E vitamini



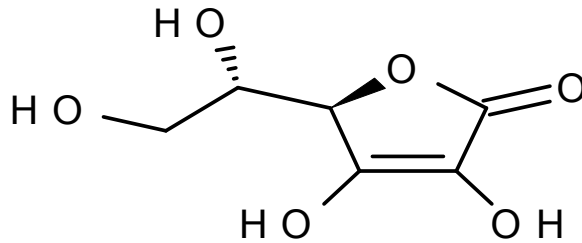
E vitamini tokoferol yapısında olup, yağda çözünen bir vitamindir. Doğal olarak alfa, beta, gama, eta ve zeta gibi çeşitli tokoferoller bulunmaktadır. E vitamini bitkisel yağlarda bol miktarda bulunmaktadır. Karaciğer ve yumurta orta derecede E vitamini içerir. α -tokoferol için önerilen günlük gereksinim erkeklerde 10 mg, kadınlarda 8 mg'dır [30].

E vitamini ısıya karşı dayanıklıdır ancak ışık ve oksijenin var olduğu bir ortamda ısı karşısında da dayanıklılığını kaybeder. E vitamini süt ve yoğurttan elde edilen gıda maddelerinde antioksidan görevini üstlenmektedir. Raf ömrünü uzatmak için tereyağlarına E vitamini katılmaktadır [13].

E vitamini eksikliği erken doğan bebeklere özgüdür. Yetişkinlerde genellikle kusurlu lipid emilimi ve taşınımı ile ilgili sorunlara yol açar [31].

Enzim ve bileşiklerin çoğu oksidatif stresin etkilerine karşı hücreleri korurlarken, E vitamini antioksidan savunmanın tümünde önemli bir yere sahiptir. E vitamini serbest radikallerin oksidasyonuna karşı hücre membranındaki çoklu doymamış asitlerini korumada ilk savunma hattını oluşturur [32].

1.3.3. C vitamini



Vitamin C (askorbik asit), kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolaktondur. Suda çözünebilir vitaminlerden olan askorbik asit, özellikle yeşil taze sebze, patates,

domates, meyve ve turunçgillerde bol miktarda bulunur. C vitamini bağırsaklarda kolayca emilir ve kana karışır [30].

C vitaminin vücutta günlük gereksinimi 40-60 mg arasındadır. Bebeklerde ise gelişimleri hızlı olduğundan C vitamin ihtiyaçları da daha fazladır. Anne sütü, inek sütüne oranla daha fazla C vitamini içermektedir [2, 3].

C vitamini yeterince alınmadığı zaman skorbut hastalığı meydana gelir bu hastalık; kansızlık ve uyuşuklukla başlayan ilerledikçe kanamalara neden olan, bağ dokuları zayıflatan ve kemiklerin kırılma oluşmasıyla ortaya çıkan bir hastalıktır. C vitamini besinlerle fazla alınması, koroner kalp hastalığı ve bazı kanserler gibi kronik hastalıkların görülme sıklığını azaltır. C vitaminin fazlası idrar ve terle dışarı atılır. Böylece alınan fazla miktarda C vitamini depo edilemez [33].

C vitamini güçlü indirgeyici aktiviteye sahip olduğunda aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onların temizlenmesinde rol oynar [34]. C vitamini etkili bir singlet oksijen temizleyicisi olduğu bilinmektedir C vitamini antioksidan bir bileşiktir, sanayide konserve türü bileşiklere ve gazozlu içeceklere katılarak oto-oksidasyona karşı koruyucu olarak kullanılmaktadır [35].

Bilindiği gibi vitaminler çeşitli biyokimyasal işlevler için gerekli olan ve genellikle vücutta sentez edilemedikleri için diyetle alınması zorunlu olan besin maddeleridir. Diyetle vitaminlerin yokluğu veya nispeten yetersiz oluşları çeşitli hastalıklara yol açmaktadır [36]. Son zamanlarda biyokimyasal ara ürünler ve stres sonucu oluşan serbest radikallerin birçok hastalıkla ilişkili olduğunun tespit edilmiş olması, antioksidan vitaminlere karşı olan ilgiyi daha da arttırmıştır [37].

Amaç : Bu çalışmada taze çiğ süt, kaynatılmış süt ile değişik firmalara ait paket sütlerdeki ghrelin hormonu ve antioksidan vitaminlerin (A, E, C) miktarlarının raf ömrüne bağlı olarak nasıl değiştiğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Marketlerde değişik markalar adı altında satılan hazır paket sütler üretim tarihinden itibaren 1'er ay ara ile 6 aylık periyotta temin edildi. Ayrıca taze inek sütü ve bunun kaynatılmış Şekli de kullanıldı.

Kullanılan kimyasal maddeler:

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve bu kimyasalların temin edildiği firmalar karşılarında belirtildi.

- A vitamini standartı (sigma)
- E vitamini standartı (sigma)
- C vitamini standartı (sigma)
- Ghrelın (aile formu) standartı (phoenix)
- Ghrelın (desaçile formu) standartı (phoenix)
- Etanol, (sigma)
- Metanol, (sigma)
- o-Fosforik asit, (merck)
- Potasyum dihidrojen fosfat (merck)
- Perklorik asit, (merck)
- n-hegzan, (merck)

Kullanılan alet ve cihazlar

- Hassas terazi : Chyo JL-189
- Karıştırıcı : NM 110 Vorteks
- Otomatik pipet : Eppendorf 50-1000 mikrolitre
- HPLC : CE 1100 Series

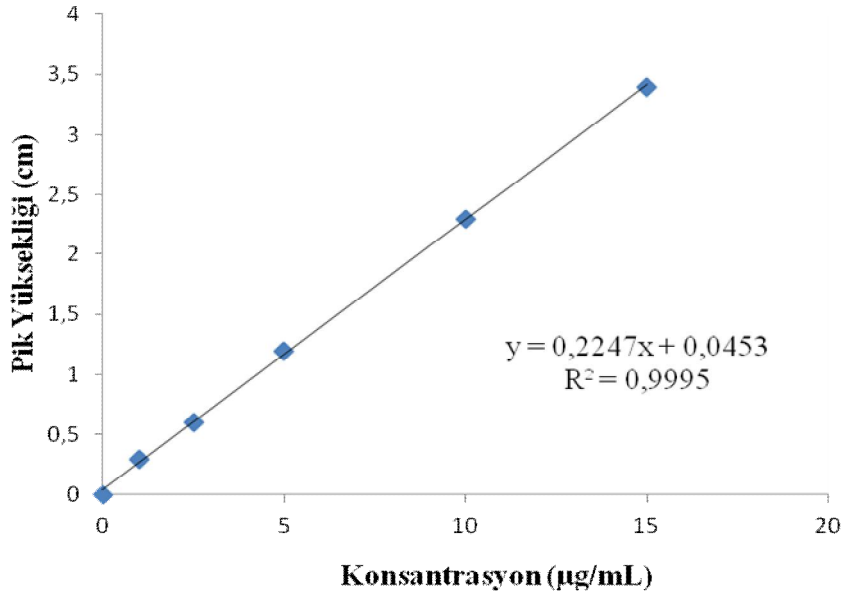
- HPLC kolonları : Supelcosil LC-18 25cm x 4.6mm, 5µm (A ve E vitamini)
Techsphere ODS 250mm, 4,6mm, 5µ (C vitamini)
Nucleodur C8 150mm, 4.6mm, 5 µm (Ghrelin hormonu)

Bu araştırmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma ve Merck firmalarından temin edilmiş ve tüm analizlerde bidistile su kullanılmıştır. Analizler üç farklı örnek üzerinde paralel yürütölmüş, verilerin aritmetik ortalaması ile standart sapması hesaplanmıştır.

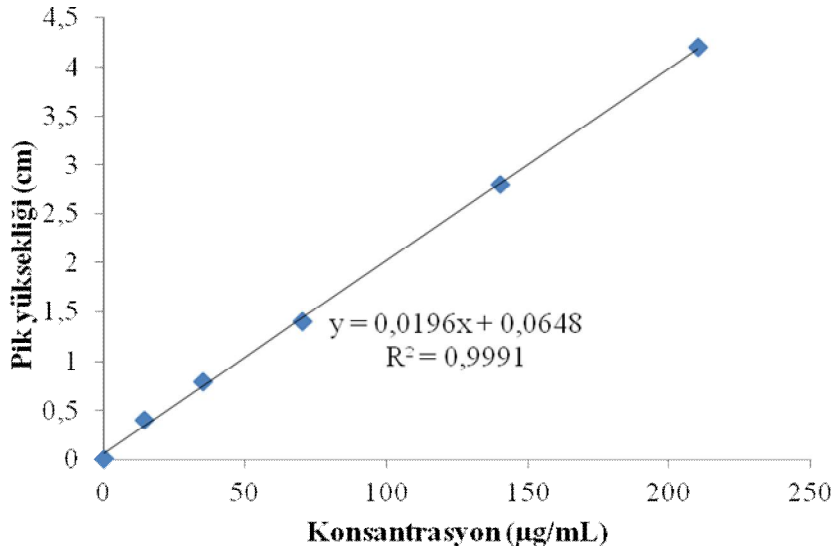
2.2. A ve E vitamini tayini

2 mL süt üzerine 4,5 mL etil alkol deney tüpüne alınarak proteinler çöktüröldü. Daha sonra bunun üzerine 0,8 mL n-hekzan ilave edilerek vortekste karıştırıldı. Karışım 4000 devir/dk'da 3-4 dakika santriföjlenerek üstteki hekzan fazı ayrılıp, her bir süt örneği için hekzanla ekstraksiyon işlemi iki defa tekrarlandı. Süt içindeki A ve E vitaminin tamamı hekzan fazına alınarak ayrılan hekzan fazı azot gazı ile kurutuldu, sonra örnekler 0,1mL metanolde çözüölüp analize hazır hale getirildi. HPLC 'de 0.8 mL/dk akış hızında mobil faz olarak 98 : 2 (hacimce) oranında metanol : su karışımı kullanıldı. Metanol çözeltilisinden 20 µL alınarak, Supelcosil LC-18 (25cm x 4.6mm, 5µm) kolonuna enjekte edilerek, A vitamini 326 nm ve E vitamini 296 nm'lik dalga boylarında tayin edildi [38-40].

A ve E vitamini miktarlarını belirlemek için her birinin ayrı ayrı değişik konsantrasyonlarda stok çözeltileri hazırlanarak bu çözeltilerin pik yükseklikleri belirlendi. Daha sonra belirlenen bu pik yüksekliklerine karşı derişim grafiğe alınarak çalışma grafiği çizildi (şekil 2. 1, şekil 2. 2). Çalışma grafiğinin doğru denklemi yardımıyla A ve E vitamini miktarları belirlendi.



Şekil 2.1. A vitaminin çalışma grafiği



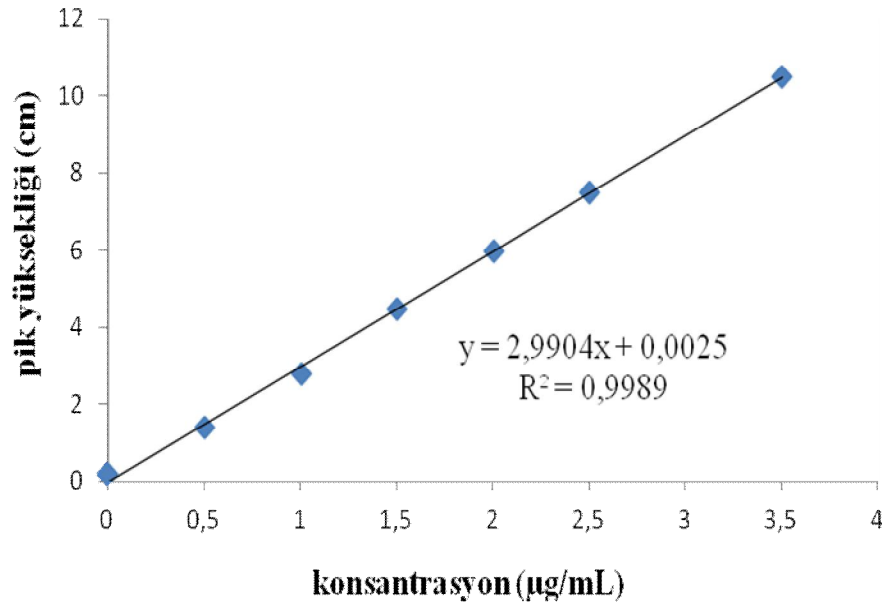
Şekil 2.2. E vitaminin çalışma grafiği

2.3. C vitamini tayini

Deney tüpüne 2 mL süt, üzerine de 1,5 mL 0.5M HClO₄ ilave edilerek vortekslendi. Daha sonra bu karışım üzerine 1,5 mL su ilave edilerek 4000 rpm de 7-8 dakika santrifüjlendi. Üstteki süzüntüden 20 µL alınarak HPLC'ye enjekte edildi.

HPLC’de mobil faz olarak 3,7 mM KH₂PO₄ (pH: 4) çözeltisi 0,8mL/min akış hızına ayarlanarak, 245 nm dalga boyu: C- 18 (250mm, 4,6mm, 5µ) kolonu kullanılarak C vitamini tayin edildi [41, 42].

Değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış olan stok C vitamini çözeltilerinin pik yükseklikleri ölçülerek çalışma grafiği çizildi (Şekil 2. 3). Çalışma grafiğinin doğru denklemi yardımıyla C vitamini miktarları belirlendi. Süt örnekleri 2.5 kat seyreltiği için seyrelme katsayısı olan 2. 5 ile çarpılarak C vitamini miktarları hesaplandı.

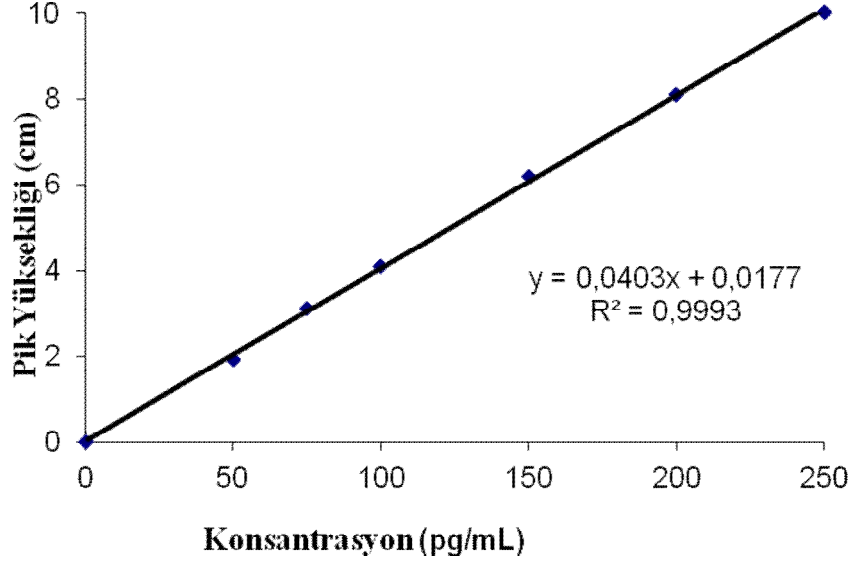


Şekil 2.3. C vitamininin çalışma grafiği

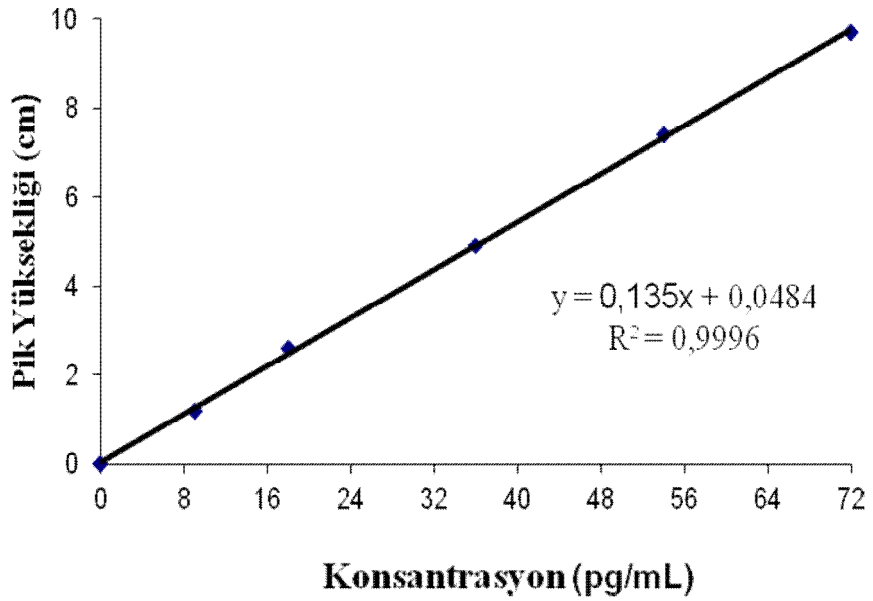
2.4. Ghrelin hormonu tayini

Deney tüpüne 2 mL süt, 0.5M HClO₄'den 1,5 mL katılarak vortekslendi. Daha sonra bu karışıma 1,5 mL saf su katılarak 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Üstteki süzüntüden 20 µL alınarak HPLC 'de Mobil faz: % 1.0 H₃PO₄ ile pH'sı 4'e ayarlanmış 50 mM NaClO₄ çözeltisi kullanıldı. Akış hızı:0,8 mL/min Dalga boyu:215 nm'de ghrelin kolonu Nucleodur C8 (150mm, 4,6mm, 5 µm) kullanılarak tayin edildi [43]. Açile ve desaçile ghrelin miktarlarını belirlemek için her birinin ayrı ayrı değişik konsantrasyonlar da stok çözeltileri hazırlanarak bu çözeltilerin pik yükseklikleri belirlendi. Daha sonra belirlenen bu pik yüksekliklerine karşı derişim grafiğe alınarak

çalışma grafikleri (Şekil 2. 4, Şekil 2. 5) çizildi. Örneklerdeki açile ve desaçile ghrelin miktarları ise çalışma grafiklerindeki doğru denklemleri kullanılarak hesaplama yapıldı.



Şekil 2.4. Açile ghrelinin çalışma grafiği



Şekil 2.5. Desaçile ghrelinin çalışma grafiği

3. BULGULAR

Üretim tarihinden itibaren 1'er ay ara ile 6 ay boyunca temin edilen 5 markaya ait sütlerin vitamin A, vitamin E, vitamin C ve ghrelin hormonun iki formunun (açile-
desaçile) miktarları Tablo 1, Tablo 2, Tablo 3, Tablo 4 ve Tablo 5 verilmiştir.

Tablo 3.1. 1. Markaya ait sütlerin aylara göre A, E, C vitaminleri ve ghrelin miktarları

1.	Ay	A vitamini (µg/mL)	E vitamini (µg/mL)	C vitamini (µg/mL)	Açile ghrelin (pg/mL)	Desaçile ghrelin (pg/mL)
M	1	1,68±0,19	1,67±0,29	19,40±2,54	5,14±1,69	216,55±3,46
A	2	1,09±0,28	1,59±0,86	18,21±1,08	4,87±0,27	213,07±2,21
R	3	0,67±0,23	1,29±0,23	17,71±2,04	3,15±0,85	208,22±2,81
K	4	0,47±0,03	1,0±0,18	16,60 ±1,62	2,39±0,26	203,69±1,18
A	5	0,39±0,18	0,81±0,24	15,89±1,21	1,47±0,82	195,97±1,58
	6	0,33±0,13	0,68±0,64	14,56±2,45	0,84±0,14	193,28±1,86

Tablo 3.2. 2. Markaya ait sütlerin aylara göre A, E, C vitaminleri ve ghrelin miktarları

2.	Ay	A vitamini (µg/mL)	E vitamini (µg/mL)	C vitamini (µg/mL)	Açile ghrelin (pg/mL)	Desaçile ghrelin (pg/mL)
M	1	1,87±0,25	1,69±1,15	20,83±1,38	5,54±0,57	218,80±2,72
A	2	1,69±0,18	1,57±0,07	19,10±2,74	4,41±1,51	213,30±2,75
R	3	1,39±0,14	1,49±0,52	17,96±1,58	3,49±0,25	209,95±2,59
K	4	1,18±0,64	1,39±0,19	17,05±2,45	2,76±0,27	206,44±3,89
A	5	0,84±0,26	1,24±1,02	16,40±2,62	1,93±0,72	203,44±1,97
	6	0,53±0,12	0,81±0,08	15,49±1,53	1,14±0,20	199,54±2,92

Tablo 3.3. 3. Markaya ait sütlerin aylara göre A, E, C vitaminleri ve ghrelin miktarları

3.	Ay	A vitamini (µg/mL)	E vitamini (µg/mL)	C vitamini (µg/mL)	Aile ghrelin (pg/mL)	Desaçile ghrelin (pg/mL)
M	1	1,85±1,25	1,73±0,54	22,65±2,45	4,95±0,26	218,80±2,72
A	2	1,72±0,27	1,55±1,24	21,32±1,59	4,28±1,24	213,31±2,75
R	3	1,44±0,13	1,42±0,06	20,52±2,06	3,69±0,52	209,98±2,59
K	4	1,12±0,06	1,23±0,15	19,34±1,72	3,49±0,27	206,44±3,37
A	5	1,06±0,06	0,88±0,18	17,79±0,55	2,93±0,39	200,43±1,97
	6	0,89±0,09	0,59±0,04	15,46±1,41	1,38±0,39	195,75±1,92

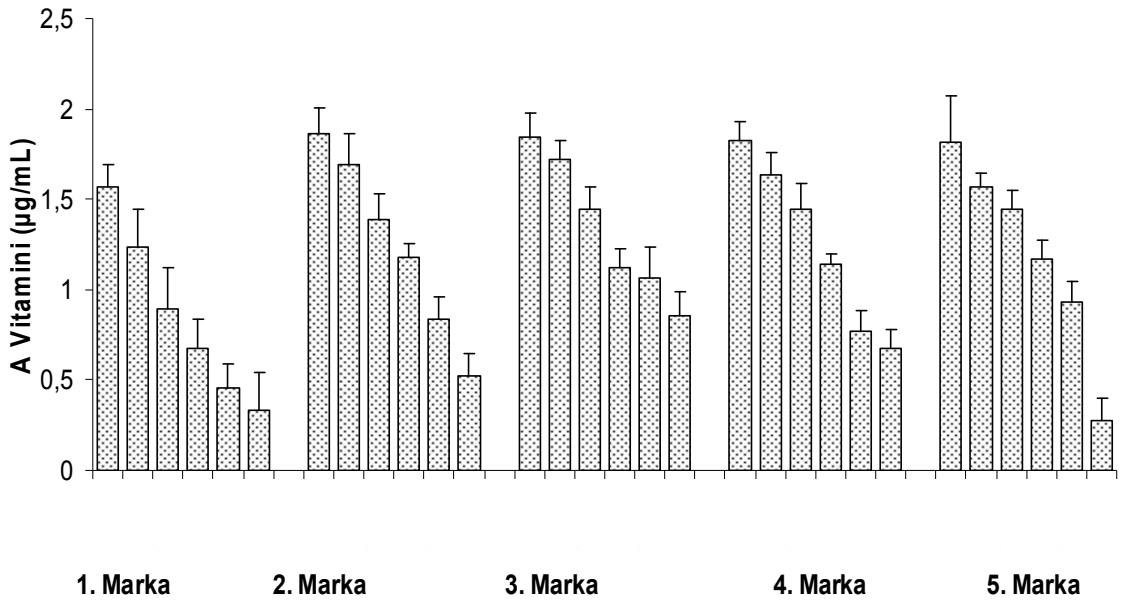
Tablo 3.4. 4. Markaya ait sütlerin aylara göre A, E, C vitaminleri ve ghrelin miktarları

4.	Ay	A vitamini (µg/mL)	E vitamini (µg/mL)	C vitamini (µg/mL)	Aile ghrelin (pg/mL)	Desaçile ghrelin (pg/mL)
M	1	1,83±0,44	1,79±1,23	19,23±2,38	5,76±1,35	220,27±1,64
A	2	1,64±1,12	1,61±0,15	18,16±0,48	4,70±0,24	217,98±2,05
R	3	1,44±0,74	1,42±0,62	16,74±1,41	3,80±1,35	215,04±1,24
K	4	1,14±0,13	1,34±0,12	15,81±2,38	3,12±0,26	212,66±1,78
A	5	0,99±0,16	1,05±0,18	14,60±0,10	2,11±0,64	209,31±2,54
	6	0,77±0,12	0,59±0,04	13,05±1,38	1,09±0,16	207,08±1,35

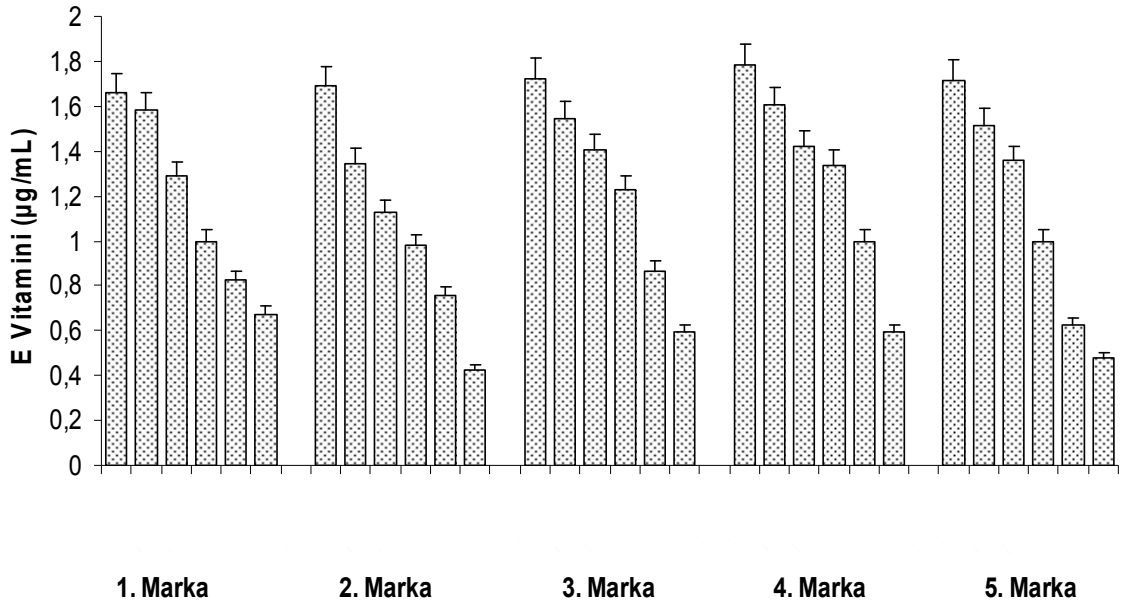
Tablo 3.5. 5. Markaya ait sütlerin aylara göre A, E, C vitaminleri ve ghrelin miktarları

5.	Ay	A vitamini (µg/mL)	E vitamini (µg/mL)	C vitamini (µg/mL)	Aile ghrelin (pg/mL)	Desaçile ghrelin (pg/mL)
M	1	1,81±0,26	1,72±0,15	23,66±2,25	5,84±0,56	215,41±3,62
A	2	1,57±1,05	1,51±0,24	21,99±1,35	4,94±1,25	214,08±2,56
R	3	1,45±0,07	1,36±1,50	20,80±2,36	4,34±0,41	209,37±1,18
K	4	1,17±0,10	1±0,18	19,66±2,31	2,92±0,56	205,95±1,83
A	5	0,93±0,12	0,62±0,09	17,99±1,21	1,77±0,35	202,44±1,74
	6	0,96±0,26	0,48±0,03	17,01±1,58	1,15±0,30	196,58±1,75

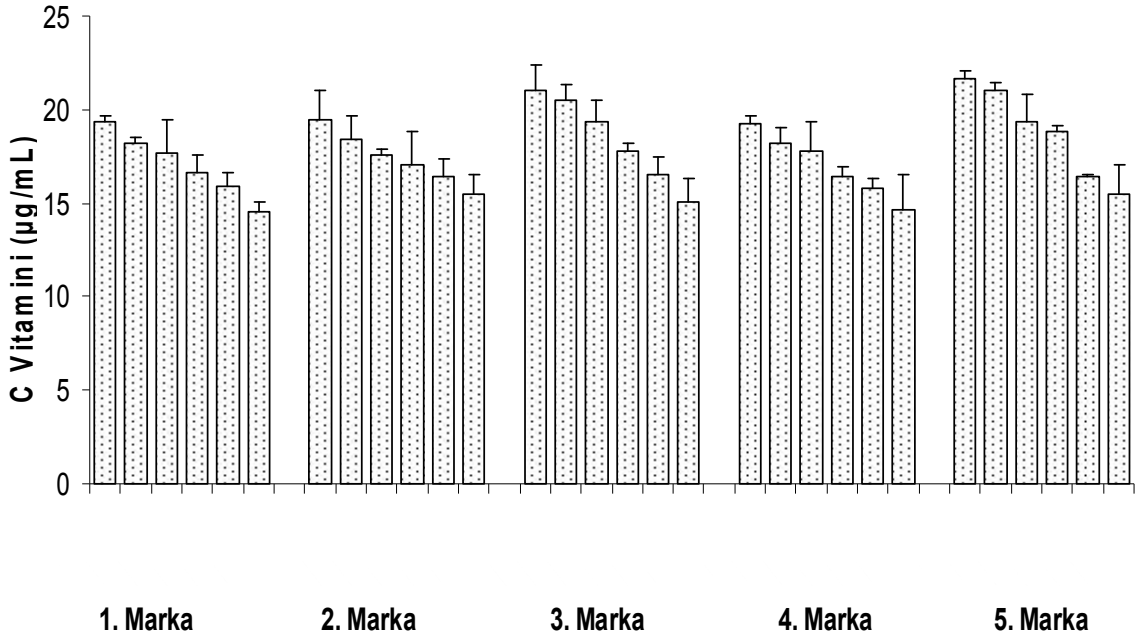
Üretim tarihinden itibaren 1'er ay ara ile 6 ay boyunca temin edilen 5 markaya ait sütlerdeki A, E, C vitaminleri ile ghrelin hormonunun iki formunun (aile-desaçile) miktarlarının sütun grafiği Şekil 3. 1, Şekil 3. 2, Şekil 3. 3, Şekil 3. 4 ve Şekil 3. 5'de verilmiştir.



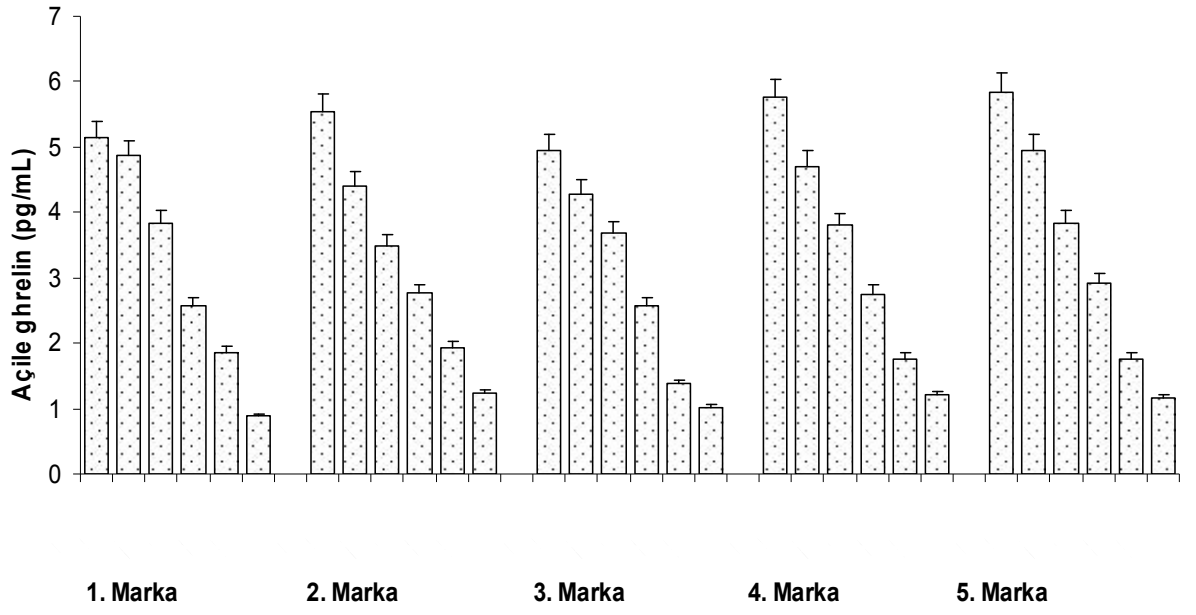
Şekil 3.1. Markalara ait sütlerin 1. ve 6. aylar arasındaki A vitamini miktarlarının değişim grafiği



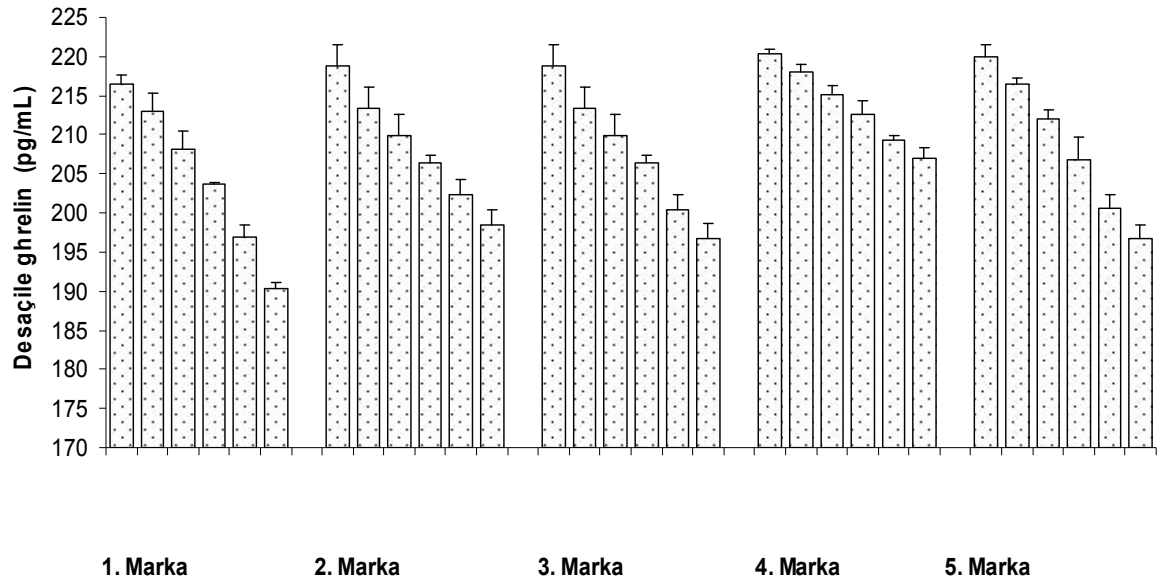
Şekil 3.2. Markalara ait sütlerin 1. ve 6. aylar arasındaki E vitamini miktarlarının değişim grafiği



Şekil 3. 3. Markalara ait sütlerin 1. ve 6. aylar arasındaki C vitamini miktarlarının değişim grafiği



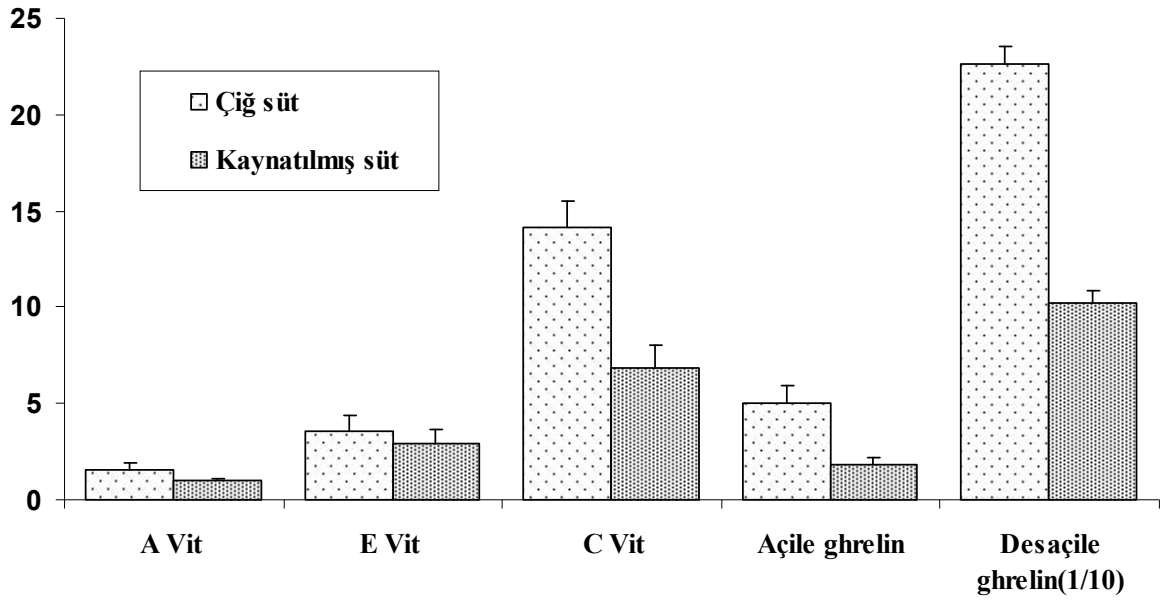
Şekil 3.4. Markalara ait sütlerin 1. ve 6. aylar arasındaki açile ghrelin miktarlarının değişim grafiği



Şekil 3.5. Markalara ait sütlerin 1. ve 6. aylar arasındaki desaçile ghrelin miktarlarının değişim grafiği

Tablo 3.6. Taze çiğ süt ile kaynatılmış sütteki A, E, C vitaminleri ile ghrelin miktarları

	A vitamini ($\mu\text{g/mL}$)	E vitamini ($\mu\text{g/mL}$)	C vitamini ($\mu\text{g/mL}$)	Açile ghrelin (pg/mL)	Desaçile ghrelin (pg/mL)
Çiğ Süt	1,54 \pm 0,38	3,58 \pm 0,76	14,13 \pm 1,34	5,06 \pm 0,86	226,11 \pm 9,09
Kaynatılmış süt	0,97 \pm 0,12	2,92 \pm 0,71	6,88 \pm 1,13	1,80 \pm 0,37	101,95 \pm 6,19



Şekil 3.6. Taze çiğ süt ile kaynatılmış sütteki A, E, C vitaminleri, açile ve desaçile ghrelinin değişim grafiği

Bütün parametreleri aynı sütun grafiğinde göstermek üzere, desaçile ghrelin değerleri ile standart sapmaların değerleri 10'a bölünerek grafikte verilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

A vitaminin en aktif formu retinoldür. A vitamini büyüme, cilt gelişimi, görme fonksiyonları, üreme, kemik büyümesi, hücre bölünmesi ve farklılaşmasında ve enfeksiyonlara karşı vücut direncinin artırılmasında görev alır ayrıca bağışıklık sistemini de güçlendirir [44].

A vitaminin öncülü olan β -karoten antioksidan aktivesini oksidasyon ara ürünlerinden singlet oksijen üretiminin engellemesi üzerinden serbest radikallerin oluşumunu önleyerek ve herhangi bir ayırım yapmaksızın ortamdaki radikalleri toplayarak gösterir [45].

Valverde ve arkadaşları (1992) farklı sıcaklık ve bekleme süresinin sütlerdeki retinol miktarına etkisini araştırmış ve hem sıcaklık hem de bekleme süresinin sütlerde retinol miktarında azalmaya sebep olduğunu belirtmişlerdir [46].

8 - 12°C de 2 yıl süre ile sütün depolanmasında A vitamini kaybının % 56 olduğu tespit etmiştir [47]. Bir başka araştırmada karanlıkta 4 - 20°C muhafaza edilen sterilize sütün A vitamini içeriğinin 6 aya kadar fazla değişmediğinin, buna mukabil 38°C de 6 hafta içinde % 50 kayıp olduğu rapor edilmektedir [48].

Bulgularımızda A vitaminin raf ömrüne bağlı olarak azalmasının en fazla olduğu 1. marka (1,68±0,19 - 0,33±0,13 µg/mL; % 80) (Tablo 1) olup, azalmanın en az olduğu ise 5. marka (1,81±0,26 - 0,96±0,26 µg/mL; % 46,96) olduğu görülmektedir (Tablo 5). Genelde ise bütün markaların sütlerindeki A vitamini miktarlarında raf ömrüne bağlı olarak düzenli bir azalma (ortalama % 57) olduğu belirlenmiştir (Tablo 1-5).

Taze inek sütündeki A vitamini miktarı 1,54±0,38 µg/mL iken, kaynatılmış sütteki 0,97±0,12 µg/mL olarak belirlenmiştir. Burada da kaynatma ile taze sütteki A vitamini miktarında ortalama % 37,0 azalma olduğu belirlenmiştir (Tablo 6 ve Şekil 3.6).

Saffert ve arkadaşları (2009) ışığa maruz kalan pet şişelerdeki UHT sütlerinin 23° C'da raf ömrüne bağlı olarak A vitamini miktarlarının değişimini araştırmak üzere 0 dan 12 haftaya kadar değişimini araştırmışlardır. A vitaminin zamana bağlı olarak düzenli bir şekilde azaldığını gözlemlemişlerdir [49].

A vitamini ile ilgili bulgularımızda raf ömrüne göre azaldığı için literatürlerle uyumluluk göstermektedir.

A vitamininden daha güçlü olan E vitamini, radikallerin yok edilmesi, zincirin kırılması, baskılama, bozulan yapıların onarılması gibi mekanizmaların tamamını kullanarak antioksidan görevini yerine getirdiğinden antioksidan kapasitesi çok geniş ve yüksektir. E vitamini ayrıca diğer biyolojik moleküllerden daha fazla peroksit radikali ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu önler ve hücre yapısını koruyarak güçlü bir antioksidan etki gösterir. E vitaminin 8 farklı türevi bulunmakta olup, bunlar içerisinde en etkili olan ve metabolizmada bulunanı ise α -tokoferoldür. α -tokoferol serbest radikallerin oksidasyonuna karşı hücre zarındaki doymamış yağ asitlerini korumada ilk savunma hattını oluşturur. Hidrojen iyonları ile peroksit ve hidroperoksitleri doyurup, peroksit radikallerinin aktivitesini azaltarak otooksidasyonun başlatıcısı olan bu reaksiyonu inhibe eder ve kendisi de α -tokoferoksil radikaline dönüşür [50].

Valverde ve arkadaşları (1993) sıcaklık ve raf ömrüne bağlı olarak sütlerdeki E vitamini miktarlarındaki değişimleri araştırmak amacıyla yapılan çalışmada; UHT sütler 30°C'da 1 ay bekletildiğinde E vitamini kaybının, 40°C'da bekletilen sütlerden daha az olduğunu ayrıca E vitamini kaybının bekleme süresi ile orantılı olarak arttığı rapor etmişlerdir [51].

Bulgularımızda ise E vitaminin raf ömrüne bağlı olarak azalmasının en fazla olduğu 5. markaya ait ($1,72 \pm 0,15 - 0,48 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$; % 72,09) sütlerde olduğu (Tablo 5), azalmanın en az olduğun ise 2. marka ($1,69 \pm 1,15 - 0,81 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$; % 52,07) olduğu görülmektedir (Tablo 2).

Genelde ise bütün markaların sütlerindeki E vitamini miktarlarında raf ömrüne bağlı olarak düzenli bir azalma (ortalama % 65) olduğu belirlenmiştir (Tablo 2-5). Taze inek sütündeki E vitamini miktarı $3,58 \pm 0,76 \mu\text{g/mL}$ iken, kaynatılmış sütteki E vitamini $2,92 \pm 0,71 \mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. Kaynatma ile taze sütteki E vitamini miktarında ortalama % 18,43 azalma olduğu belirlenmiştir (Tablo 6 ve Şekil 3.6).

Bulgularımızda raf ömrü ile orantılı olarak E vitamini miktarında azalma olması literatür ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

E vitaminin aksine suda çözünen C vitamini, güçlü indirgeyici aktiviteye sahip olduğunda güçlü bir antioksidandır [52]. Süperoksit ve hidroksil radikali kolayca reaksiyona girerek onların temizlenmesinde rol oynar [33, 34].

Nannapat ve arkadaşları (2009) pastörize sütlerdeki C vitamininin UHT sütlerde daha fazla olduğunu ayrıca raf ömrüne bağlı olarak UHT sütlerdeki C vitamin kaybının pastörize sütlere göre daha az olduğu belirtilmektedir [53].

Sütlerdeki raf ömrüne bağlı olarak C vitamini miktarındaki azalmanın, en fazla olduğu 4. marka ($19,23 \pm 2,38 - 3,05 \pm 1,38 \mu\text{g/mL}$; % 32,13) (Tablo 4) olup, azalmanın en az olduğu ise 1. markaya ait sütlerde ($19,40 \pm 2,54 - 14,56 \pm 2,45 \mu\text{g/mL}$; % 24,95) olduğu görülmektedir (Tablo 1). Taze inek sütündeki C vitamini miktarı $14,13 \pm 1,34 \mu\text{g/mL}$ iken kaynatılmış sütteki C vitamini $6,88 \pm 1,13 \mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilmiştir. Kaynatmaya bağlı olarak taze sütteki C vitamini miktarında ortalama % 51,30 azalma olduğu belirlenmiştir (Tablo 6 ve Şekil 3.6).

Genelde ise bütün markaların sütlerindeki C vitamini miktarlarında raf ömrüne bağlı olarak düzenli bir azalma (ortalama % 28) olduğu belirlenmiştir (Tablo 1-4).

C vitamini kaybının artan sıcaklık ve oksijen etkisiyle arttığı rapor edilmektedir [54]. Raf ömrüne bağlı C vitamini kayıplarının da literatürlerle uyumlu olduğu görülmektedir.

Sütte vitaminlere ilaveten ghrelin hormonu da bulunmaktadır. Sütte bulunan ghrelin hormonu hayvanlarda beslenme davranışlarında, insanlarda ise iştahın düzenlenmesinde önemli rol oynar. Bu yüzden ghrelinin anormal aktivitesi aşırı kilo yada düşük kiloya neden olabilir. Bu yüzden dışarıdan alınan gıdaların içerdiği ghrelin miktarı günümüzde büyük bir öneme sahiptir [14].

Ozarda ve Hizli (2007) laktasyon süresine bağlı olarak anne sütlerindeki aktif (açile form) ve total ghrelin miktarlarının arttığını rapor etmişlerdir [55]

Değişik markalara ait paket sütlerin raf ömürlerine bağlı olarak ghrelin miktarlarındaki değişimler araştırıldığında, 4. ve 5. marka sütlerin ghrelin miktarı daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Sütlerdeki açile ghrelin miktarları raf ömrüne göre azalmasının en fazla olduğu 1. marka ($5,14 \pm 1,69 - 0,84 \pm 0,14 \text{ pg/mL}$; % 83,65) (Tablo 1) olup, azalmanın en az olduğu ise 3. markaya ait sütlerde ($4,95 \pm 0,26 - 1,38 \pm 0,39 \text{ pg/mL}$; % 72,12) olduğu gözlenmiştir (Tablo 3).

Genelde ise bütün markaların sütlerindeki açile ghrelin miktarlarında raf ömrüne bağlı olarak düzenli bir azalma (ortalama % 80) olduğu belirlenmiştir (Tablo 1-3).

Taze inek sütündeki açile ghrelin miktarı $5,06 \pm 0,86 \text{ pg/mL}$ iken, kaynatılmış sütte ise $1,80 \pm 0,37 \text{ pg/mL}$ olarak belirlenmiştir. Taze sütün kaynatılması ile açile ghrelin miktarında ortalama % 64,43 azalma olduğu görülmektedir (Tablo 6 ve Şekil 3.6). Acile

ghrelin miktarındaki fazla azalma aktif olan bu formun antioksidan etkisi ile açıklanabilir.

Paket sütlerdeki desaçile ghrelin miktarlarının raf ömrüne göre azalması ise en fazla 1. markaya ait sütlerde ($216,55 \pm 3,46$ - $193,28 \pm 1,86$ pg/mL; % 10,75) (Tablo 1) olup, desaçile ghrelin miktarlarındaki azalmanın en az olduğu ise 4. marka sütlerinde ($220,27 \pm 1,64$ - $207,08 \pm 1,35$ pg/mL; % 5,99) olduğu görülmektedir (Tablo 4).

Açile ghrelinde olduğu gibi, bütün markaların sütlerindeki desaçile ghrelin miktarlarında da raf ömrüne bağlı olarak düzenli bir azalma (ortalama % 8) olduğu belirlenmiştir (Tablo 1-4).

Taze inek sütündeki desaçile ghrelin miktarı $226,11 \pm 9,09$ pg/mL iken kaynatılmış sütte $101,95 \pm 6,19$ pg/mL olarak tespit edilmiştir. Taze sütün kaynatılması ile desaçile ghrelin miktarında yaklaşık %54,91'lik bir azalma olduğu belirlenmiştir (Tablo 6 ve Şekil 3. 6).

Sonuç olarak firmalara göre A, E ve C vitaminleri ile ghrelinin hem açile hemde desaçile formlarının farklılık göstermesi sütün alındığı hayvanın beslenmesine, laktasyon süresine, mevsimlere [13] ve sütün paketlenme koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermesi ile açıklanabilir.

Ayrıca incelenen firmalara ait sütlerdeki A, E ve C vitaminleri ile ghrelinin hem açile hemde desaçile formlarındaki raf ömrüne bağlı olarak azalmanın nedeni paketlenme koşulları bunların antioksidan özellik göstermesi ve deneysel aşamalardaki oksidasyon ile açıklanabilir.

Taze çiğ süte göre kaynatılan sütlerdeki A, E ve C vitaminleri ile ghrelinin hem açile hemde desaçile formlarındaki azalma ise ısı, kaynatma süresi ve ışığın etkisi ile açıklanabilir.

Tüm bu sonuçlardan araştırılan markalara ait sütlerdeki vitamin ve ghrelin miktarlarındaki azalmanın raf ömrü ve kaynatmaya bağlı olarak arttığı, bu nedenle tüketicilerin bu sütleri kullanırken üretim tarihine dikkat etmelerinin daha uygun olabileceği söylenebilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Ünal, N., Besler, T.**, 2006. Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Beslenmede Sütün Önemi, 1-8
- [2] **Kaynar, Tunçel, E., DüNDAR, C., Canbaz, S., Pekşen, Y.**, 2006. C.Ü. Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi 10 (1). Bir Üniversite Hastanesine Başvuran 0-24 Aylık Çocukların Anne Sütü ile Beslenme Durumlarının Saptanması, 2-4
- [3] **Giray, H.**, 2004. Dokuz Eylül Ü. Tıp Fak. Halk Sağlığı AD, Anne Sütü ile beslenme, 12-15
- [4] **Black, E., Williams, M., Jones, E., Goulding, E.**, 2002. A.Children who avoid drinking cow milk have low dietary calcium intakes and poor bone health. American Journal of Clinical Nutrition. 76: 675-80.
- [5] **Miller, D., Jarvis, K.J., McBean, D.**, 2000. Handbook of Dairy Foods and Nutrition. In: Jensen RG, Kroger M, editors. The Importance of milk and milk products in the diet. CRC Press, New York, 4-24.
- [6] **Altun, B., Besler, T., Ünal, S.**, 2002. Ankara'da Satılan Sütlerin Değerlendirilmesi, cilt 11 sayı 2 / 55
- [7] **Demirci, M., Şimşek, O.**, 1997. Süt İşleme Teknolojisi, Hasad Yayıncılık Sayfa: 17-18
- [8] **Kalkan, S., Halkman, K.**, 2006. Bacillus cereus ve içme sütünde oluşturduğu sorunlar Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi Cilt: 04 Sayı: 01 Sayfa: 1-11 www.mikrobiyoloji.org/pdf/702060101.pdf
- [9] **İnal, T.**, 1990. Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi, Final ofset, 30-55
- [10] **Kesim, M.**, 1995. Gıda Teknolojisi, Anadolu Üniversitesi, Açıköğretim Fakültesi, 20-85
- [11] **Hannula, L., Kaunonen, M., Tarkka MT.**, 2008. A systematic review of professional support interventions for breastfeeding. J Clin Nurs 17: 1132-11
- [12] **Öztürk, Y.**, Hayatın İlk Yılında Beslenme. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi. Çocuk Gastroenteroloji, Beslenme ve Metabolizma Ünitesi-İzmir, 3-12

- [13] **Metin, M.**, 2001. Süt Teknolojisi, Sütün Bileşimi ve İşlenmesi, 18-50
- [14] **Dabak, D. Ö., Kuloğlu, T.**, 2008. Grelin ve metabolik etkileri, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 105-110
- [15] **Yiş, U., Öztürk, Y., Büyükgebiz, B.**, 2005. Grelin: enerji metabolizmasının düzenlenmesinde yeni bir hormon. Çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi 48;196-201
- [16] **Karataş, Z., Aydoğdu, S., Karataş, A., Aydın, B.**, 2011. Erken bebeklik döneminde anne sütü ve formül mama ile beslenen bebeklerin grelin ve leptin düzeylerinin büyüme üzerine etkisi. Düzce Tıp Dergisi
- [17] **Aydın, S., Özkan, Y., Caylak, E., Aydın, S.**, 2006. Grelin ve Biyokimyasal Fonksiyonları, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ, , Türkiye Klinikleri, 1-4
- [18] **Gnanapavan, S., Kola, B., Bustin, A.**, 2002. The tissue distribution of the mRNA of grelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. J Clin Endocrinol Metab 87: 2988–2991.
- [19] **Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., Kangawa, K.**, 1999. Grelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature, 402: 656–660
- [20] **Ariyasu, H., Takaya, K., Tagami, T., Ogawa, Y., Hosoda, K., Akamizu, T.**, 2001. Stomach is a major source of circulating grelin and feeding state determines plasma grelin-like immuno reactivity levels in humans, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism., 86, 4753 – 4758
- [21] **Aydın, S.**, 2007. Ghrelin Hormonun Keşfi: Araştırmaları ve Klinik Uygulamaları. Türk Biyokimya Dergisi 32 (2) ; 76-89
- [22] **Hiroyuki Kaiya, Veerle M. Darras and Kenji Kangawa.** 2007. Ghrelin in Birds: Its structure, distribution and function. The Journal of Poultry Science. 44 (1), 18.
- [23] **Sato, T., Nakamura, Y., Shiimura, Y., Ohgusu, H., Kangawa, K., and Kojima, M.**, 2012. Structure, regulation and function of ghrelin. J. Biochem. 151(2):119–128

- [24] **El Eter, E., Al Tuwaijiri, A., Hagar, H., Arafa, M.**, 2007. In vivo and in vitro antioxidant activity of ghrelin: Attenuation of gastric ischemic injury in the rat. *J Gastroenterol Hepatol.* 22(11):1791-1799.
- [25] **Arikan, F., Uysal, H.**, 2011. Sağlıkta ve Hastalıkta Ghrelin rolü. Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 41-47
- [26] **Cummings, E., Purnell, Q., Frayo, RS., Schmidova, K., Wisse, BE., Weigle, DS.**, 2001. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*, 50: 1714–1719
- [27] **Tschop, M., Wawarta, R., Riepl, R.L., Friedrich, S., Bidlingmaier, M., Landgraf, R., Folwaczny, C.**, 2001. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest*, 24: 19–21
- [28] **Özer, N.**, 1996. Temel Biyokimya. Editörleri (Onat T., Emerk K.), Saray medikal yayıncılık, 5-24
- [29] **Tekinşen, O.C.**, 1996. Süt Ürünleri Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fak.yayın ünitesi Konya, 20-58
- [30] **Erenel, G., Erbaş, D., Akıcıoğlu, A.**, 1982. Serbest radikaller ve antioksidant sistemler. *Gazi Tıp Dergisi* sayı:3
- [31] **Zintzen, H.**, 1978. A Summary of the vitamin E / selenium problem in ruminants. *New and Reviews.Roche*;1-18
- [32] **Chow, C.K.**, 1991. Vitamin E and oxidative stres, *Free Radic Biol Med.* 11(2);212-215
- [33] **Kılınc, K.**, 1985. Oksijen Radikalleri, üretilmeleri , fonksiyonları, toksik etkileri *Biyokimya dergisi* sayı:10/60-89
- [34] **Freeman, B.A., James, D., Crapo, M.D.**, 1982. Biology of disease: Free radicals nad tissue damage. *Laboratory İnvestigation.*5/47 412
- [35] **Tüzün, C.**, 2005. Organik Kimya. Palme yayıncılık sf-629
- [36] **Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell V.W.**, 1993. Harper'in Biyokimyası, İstanbul, Barış Kitapevi, 704-713.
- [37] **Cheesman, K.H., Slater, T.F.**, 1993. Introduction to free radical biochemistry, *Br. Med. Bull.*, 49 (3), 481-493.

- [38] **Çetinkaya, N., Özcan, H.**, 1991. Investigation of seasonal variations in cow serum retinol and β -carotene by high performance liquid chromatographic method comp.Biochem. Physiol., 100(4):1003-1008
- [39] **Miller, KW., Lorr, NA., Yang, CS.**, 1984. Simultaneous determination of plasma retinol, α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high performance liquid- chromatography. Anal Biochem 138:340–345
- [40] Supelco Chromatography Products for Analysis & Purification. 2005-2006. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Export Department Eschenstraße Taufkirchen, Germany, sf 169
- [41] **Cerhata, D., Bauerová, A, Ginter, B.**, 1994. Determination of ascorbic acid in blood serum using highperformance liquid chromatography and its correlation with spectrophotometric (colorimetric) determination. Ceska Slov Farm 43(4):166–168 Slovak
- [42] **Tavazzi, B, Lazzarino, G, Di-Piero, D, Giardina, B.**, 1992. Malondialdehyde production and ascorbate decrease are associated to the reperfusion of the isolated postischemic rat heart. Free Radic Biol Med 13:75–78
- [43] **Aydin, S., Karatas, F., Geckil H.**, 2008. “Simultaneous quantification of acylated and desacylated ghrelin in biological fluids” Biomedical Chromatography 22,1354-1359
- [44] **Aslan, R., Şekeroğlu, M.R., Bayıroğlu, F.**, 1995. Serbest radikal türlerin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücre sel antioksidan savunma.Sağlık Bil.Dergisi 2 :137-142
- [45] **Longenstroer, P., Pieper, G.M.**, 1992. Regulation of spontaneous EDRF rebase in diabetic rat aorta by oxygen free radical, Am. J. Physiol., 263:257-265,
- [46] **Valverde, C.V, Raquel, R. and Angeles, M.**, 1992. Stability of retinol in milk during frozen and other storage conditions. Z Lebensm Unters Forsch, 195:562-565
- [47] **Granado F., Olmedilla B., Gil-Martinez E., Blanco I., Millan I., Rojas-Hidalgo E.**, 1998. Carotenoids, retinol and tocopherols in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and their immediate relatives. Clinical Science (Colch), 94(2): 189-195.

- [48] **Thoropson, S.**, 1967. "Nutritive value of milk and milk products. fat soluble vitamins in products. Journal of Dairy Res.35 : 1
- [49] **Saffert, A., Pieper, G. and Jetten, J.**, 2009. Effect of package light transmittance on the vitamin content of milk, Part 3:Fortifi ed UHT Low-Fat Milk. Packaging technology and science Packag. Technol. Sci., 22: 31–37
- [50] **Gauna, C., Meyle,r FM., Janssen, J., Delhanty, PJD., Abribat, T., Koetsveld, P., Hofland, J., Broglio, F., Ghigo, E., Lely, A.J.**, 2004. Administration of acylated ghrelin reduces insulin sensitivity, whereas the combination of acylated plus unacylated grelin strongly improves insulin sensitivity. J Clin Endocrinol Metab. 89: 5035-5042.
- [51] **Valverde, V., Ruiz, R., Medrano A.**, 1993. Effects of frozen and other storage conditions on α -tocopherol content of cow milk. Journal of Dairy Science, 76(6): 1520–1525
- [52] **Aksoy, M.**, 2000. Beslenme Biyokimyası, Hatipoğlu Basım ve Yayım San. Tic. Ltd. Şti., Ankara, 321-342s.
- [53] **Nannapat, N., Wasana, C., Witaya, S., Nalame Nannapat; Chaisri Wasana; Suriyasathaporn Witaya.** 2009. Loss of L-ascorbic acid in commercial drinking milk caused by milk processing and storage times. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 40(4): 848-851
- [54] **Akkuş, İ.**, 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları. Konya. 10-48
- [55] **Ozarda I.Y., Hizli, B.**, 2007. Active and total ghrelin concentrations increase in breast milk during lactation. Acta Paediatrica, 96(11); 1632-1639.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Elazığ'ın Baskil ilçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Baskil'de tamamladım. 2004 yılında kazandığım Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünden 2008'de mezun oldum. 2010 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim dalında yüksek lisansa başladım.

Hadice ULUS