

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI



**KEÇİ SÜTLERİNDE ISIL İŞLEM UYGULAMASININ SÜT
MELATONİN VE VİTAMİN C DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Medine DAĞ

Danışman

Doç. Dr. Pınar PEKER AKALIN

HATAY – 2020

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

**KEÇİ SÜTLERİNDE ISIL İŞLEM UYGULAMASININ SÜT
MELATONİN VE VİTAMİN C DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Medine DAĞ

Danışman

Doç. Dr. Pınar PEKER AKALIN

Bu tez Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
“19.YL.031” no’lu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY – 2020

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

**KEÇİ SÜTLERİNDE ISIL İŞLEM UYGULAMASININ SÜT
MELATONİN VE VİTAMİN C DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Medine DAĞ

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 25/06/2020 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi:

Jüri başkanı: Prof. Dr. Meryem EREN

Üye: Doç. Dr. Pınar PEKER AKALIN

Üye: Dr. Öğretim Üyesi Filiz KAZAK

Bu tez, Enstitümüz Biyokimya (VET) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, bana katkılarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Pınar Peker AKALIN'a teşekkürü bir borç biliyorum. Ayrıca çalışmam boyunca bana destek olan Prof. Dr. Mustafa Numan BUCAK'a, değerli eşim Mehmet DAĞ ve sevgili kardeşim Ömer DOĞU'ya, çalışmamda desteklerini ve bana olan güvenlerini esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Filiz KAZAK'a teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT	IX
1.GİRİŞ	1
2. TEMEL BİLGİLER	2
2.1.Sütün Bazı Biyokimyasal Özellikleri	3
2.1.1. Donma Noktası	3
2.1.2. Özgül Ağırlık	3
2.1.3. Asitlik Derecesi	3
2.1.4. Kaynama Noktası	3
2.2. Keçi Sütünün Bileşenleri	4
3. Melatonin	6
AMAÇ	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM	11
3.1. Materyal	11
3.2. Yöntem	11
4.BULGULAR	16
5.TARTIŞMA	18
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	22
7.KAYNAKÇA	23
ÖZGEÇMİŞ	28

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 : Melatonin hormonunun kimyasal yapısı	7
--	---



ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 2.1: Farklı türlerinin sütlerindeki kimyasal parametreler (Yılmaz 2017).....	5
Çizelge 2.2: Farklı türlerinin sütlerindeki asitlik, yoğunluk, yağ ve yağsız kuru madde miktarları (Ünal ve Besler 2008)	5
Çizelge 2.3 : Çeşitli türlerde süt ortalama bileşenleri (%) (Gürsoy 2018)	6
Çizelge 2.4: Yağı alınmış (skimmed) keçi sütünde total protein, kazein ve peynir altı suyu protein düzeyleri (Rukke ve ark. 2010).	6
Çizelge 2.5: Doğal keçi sütü ile ticari keçi sütlerinin (UHT) kimyasal parametrelerinin karşılaştırılması (Yılmaz 2017).	9
Çizelge 2.6: Doğal inek sütü ile ticari sütlerin kimyasal parametreleri karşılaştırılması (Yılmaz 2017).	9
Çizelge 4.1: Çiğ süt ile pastörizasyon ve kaynatma ısı işlemi uygulanan sütlerde melatonin, vitamin C ve total protein düzeyleri (Ort±SH) (n=20)	16
Çizelge 4.2: Çiğ sütlerde biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar (r, Pierson's test, n=20)	17
Çizelge 4.3: Pastörizasyon işlemi uygulanan sütlerde biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar (r, Pierson's test, n=20)	17
Çizelge 4.4.: Kaynatma işlemi uygulanan sütlerde biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar (r, Pierson's test, n=20)	17

ÖZET

Keçi Sütlerinde Isıl İşlem Uygulamasının Süt Melatonin ve Vitamin C Düzeylerine Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Bu projede keçi sütünde pastörizasyon işlemi (72 °C’de 15 saniye) ve geleneksel olarak evlerde uygulanan kaynatma işleminin (100 °C’de 5 dakika) süt melatonin, vitamin C ve total protein düzeylerine etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot: Çalışmada özel bir keçi çiftliğinden, nisan ayında temin edilen 20 adet sağlıklı keçinin (10 Halep, 10 Kilis keçisi) sütü materyal olarak kullanıldı. Sütler, sabah meradan dönen (10:30-11:00 arasında) keçilerden rutin süt sağımı sırasında temin edildi. Her bir süt örneği, çiğ süt, pastörizasyon işlemi (72 °C’de 15 saniye) ve kaynatma işlemi (100 °C’de 5 dakika) uygulanan olmak üzere 3’e bölündü. Çiğ, pastörize ve kaynatılmış sütlerde melatonin düzeyleri ticari ELİSA kiti ile, vitamin C ve total protein düzeyleri manuel spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi.

Bulgular: Kaynatma işlemi uygulanan süt örneklerinde melatonin düzeyleri ($4,20 \pm 0,39$ pg/ml), çiğ süt ($3,19 \pm 0,25$ pg/ml) ve pastörizasyon işlemi ($3,42 \pm 0,24$ pg/ml) uygulanan örneklerle kıyasla yükseldi ($p < 0,05$). Vitamin C düzeyleri pastörizasyon uygulanan grupta ($2,99 \pm 0,16$ mg/100 ml), çiğ süt grubuna ($3,18 \pm 0,24$ mg/100 ml) göre önemli bir farklılık göstermedi ($p > 0,05$). Kaynatma sonrasında elde edilen vitamin C düzeyleri ise ($2,03 \pm 0,12$ mg/100 ml), hem çiğ süt hem de pastörize süt vitamin C düzeylerinden düşük ($p < 0,001$) olarak saptandı. Total protein düzeyleri değerlendirildiğinde, Bradford yöntemi ile belirlenen total protein düzeyleri açısından ısıl işlem uygulanan gruplar arasında bir farklılık yok iken Lowry yöntemi ile belirlenen total protein düzeyleri, kaynatma uygulanan grupta, diğer gruplara göre önemli düzeyde düştü ($p < 0,001$). Çiğ süt ve pastörize sütteki total protein düzeyleri Bradford yöntemi ve Lowry yöntemi ile belirlenen düzeyler açısından birbirini ile yakın bulundu. Diğer yandan kaynatma uygulanan sütlerde Bradford yöntemi ile belirlenen total protein düzeyleri ($2,26 \pm 0,13$ g/dl), Lowry medodu ile belirlenen total protein düzeylerinden ($1,92 \pm 0,09$ g/dl) yüksek olarak belirlendi ($p < 0,05$). Pastörizasyon ($r = -0,114$, $p < 0,05$) ve kaynatma ($r = -0,572$, $p < 0,01$) uygulanan sütlerde melatonin ve vitamin C düzeyleri arasında önemli ancak zayıf negatif korelasyonlar belirlendi. Çiğ süt ($r = 0,723$, $p < 0,01$), pastörizasyon ($r = 0,838$, $p < 0,01$) ve kaynatma ($r = 0,449$, $p < 0,05$)

uygulanan süt örneklerinde Bradford ve Lowry yöntemleri ile belirlenen total protein düzeyleri arasında pozitif korelasyonlar belirlendi.

Sonuç: Keçi sütüne uygulanan pastörizasyon işleminin, süt melatonin, vitamin C ve total protein düzeylerini değiştirmediği, kaynatma uygulamasının ise vitamin C ve total protein düzeylerinin dmesine neden olduğu belirlendi. Keçi sütünün biyoyararlanımında pastörizasyon işleminin, geleneksel kaynatma işlemine göre daha üstün olduğu dnld. Sütlerde ELİSA metodu ile melatonin analizi yapılmadan önce, melatoninin sütte bağlı bulunduğu proteinden ayrıştırılması amacıyla, sütün, bir n işlemden geçirilmesinin, sonuçların daha doğru olarak tespit edilmesinde faydalı olabileceği ngrld.

Anahtar kelimeler: Bradford, Lowry, Süt melatonin, Total protein, Vitamin C

ABSTRACT

Investigation of the Effects of Heat Treatment on Milk Melatonin and Vitamin C Levels in Goat Milk

Aim: In this project, it was aimed to investigate the effects of pasteurization (15 seconds at 72 °C) and boiling processes (5 minutes at 100 °C) on goat milk melatonin, vitamin C and total protein levels.

Material and Methods: The milk of 20 healthy goats (10 Aleppo, 10 Kilis goats) obtained from a private goat farm were used as materials. In April, milk was supplied from goats that returned from pasture in the morning (between 10:30 and 11:00) during routine milking. Each milk sample was divided into 3 for raw milk, for pasteurization process (15 seconds at 72 °C) and for boiling process (5 minutes at 100 °C). Melatonin levels in raw, pasteurized and boiled milk were determined with commercial ELISA kit, while, vitamin C and total protein levels were determined by manual spectrophotometric methods.

Results: Melatonin levels in boiled milk samples (4.20 ± 0.39 pg/ml) increased ($p < 0.05$) compared to both raw milk (3.19 ± 0.25 pg/ml) and pasteurized (3.42 ± 0.24 pg/ml) milk samples. Vitamin C levels did not differ in the pasteurization group (2.99 ± 0.16 mg/100 ml) compared to the raw milk group (3.18 ± 0.24 mg/100 ml). On the other hand, vitamin C levels obtained after boiling process (2.03 ± 0.12 mg/100 ml) were lower than that in the raw and pasteurized milk samples ($p < 0.001$). While there was no difference between the heat treated groups in terms of total protein levels determined by Bradford method, the total protein levels determined by Lowry method decreased significantly in boiling group compared to other groups ($p < 0.001$). Total protein levels in raw milk and pasteurized milk were found not to differ in terms of levels determined by Bradford method and Lowry method ($p > 0.05$). On the other hand, total protein levels (2.26 ± 0.13 g/dl) determined by the Bradford method in boiled milk were determined to be higher than total protein levels (1.92 ± 0.09 g/dl) determined by Lowry method ($p < 0.05$). Significant but weak negative correlations were determined between melatonin and vitamin C levels in milk with pasteurization ($r = -0.114$, $p < 0.05$) and boiling process ($r = -0.572$, $p < 0.01$). Positive correlations were determined between total protein levels determined by Bradford and

Lowry methods in raw milk ($r=0,723$, $p < 0,01$), pasteurized ($r = 0,838$, $p < 0,01$) and boiled ($r=0,449$, $p < 0,05$) milk samples.

Conclusion: It was determined that pasteurization process applied to goat milk did not change milk melatonin, total protein and vitamin C levels, and boiling process decreased total protein and vitamin C levels. Pasteurization was considered to be superior to the traditional boiling process in the bioavailability of goat milk. Before melatonin analysis was performed in milk by ELISA method, it was predicted that a pre-treatment of milk may be useful in order to separate melatonin from the protein it is bound to, thus may result in achieving more accurate results.

Key words: Bradford, Lowry, Milk melatonin, Total protein, Vitamin C

1.GİRİŞ

Süt, süt bezlerinden salgılanan, dişi memeli hayvanların yeni doğurdukları yavrularını besleyebilmek üzere, içinde yavrunun kendini besleyecek duruma gelinceye kadar almak zorunda olduğu bütün besin maddelerini yeterli miktarda bulunduran bir sıvıdır. Sütün yapısında protein, yağ, şeker gibi temel kimyasal bileşenler büyük miktarda yer alırken küçük miktardaki bileşenlerin de sütün özelliklerine önemli katkıları bulunmaktadır. Örneğin sütün içerdiği vitaminler ve mineraller, besin değeri açısından son derece önemlidir. İnsan beslenmesinde kullanılan keçi sütü, ortalama içerik bakımından inek sütüne benzerlik göstermekle birlikte, fizikokimyasal niteliklerindeki bazı farklılıklar nedeniyle inek sütünden daha değerli olarak düşünülmektedir. Bu özelliğiyle de bebekler, yaşlılar ve süt veren kadınların beslenmesinde kullanılmaktadır.

Melatonin, epifiz bezi tarafından salgılanan ve sentez ve salınımı ışık ile düzenlenen edilen bir hormondur. Vücut uykuda iken salgılanan daha fazla miktarda sentezlenen melatonin, tüm hücrelerin yenilenmesine, bağışıklık sisteminin güçlenmesine ve vücudun sirkadyen ritminin düzenlenmesine yardımcı olmaktadır. Melatonin, görevi biyolojik saatin düzenlenmesi olarak bilinen tek hormondur ve yaşlanma ile birlikte sentezi gittikçe azalan, güçlü bir antioksidandır. Yaşlılarda yüksek melatonin içeren inek sütünün uyku düzenini sağladığı bilinmektedir. Sütte de bulunan vitamin C, güçlü antioksidan etkileri ile bağışıklık sisteminin güçlenmesini ve organizmadaki serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlayan önemli vitaminlerden biridir. Sütler, fabrikasyon işlemleri ve ısıt işlemler sırasında besinsel düzeylerinde değişime maruz kalmaktadır. İşlenmiş inek sütlerindeki melatonin ve vitamin C düzeylerinin, çiğ süttekine göre daha düşük olduğu bilinmekle birlikte keçi sütünde ısıt işlemin melatonin ve vitamin C düzeylerine etkileri hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu kapsamda, sunulan proje ile keçi sütündeki melatonin ve vitamin C'nin ısıt işlem sonrasında biyodeğerliliği hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

2. TEMEL BİLGİLER

Süt, beslenme uzmanları tarafından temel gıda maddesi olarak kabul edilen, dişi memeli hayvanların yeni doğurdukları yavrularını besleyebilmek üzere, içinde yavrunun kendini besleyecek duruma gelinceye kadar almak zorunda olduğu bütün besin maddelerini yeterli miktarda bulunduran bir sıvıdır. Türk Standartları Enstitüsü (TSE) ve Türk Gıda Kodeksi sütü şu şekilde tanımlamıştır; Türk Standartları (TS) 1018 çiğ süt standardına göre: Süt; inek, koyun, keçi ve mandaların meme bezlerinden salgılanan, kendine özgü tat ve kıvamda olan, içine başka maddeler karıştırılmamış, içinden herhangi bir maddesi alınmamış, beyaz veya krem renkli sıvıdır (Cardinali ve Pevet, 1998; Ünal ve Besler, 2008). Türk Gıda Kodeksine göre: çiğ süt; bir veya daha fazla inek, keçi, koyun veya mandanın sağılmasıyla elde edilen, 40 °C'nin üzerinde ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısıdır (Catapano ve ark. 1992, Ünal ve Besler 2008).

Sütün biyokimyasal yapısı incelendiğinde yağ, protein ve şeker gibi makromoleküllerin makro düzeylerde (% gr düzeylerinde), vitaminler ve minerallerin de mikro düzeylerde bulunduğu görülmektedir. Bu makro ve mikromoleküller sütün besleyiciliği açısından oldukça önemlidir. Örneğin sütün içerdiği vitaminler ve mineraller besin değeri açısından önem taşır, taşıdığı enzimler çeşitli reaksiyonları katalize eder, bazı minör bileşenler sütün duyuşal niteliklerini etkiler. Laktoz, glikoz ve galaktozdan oluşan bir disakkarittir ve sütün tek karbonhidratıdır, beyin ve sinir gelişimi için önem taşımaktadır. Süt, aynı zamanda esansiyel amino asitleri ve yaşamsal önemi olan yağ asitlerini içerir. Sütte bulunan önemli bileşenler laktoz, süt yağı, kazein, laktoalbümin ve laktoglobülin (Gürsoy 2018).

2.1.Sütün Bazı Biyokimyasal Özellikleri

Sütün bileşimi, alındığı hayvanın türü, mevsim, beslenme durumu, fizyolojik durum gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterir. Sütün kimyasal bileşimi, besin değerini önemli ölçüde etkiler. Donma noktası, asitlik, özgül ağırlık, yoğunluk, kaynama noktası, yağ içeriği, yağsız kuru madde gibi değişkenler çiğ sütlerin özelliklerini belirlemektedir (Challet 2007, Ünal ve Besler 2008).

2.1.1. Donma Noktası

Süt, bileşiminde bulunan mineraller ve laktozdan dolayı, saf suya kıyasla daha düşük derecede; -0.55°C 'de donmaktadır. Minerallerin ve laktozun sütün donma noktasına etkisi %75 civarında iken, yağ ve proteinin etkisi göz ardı edilebilir (Ünal ve Besler 2008).

2.1.2. Özgül Ağırlık

Sütün özgül ağırlığı 15.5°C 'de 1 ml sütün gram cinsinden ağırlığıdır (Catapano ve ark. 1992, Ünal ve Besler 2008).

2.1.3. Asitlik Derecesi

Yeni sağılan taze ve sağlıklı süt asidik reaksiyon gösterir. Buna “ilk asitlik” veya “doğal asitlik” denir. İnek sütünün asitliği ortalama % 0.135-0.2 arasındadır. Sütün asitliğini, etki sırasında göre, kazein, fosfatlar, sitratlar, albümin ve ergimiş karbondioksit sağlar. Ayrıca hayvanın türü, ırkı, yaşı, laktasyon dönemi, geçirdiği hastalıklar ve süt bileşimi ilk asitlik üzerinde etkilidir (Ünal ve Besler 2008, Cos ve ark. 2008).

2.1.4. Kaynama Noktası

Sütün yapısında yer alan mineraller ve laktoz kaynama noktasını saf suya göre yükseltir. Sütün kaynama noktası mineraller ve laktozdan dolayı 100.16°C 'dir. Süte su eklenmesi kaynama noktasını düşürmekte ve donma noktasını yükseltmektedir. Süte soda eklendiğinde ise kaynama noktasını yükselirken, donma noktası düşmektedir (Anonymous 1994, Ünal ve Besler 2008).

İnek, koyun, keçi, deve ve manda gibi birçok hayvanın sütü insan için besinsel değer taşır. Ortalama % 88'i su olan inek sütü, 100'den fazla farklı bileşen içermektedir. Süt ve süt ürünleri; protein, yağ, laktoz, kalsiyum, fosfor, A vitamini, bazı B vitaminleri (özellikle riboflavin, B₁₂) için iyi bir kaynaktır (Ünal ve Besler 2008).

Türkiye'de gerek doğal, gerekse ticari olarak en yaygın olarak kullanılan süt inek sütüdür. 2010-2011 verilerine göre, Türkiye toplam süt üretiminin % 91.7'sini inek sütü, % 6'sını koyun sütü, % 2'sini keçi sütü ve % 0.3'nü manda sütü oluşturmaktadır (Atasever ve

Gülaç 2012). Kuru madde oranı % 10.5-14.5 aralığında olan inek sütünde, bu oranın %2.5-6.0'sını yağ, %3.6-5.5'ünü laktoz, %2.9-5.0'ini protein ve %0.6-0.9'unu mineral madde oluşturmaktadır (Üçüncü 2008). İnek sütünün pH değeri ise ortalama 6.7 (asitliği 6,5-7,5 SH)'dir (Ceylan ve ark. 2013). İnek sütünde bulunan toplam proteinin yaklaşık %80'i kazein, %20'si ise serum proteinlerinden oluşur. Süt proteinleri bütün esansiyel amino asitleri içermesi ve kolaylıkla sindirilebilmesi nedeniyle beslenme fizyolojisinde önemli bir yere sahiptir (Fox ve Mcweeney 2003).

2.2. Keçi Sütünün Bileşenleri

Ortalama bileşim bakımından inek sütüne benzerlik göstermekle birlikte, fizikokimyasal niteliklerindeki bazı farklılıklar nedeniyle, keçi sütü inek sütünden daha değerli olarak kabul edilmektedir. İnek sütüne göre daha yüksek oranda küçük çaplı yağ globülleri bulundurması ve süt proteinlerinin özellikle de α -kazeinin kalitatif ve kantitatif açıdan farklılıklar göstermesi, keçi sütünün daha kolay sindirilebilmesini sağlamaktadır. Bu özelliğiyle de bebekler, yaşlılar ve süt veren kadınların beslenmesinde üstünlükleri bulunmaktadır (Yılmaz 2017). Keçi sütünde temel olarak 5 protein tipi bulunur; bunlar α_2 -kazein, β -kazein, κ -kazein, β -laktoglobulin ve α -laktalbumindir. Majör protein fraksiyonu keçi sütünde β -kazein iken inek sütünde α_1 -kazeindir (Chandan ve ark. 1992). Keçi sütünün kazein miselleri inek sütününkinden daha az çözünür formdadır ve ısı karşısındaki dayanırlılığı inek sütünekinden göre daha azdır, diğer bir deyişle, ısı artışı ile β -kazein kaybı daha fazladır (Juarez ve Ramos 1986). Keçi sütü kısa ve orta zincirli tekli ve çoklu doymamış yağ asitlerince (kaproik, kaprilik, kaprik) zengindir. Bu bileşenler, emilim ve metabolizma bozuklukları, kolesterol sorunları ve yetersiz beslenme bulguları sergileyen hastaların beslenmesinde olumlu nitelikler taşımaktadır. Bu bileşenler aynı zamanda keçi sütünün kendine has ağır kokusuna da neden olmaktadır (Gürsoy 2018). Keçi sütünde insan sütüne göre daha yüksek miktarda esansiyel yağ asitleri bulunmakta, bu da emziren kadınlar açısından önem taşımaktadır. Taze keçi sütünün asitliği 6.4-10 SH, yoğunluğu 1.028-1.041 g/ml arasındadır (Yılmaz 2017).

Keçi sütünün rengi, karoten miktarının az, A vitamini miktarının yüksek olmasından dolayı inek sütüne göre daha açık beyazdır. Yağ globülleri küçük olduğundan kaymak bağlaması inek sütüne göre daha azdır. Bu özellikleri nedeniyle sindirim güçlüğü çekenler ve bebek beslenmesinde tercih edilir. Diğer yandan, keçi sütü B₁₂ vitamini ve demirce fakir olduğundan uzun süre keçi sütüyle beslenenlerde kansızlık görülebilir (Gürsoy 2018).

Ayrıca, keçi sütü vitamin C yönünden, inek sütü gibi fakirdir (Jenness 1980). Keçi sütü ve ürünlerinin endüstriyel ölçekte üretimini kısıtlayan başlıca faktör, laktasyon döneminin 6-7 ay arasında değişmesi ve bu nedenle üretimin mevsime bağımlılık göstermesidir.

Çizelge 2.1 : Farklı türlerin sütlerindeki kimyasal parametreler (Yılmaz, 2017)

Doğal sütlerin kimyasal parametreleri			
Biyokimyasal Parametreler (%)	İnek	Keçi	Koyun
Kuru madde	12,90±0,32	11,14±0,24 ^c	11,21±0,37 ^c
Yağsız kuru madde	9,29±0,20	8,06±0,20 ^c	8,06±0,16 ^c
Yağ	3,61±0,30	3,60±0,27	3,27±0,21
Protein	3,66±0,16	3,04±0,17 ^c	3,07±0,13 ^b
Laktoz	4,62±0,11	4,25±0,05 ^a	4,23±0,02 ^a
Kazein	2,80±0,12	2,58±0,18 ^a	2,48±0,11 ^a

İnek sütüne göre karşılaştırma a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

Keçi ve koyun sütü karşılaştırılması x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Çizelge 2.2 : Farklı türlerin sütlerindeki asitlik, yoğunluk, yağ ve yağsız kuru madde miktarları (Ünal ve Besler., 2008)

Özellikler	İnek sütü	Koyun sütü	Keçi sütü	Manda sütü
Asitlik (% SH)	6.2-8.9	9.0-12.0	6.4-10.0	6.7-10.0
Yoğunluk (g/cm ³)	1.028-1.038	1.030-1.045	1.028-1.041	1.027-1.040
Yağ (%)	3.0	5.0	3.5	6.0
Yağsız kuru madde (%)	8.0	10.0	8.5	9.0

Çizelge 2.3 : Çeşitli türlerde süt Ortalama Birleşenleri (%) (Gürsoy, 2018)

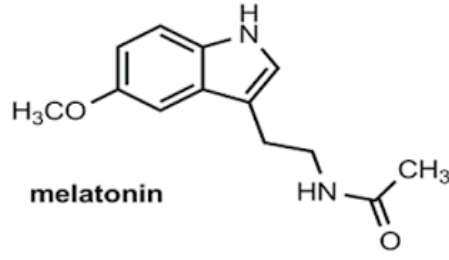
Süt Türü	Kurumadde	Süt yağı	Protein	Laktoz	Kül
İnsan	12.4	3.8	1.0	7.0	0.2
İnek	12.6	3.7	3.4	4.7	0.7
Manda	17.2	7.4	3.5	5.4	0.8
Koyun	19.3	7.4	5.5	4.8	1
Keçi	13.2	4.5	3.2	4.1	0.8
Kısırak	11.2	1.9	2.5	6.2	0.5
Deve	13.6	4.5	3.6	5	0.7
Fil	23.4	14.3	4.9	3.4	0.8
Eşek	12	1.8	2.5	6.1	0.5
Köpek	24.9	10.5	12.2	1.3	0.9
Ada tavşanı	30.6	10.5	15.5	2	2.6
Kedi	17.9	3.3	9.1	4.9	0.6
Fare	30.9	14.8	11.8	2.8	1.5
Domuz	20.5	8.8	7.3	3.3	1.1
Ren geyiği	33.3	16.9	11.5	2.8	1.4
Balina	37.5	22	12	1.8	1.7

Çizelge 2.4: Yağı alınmış (skimmed) keçi sütünde total protein, kazein ve peynir altı suyu protein düzeyleri (Rukke ve ark. 2010).

Constituent	Range	Average	S _{Tot}	S _{Ref}
Total protein	1.72–3.31	2.64	0.32	0.028
Casein	0.79–2.17	1.54	0.28	0.029
Whey protein	0.81–1.92	1.09	0.19	0.007

3. Melatonin

Melatonin, pineal bez (epifiz bezi) tarafından salgılanan bir hormondur (Özgüner ve ark. 1995). Pineal bez, elektriksel uyarıları hormonal uyarılara çeviren nöroendokrin bir fonksiyona sahiptir ve peptidler ve indolaminler olarak bilinen temel olarak iki grup endojen madde salgılamaktadır; indolaminlerden en önemlisi 232 molekül ağırlıklı N-asetil-5-metoksitriptamindir ve melatonin olarak isimlendirilir. Melatonin triptofan amino asidinden sentezlenen bir indol bileşiğidir (Baskett ve ark. 2001).



Şekil 2.1 : Melatonin hormonunun kimyasal yapısı

Melatoninin sentez ve salınmasını düzenleyen en önemli faktör ışıktır. Melatoninin pineal bez hücreleri tarafından salgılanması pinealosit hücrelerinin ışığa olan duyarlılığına bağlıdır; bu duyarlılık sonucu, ışıkla ortaya çıkan engellenme, karanlıkta ortadan kalkar ve melanositlerin melatonin salgılaması artar. Ortamın aydınlık veya karanlık olması, diğer bir ifade ile gece ve gündüz durumu melatonin sentez ve salınmasındaki temel etkindir. Kısaca, melatonin sentez ve salınımı karanlıkta artmakta, aydınlıkta ışık ile birlikte baskılanmaktadır (Özgüner ve ark. 1995).

Karanlıkta ve uykuda iken sentezlenen melatoninin hücre yenilenmesi, anti-aging, anti-kanserojen, bağışıklık sisteminin güçlenmesi gibi bir takım fonksiyonları bulunmaktadır. Tüm bu işlevlerde melatoninin büyük rolü olduğu düşünülmektedir. Ancak melatoninin asıl fonksiyonu jet-lag (eş zamanlama bozukluğu) olarak da bilinen biyolojik saatin ayarlanmasındaki bozukluğun giderilmesidir. Melatonin, görevi biyolojik saatin düzenlenmesi olarak bilinen tek hormondur. Melatoninin yeterli ve dengeli salgılanmaması sonucu oluşan jet-lag durumunda yorgunluk, iştahsızlık, uykusuzluk, huzursuzluk, hazımsızlık, zihinsel problemler, zaman algısında bozulma, yönelim bozukluğu, olaylara tepki verme zamanının uzaması ve nedensiz vücut ağrıları gözlenebilir. Herxheimer ve Petrie (2001) jet-lag'ın engellenmesi ve tedavisinde melatonin hormonunu önermişlerdir. Melatonin, bu etkileriyle bağlı olarak, uyku düzeninin kontrol eder. Melatoninin hormon düzenleme görevine ek olarak, bağışıklık sistemine de yardımcı olduğu gözlemlenmiştir. Bir araştırmada melatonin hormonunun lösemiye engellediği ve bu nedenle çocukların özellikle karanlık ortamda uyutulmasının önemli olduğu vurgulanmıştır (Poon ve ark. 1996).

Melatonin güçlü bir antioksidandır ve yaşla birlikte sentezi azalmaktadır. Bu azalmanın da yaşlanma olayının önemli bir sebebinin teşkil edebileceği kaydedilmiştir. Yaşlanma ile birlikte azalan melatonin üretiminin, yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogenezinde de önemli rolü olabileceği kaydedilmiştir. Yaşlanma ile artan uykusuzluk

belirtilerinin düşük melatonin düzeyleri ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Maksimovich 2002).

Kan plazmasında melatoninin büyük bölümünün proteinlere (albümine) bağlı (Cardinali ve ark. 1972) olarak bulunduğu, tükürük melatoninin ise serbest olduğu ayrıca tükürükteki serbest melatonin düzeylerinin, plazmadaki serbest melatonin düzeyleri ile orantılı olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda plazmadaki serbest melatonin düzeylerinin, total (bağlı ve serbest) melatonin düzeylerinin %23'ü kadar olduğu rapor edilmiştir (Kennaway ve Voultios 1998).

Melatoninin sentezinde görev aldığı bilinen hidroksiindol-O-metiltransferaz'ın pineal bez dışındaki organlarda bulunması, melatonin sentezinin pineal bez dışında da gerçekleştiğini düşündürmüştür. Ratlarda yapılan bir çalışmada, Harder bezinin melatonin salgıladığı ve bu salgılanmanın yaşa ve gece-gündüz periyoduna bağlı olarak değiştiği saptanmıştır. Harder bezi dışında, lakrimal bez, retina, eritrositler, trombositler ve gastrointestinal sistemdeki bazı hücrelerin de melatonin sentezlediği bildirilmiştir. Ancak bu sentezlenen miktarın kan dolaşımındaki melatonin düzeyine katkısı çok küçüktür (Cardinali ve Pevet 1998).

Fotoperiyodik olarak çok büyük oranda pineal bezden sentezlenen melatonin hormonunun insan, inek ve keçi sütünde varlığı (5-25 pg/ml) ortaya konulmuştur (Eriksson ve ark. 1998, Valtonen ve ark. 2005). İneklerde, melatoninin sütteki konsantrasyonu, serum konsantrasyonu ile paralel olarak, en yüksek gece, en düşük öğle saatlerinde olmak üzere diüurnal bir seyir izler. Bu nedenle gece sağılan sütler (gece 2-4 arası), gündüz sağılan sütlere oranla daha yüksek melatonin içermektedir (Milagres ve ark. 2014). İnek sütündeki melatonin düzeylerinin gece boyunca sentezlenen sütte 10-40 pg/mL olduğu ve yüksek melatonin seviyeli gece sütü tüketen yaşlı kişilerin uyku düzeninin iyileştiği rapor edilmiştir (Valtonen ve ark. 2005). Keçi sütünde de inek sütüne benzer şekilde süt melatonin düzeyleri kan melatonin düzeyleri ile paralel bir seyir izlemekte ayrıca, parenteral melatonin uygulamasından 15-30 dk sonra, süt melatonin düzeyleri yükselmektedir (Erickson ve ark. 1998).

Vitamin C birçok memeli hayvanın (geviş getirenler de dahil) karaciğerinde glikozdan sentezlenen 6 karbonlu bir laktondur. İnsanlarda vitamin C sentezi, gulonolakton oksidaz enzimi bulunmadığı için yapılamamaktadır ve insanlar vitamin C'yi dış kaynaklardan temin etmek zorundadır (Nishikimi ve Yagi. 1996). Vitamin C, bir elektron

vericisi olarak, redükleyici bir ajandır ve organizmada sulu ortamın önemli antioksidanlarından. Sütte bulunan vitamin C'nin insan beslenmesinde rolü vardır. Ne yazık ki inek ve keçi sütü vitamin C yönünden fakirdir (Jenness, 1980). İnek sütünde vitamin C düzeyleri 1,5-2,2 mg/100 ml (Weiss ve ark. 2004) düzeylerinde iken, keçi sütünde 0,9-6,4 mg/100 ml (Lavigne ve ark. 1989, Sawaya ve ark. 1994, Guo 2003, Getaneh ve ark. 2016) olarak bildirilmiştir.

Sütler, fabrikasyon işlemleri sırasında besinsel düzeylerinde değişime maruz kalmaktadır ancak, keçi sütüne uygulanan ısı işlemler sonrasında (ticari olarak satılan UHT sütlerde) doğal keçi sütündeki kuru madde, yağsız kuru madde, yağ, protein, laktoz ve kazein düzeylerinde bir değişim gözlenmezken, inek sütünde anılan parametrelerin tamamında istatistiksel olarak önemli düzeyde düşmeler olduğu bildirilmiştir (Yılmaz 2017). Diğer yandan keçi sütünün kazein miselleri inek sütününkinden daha az çözünür formdadır ve ısı karşısındaki dayanırlılığı daha azdır, ısı artışı ile β -kazein kaybı inek sütüne göre daha fazladır (Juarez ve Ramos 1986).

Çizelge 2. 5: Doğal keçi sütü ile ticari keçi sütlerinin (UHT) kimyasal parametrelerinin karşılaştırılması (Yılmaz 2017).

Biyokimyasal Parametreler	Keçi	Ticari tam yağlı keçi sütü
Kuru madde	11,14±0,24	11,35±0,10
Yağsız kuru madde	8,06±0,20	7,92±0,37
Yağ	3,60±0,27	3,32±0,44
Protein	3,04±0,17	2,94±0,02
Laktoz	4,25±0,05	4,01±0,34
Kazein	2,58±0,18	2,15±0,06

Çizelge 2.6: Doğal inek sütü ile ticari inek sütlerinin kimyasal parametrelerinin karşılaştırılması (Yılmaz 2017).

Biyokimyasal Parametreler	Doğal inek sütü	Tam yağlı inek sütü	Yarım yağlı inek sütü	Tam yağlı muzlu inek sütü	Tam yağlı çilekli inek sütü
Kuru madde	12,90±0,32	10,92±0,25 ^c	9,98±0,31 ^c	13,39±0,63	14,50±0,48 ^b
Yağsız kuru madde	9,29±0,20	7,49±0,19 ^c	7,90±0,38 ^c	8,61±0,31 ^a	9,47±0,22
Yağ	3,61±0,30	2,99±0,01 ^a	1,57±0,02 ^c	2,14±0,10 ^c	2,27±0,07 ^c
Protein	3,66±0,16	2,71±0,07 ^c	2,73±0,06 ^c	2,66±0,10 ^c	2,84±0,05 ^c
Laktoz	4,62±0,11	4,00±0,10 ^b	4,01±0,22 ^b	6,96±0,19 ^c	7,27±0,34 ^c
Kazein	2,80±0,12	1,99±0,07 ^c	2,21±0,13 ^a	3,14±0,22	3,43±0,12 ^b

Doğal inek sütüne göre karşılaştırma a:p<0.05, b:p<0.01, c:p<0.001

Isıl işlem uygulanmış inek sütlerindeki melatonin düzeylerinin, çiğ süttekine göre daha düşük olduğu bildirilmiştir; çiğ sütteki (sabah erken sağılan) melatonin düzeyi 13,6 pg/ml iken, ultra pastörizasyon, mikrofiltre edilmiş, yüksek ısıda kısa süre pastörize edilmiş ve UHT uygulanmış sütlerde sırasıyla 7,0, 6,5, 7,6 ve 4,5 pg/ml düzeylerindedir (Schaper ve ark. 2015). Keçi sütlerinde, ısıl işlem sonrasında, melatonin düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Vitamin C oksidasyona oldukça duyarlı bir vitamin olduğundan ısıl işlemlerle yapısının bozulduğu bilinmektedir. İnsan, inek, deve ve keçi sütünde pastörizasyon ve diğer ısıl işlemler sonrasında belli oranlarda vitamin C düzeylerinde azalmalar bildirilmiştir (Lavigne ve ark. 1989, Mehaia 1994, Molto-Puigmarti ve ark. 2011). Lavigne ve ark. (1989), 76 °C’de 16 sn, 81 °C’de 16 sn, 85 °C’de 4 sn, 63 °C’de 30 dk ve 135 °C’de 4 saniye (sn) boyunca uyguladıkları ısıl işlem sonrasında keçi sütünde vitamin C düzeylerinin sırasıyla %5, %10, %25, %40 ve %30 oranlarında azaldığını bildirmişlerdir. Geleneksel kaynatma yönteminin keçi sütü vitamin C düzeylerine etkisiyle ilgili bir çalışmaya rastlanılmadığından sunulan çalışmada pastörizasyon ısısına ek olarak 100 °C’de 5 dakika (dk) ısıl işlem uygulamasının etkileri araştırıldı. Ayrıca antioksidan bir vitamin olan vitamin C’nin melatonin ile ilişkisinin, ısıl işlem öncesinde ve sonrasında araştırılmasının önemli olduğu düşüncesindeyiz.

AMAÇ

Sunulan proje ile keçi sütüne uygulanan pastörizasyon (72 °C’de 15 sn) ve geleneksel olarak evlerde uygulanan kaynatma işleminin (100 °C’de 5 dk) süt melatonin ve vitamin C düzeylerine etkileri araştırıldı ve ilgili parametreler arasındaki korelasyon belirlendi. Böylelikle değerli bir süt olan keçi sütünün melatonin ve vitamin C yönünden ısıl işlem sonrasında bir kayba uğrayıp uğramadığının belirlenmesi ve antioksidan etkinliğini koruyup korumadığının belirlenmesi amaçlandı.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Antakya ilçesinde bulunan özel bir keçi çiftliğinden, nisan ayında, aynı bakım beslemeye tabi tutulan, 1-4 yaşlı, sağlıklı, 20 adet keçiden (10 Halep, 10 Kilis keçisi), süt örnekleri toplandı. Sütler (20’şer ml), hayvan sahibinin sabah meradan dönen (10:30-11:00 arasında) keçilerden süt sağımı yaptığı sırada temin edildi. Sütler klinik olarak sağlıklı görünen memelerin sağ lobundan alındı; sağım yapılırken, meme başı %70’lik alkollü pamuk ile silindikten sonra ilk 2-3 sıkım süt atıldı ve 50 ml’lik steril falkon tüplere 20 ml’şer ml süt örnekleri alındı. Toplanan süt örnekleri soğuk zincirde biyokimya laboratuvarına getirildi ve uygulamalara kadar -20 °C’de saklandı.

3.2. Yöntem

Analiz ve uygulamalar için çözündürülen sütlerden her bir numunenin 5 ml’si çiğ süt olarak ayrıldı, aynı süt örneklerine (5 ml) laboratuvarında pastörizasyon işlemi (72 °C’de 15 sn, Anonim 1) uygulandı. Bu amaçla sütler, ısıya dayanıklı cam tüpler içerisinde, bir tüp sporu üzerinde, ben-mari’ye yerleştirildi. Dijital termometre (Testo SE&Co.KGaA, Türkiye) ile sütlerin iç ısı 72 °C’ye yükseldiğinde 15 sn bekletilerek sütler hemen buz içerisinde 6 °C’ye soğutuldu. Yine aynı süt örneklerine (5 ml) kaynatma işlemi (100 °C’de 5 dk) uygulandı (Metwally ve ark. 2011). Bu amaçla ısıya dayanıklı cam tüplerdeki süt örnekleri, su ısı 100 °C olan, ben-mari içerisinde (süt iç ısı 90° C) 5 dk bekletildikten sonra hemen buz içerisinde 6 °C’ye soğutuldu.

Süt Melatonin Düzeylerinin Analizi:

Süt melatonin düzeylerinin analizi Milagres ve ark. (2014)’nın inek sütü için modifiye ettiği insan direkt tükürük melatonin ELISA kiti (RE54041, IBL International,

Almanya) ile gerçekleştirildi. Sütler 5400 rpm x 15 dk x +4° C’de santrifüj edildi ve üstteki yağlı tabaka uzaklaştırıldı. Geriye kalan süt serumu kit prosedürüne göre analizlendi (Milagres ve ark. 2014). Örnekleme öncesinde süt serumu örnekleri 4 kat sulandırıldı.

Prosedür:

- 1- Mikropleyt kuyucuklarına örnek ve standartlardan 100’er µl eklendi.
- 2- Her kuyucuğa 50 µl antiserum solüsyonu eklendi. Kuyucukların üzeri jelatin bant ile tamamen kapatıldı ve mikropleyt alüminyum folyoya sarılarak shakerda karıştırıldı.
- 3- Mikropleyt buz dolabında (+4° ile +8 °C’de) 16 saat inkübasyona bırakıldı.
- 4- Kuyucuklar, içeriği boşaltıldıktan sonra, Wash Buffer ile 4 kez yıkandı ve pleyt kurutma kağıdına ters çevrilerek, içerisi sıvıdan tamamen boşaltıldı.
- 5- Kuyucuklara 100 µl Biyotin solüsyonu eklendi ve kuyucukların üzeri jelatin bant ile tamamen kapatıldı ve mikropleyt alüminyum folyoya sarılarak shakerda karıştırıldı.
- 6- Mikropleyt oda ısısında, 2 saat süreyle shaker üzerinde inkübe edildi.
- 7- Kuyucuklar, içeriği boşaltıldıktan sonra, Wash Buffer ile 4 kez yıkandı ve pleyt kurutma kağıdına ters çevrilerek, içerisi sıvıdan tamamen boşaltıldı.
- 8- Kuyucuklara 100 µl Enzim Konjugatı eklendi ve kuyucukların üzeri jelatin bant ile tamamen kapatıldı ve mikropleyt alüminyum folyoya sarılarak shakerda karıştırıldı.
- 9- Mikropleyt oda ısısında, 1 saat süreyle shaker üzerinde inkübe edildi.
- 10- Kuyucuklar, içeriği boşaltıldıktan sonra, Wash Buffer ile 4 kez yıkandı ve pleyt kurutma kağıdına ters çevrilerek, içerisi sıvıdan tamamen boşaltıldı.
- 11- Kuyucuklara 100 µl TMB substrat solusyonu eklendi ve kuyucukların üzeri jelatin bant ile tamamen kapatıldı ve mikropleyt alüminyum folyoya sarılarak shakerda karıştırıldı.
- 12- Mikropleyt oda ısısında, 15 dk süreyle shaker üzerinde inkübe edildi.
- 13- Kuyucuklara 100 µl TMB stop solusyonu eklendi ve dikkatlice karıştırıldı. Renk maviden sarıya dönüştü.
- 14- İlk 5 dk içerisinde kuyucuklardaki optik dansite, ELISA reader cihazında 450 nm’de belirlendi.

Numune sonuçları standart eğri üzerinden hesaplandı. Başlangıçta numuneler 4 kat sulandırıldığı için sonuçlar 4 ile çarpıldı ve düzeyler pg/ml olarak verildi.

Süt Vitamin C düzeylerinin Analizi:

Süt vitamin C düzeyleri, Haag (1985)'ın manuel spektrofotometrik metoduna göre yapıldı.

Prensip: Askorbik asit (Vitamin C) hafif oksitleyici etkenlerle dehidro askorbikasite dönüşür, dehidro askorbik asit hafif asit solüsyonlarda yavaş bir şekilde diketogulonikasite dönüşür. Dehidro askorbik asit ve diketogulonik asit, 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile reaksiyona girerek bis 2,4-dinitrofenilhidrazonu oluşturur.

Kullanılan kimyasallar:

- 1- Triklor asetik asit (TCA) çözeltisi: (Merck 810) %6'lık.
- 2- H₂SO₄ Çözeltileri (Merck 1830): 4,5 Molar ve 12 Molar
- 3- Tioüre Çözeltisi (Merck 7978): %5'lik
- 4- CuSO₄ Çözeltisi (Merck 2787): %0,6'lık
- 5- Temel Çözelti: 2 g dinitrofenil hidrazin (DNPH, Merck 803080) 100 ml 4,5 Molar H₂SO₄ çözeltisi içinde çözündürülür, +4° C'de 1 gece bekletilerek filtre edilir.
- 6- Renk reaktifi: Temel çözelti, %5 Tioüre ve %0,6 CuSO₄ Çözeltileri 100/5/5 birim hacimlerde birleştirilir.

Standart Hazırlama: Vitamin C stokundan (A5960, Sigma) 10 mg tartıldı ve 50 ml %6'lık TCA'da çözündürüldü. Böylelikle 200 µg/ml vitamin C standardı oluşturuldu. Bu stoktan 2 kat sulandırmalar ile 200, 100, 50, 25, 12,5 µg/ml konsantrasyonunda vitamin C standartları elde edildi.

Daha önce 5400 rpm x 15 dk x +4° C'de santrifüj edilen ve yağı uzaklaştırılmış olan süt serumu örnekleri, triklor asetik asitle (TCA) 1/1 oranında sulandırılarak vortekslendi ve 4100 rpm x 10 dk x +4° C'de santrifüj edilerek üstteki süpernatant alınarak prosedürde kullanıldı.

Prosedür:

- 1- Mikropleyt kuyucuklarına örnek, standart ve blankdan (distile su) 50 µl eklendi.
- 2- Her kuyucuğa %6 TCA'dan 50 µl eklendi ve karıştırıldı.
- 3- Her kuyucuğa Renk reaktifinden 20 µl eklendi ve karıştırıldı.
- 4- Mikropleytin üzeri jelatin bantla sıkıca kapatıldı, karıştırıldı ve 38°C'de 4 saat inkübe edildi.
- 5- Her kuyucuğa 12 M H₂SO₄'den 100 µl eklendi.

6-İlk 5 dk içerisinde kuyucuklardaki optik dansite, ELISA reader cihazında 520 nm’de belirlendi.

Numune sonuçları standart eğri üzerinden hesaplandı. Başlangıçta numuneler TCA ile 2 kat sulandırılmış olduğundan sonuçlar 2 ile çarpıldı. Sonuçlar mg/100 ml olarak verildi.

Total Protein Düzeylerinin Analizi:

Total protein düzeyleri iki farklı prensibe dayanan 2 yöntemle belirlendi.

Lowry Yöntemi (Lowry ve ark. 1951)

Prensip: Alkali ortamda Cu^{+2} , proteinin yapısını oluşturan peptit bağlarıyla birleşerek Cu^{+1} ’e indirgenir ve biüret kompleksini oluşturur. Daha sonra, Folin ve Ciocalteu’nun fenol reaktifi ilave edilir ve fosfotungstik ve fosfomolibdik asitlerin indirgenmesiyle molibdenyum mavisi ve tungsten mavisi renkleri meydana gelir. Oluşan renkli kompleksin 700 nm’deki optik dansitesi, spektrofotometrede (UV 2100 UV–VIS Recording Spectrophotometer Shimadzu, Japonya) ölçülerek protein düzeyleri belirlenir.

Prosedür:

Bu amaçla, numune ve standart tüplerine 10 µl süt ve standart çözeltisi eklendi. Kör tüpüne 10 µl distile su eklendi. Çalışma reaktifi hazırlamak için; 0.1 N NaOH’te (Merck 1,06462) % 2’lik Na_2CO_3 (Merck 1,06392) çözeltisi hazırlandı, bu çözelti daha sonra % 1’lik CuSO_4 çözeltisi (Carlo Erba UN3077) ve % 2’lik Na-K tartarat çözeltisi (Carlo Erba 474117) ile 98/1/1(v) oranında karıştırıldı. Tüplere çalışma reaktifinden 2,5 ml eklendi. Tüpler vortekslendi ve 25°C’de 10 dk bekletildi. Tüplere, hacimsel olarak 1/1 oranda distile su ile hazırlanan Folin-Ciocalteu’s reaktifinden (Carla Erba UN3264) 0,25 ml eklendi. Tüpler karıştırıldı ve 25°C’de 30 dk bekletildikten sonra, absorbanslar spektrofotometrede 700 nm’de köre karşı okundu.

Sığır serum albümini (Sigma-A2153) standart olarak kullanıldı ve protein düzeyleri, standart ile çizilen absorbans-konsantrasyon grafiği üzerinden hesaplandı. Düzeyler g/dl olarak verildi.

Bradford Yöntemi (Bradford 1976)

Prensip: Coomassie brilliant blue G250 boyası (Sigma 27815), negatif bir yüke sahiptir ve protein üzerindeki amino asitlerin pozitif yüküne bağlanır (Bradford, 1976).

Oluşan renkli kompleksin 595 nm'deki optik dansitesi spektrofotometrede ölçülerek, protein düzeyleri belirlenir.

Prosedür:

40 mg Coomassie Brilliant blue G250, 50 ml % 95'lik etanolde çözüldükten sonra, üzerine 55 ml % 85'lik fosforik asit (Sigma 79617) eklendi. Son hacim bidistile su ile 1 L'ye tamamlandı. Hazırlanan reaktiften her bir örnek, standart ve kör tüpüne 1 ml eklendi. Reaktifin üzerine örnek ve standartlardan 20'şer µl eklendi. Kör tüpü için 20 µl bidistile su kullanıldı. Tüpler karıştırılıp 10 dk oda ısısında bekletildikten sonra 595 nm'de spektrofotometre ile absorbans ölçümleri yapıldı.

Sığır serum albümini standart olarak kullanıldı ve protein düzeyleri, standart ile çizilen absorbans-konsantrasyon grafiği üzerinden hesaplandı. Düzeyler g/100 ml olarak verildi.

İstatistik:

Elde edilen değerler SPSS 15.0 programında ANOVA ile değerlendirilerek, gruplararası farklılıklar post-hoc Duncan testi ile ortaya konuldu. Bradford ve Lowry metodları ile belirlenen total protein düzeyleri arasındaki ilişkiler student's t-testi ile belirlendi. Korelasyon analizleri, veriler normal dağılım gösterdiğinden, Pierson testi ile yapıldı. $p < 0.05$ önem düzeyinde önemli kabul edildi.

4.BULGULAR

Çiğ süt ile pastörizasyon ve kaynatma ısı işlemi uygulanan sütlerde melatonin, vitamin C ve total protein düzeyleri Çizelge 4.1’de sunuldu. Kaynatma işlemi uygulanan süt örneklerinde melatonin düzeyleri ($4,20 \pm 0,39$ pg/ml), çiğ süt örneklerine ($3,19 \pm 0,25$ pg/ml) kıyasla yükseldi ($p < 0,05$). Vitamin C düzeyleri incelendiğinde kaynatma ile elde edilen düzeyler ($20,29 \pm 1,24$ µg/ml), hem çiğ süt ($31,79 \pm 2,37$ pg/ml) hem de pastörize süt düzeylerinden ($29,87 \pm 1,59$ µg/ml) düşük ($p < 0,001$) olarak saptandı. Total protein düzeyleri değerlendirildiğinde, Bradford yöntemi ile gruplar arasında bir farklılık yok iken Lowry yöntemi ile belirlenen düzeyler kaynatma uygulanan grupta diğer gruplara göre önemli düzeyde düştü ($p < 0,001$). Çiğ süt ve pastörize sütteki total protein düzeyleri Bradford yöntemi ve Lowry yöntemi ile belirlenen düzeyler açısından birbiri ile yakın bulundu ($p > 0,05$). Kaynatma uygulanan gruplarda ise Bradford yöntemi ile belirlenen düzeyler ($2,26 \pm 0,13$ g/dl), Lowry medodu ile belirlenen düzeylerden ($1,92 \pm 0,09$ g/dl) yüksek olarak belirlendi ($p < 0,05$).

Çizelge 4. 1: Çiğ süt ile pastörizasyon ve kaynatma ısı işlemi uygulanan sütlerde melatonin, vitamin C ve total protein düzeyleri (Ortalama±Standart hata) (n=20)

Süt Numuneleri	Melatonin pg/ml	Vitamin C mg/100 ml	Total Protein Bradford g/dl	Total Protein Lowry g/dl	p
Çiğ süt	$3,19 \pm 0,25^b$	$3,18 \pm 0,24^a$	$2,33 \pm 0,07$	$2,32 \pm 0,07^a$	-
Pastörizasyon	$3,42 \pm 0,24^{ab}$	$2,99 \pm 0,16^a$	$2,27 \pm 0,10$	$2,28 \pm 0,05^a$	-
Kaynatma	$4,20 \pm 0,39^a$	$2,03 \pm 0,12^b$	$2,26 \pm 0,13^A$	$1,92 \pm 0,09^{bB}$	$< 0,05$
p	$< 0,05$	$< 0,001$	-	$< 0,001$	

Aynı sütunda olan küçük harfler istatistiki farklılığı gösterir. Aynı satırdaki büyük harfler Bradford ve Lowry metodu ile ölçülen total protein düzeylerinin farklılığını gösterir.

Çiğ süt, pastörizasyon ve kaynatma ısı işlemi uygulanan sütlerde ilgili biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar çizelge 4.2, 4.3 ve 4.4.’de sunuldu. Çiğ süt örneklerinde Bradford metodu ile Lowry metodu kullanılarak belirlenen total protein düzeyleri arasında yüksek pozitif korelasyon belirlendi ($r=0,723$, $p < 0,01$). Pastörizasyon uygulanan süt örneklerinde melatonin ve vitamin C düzeyleri arasında zayıf negatif ($r=-0,114$, $p < 0,05$) korelasyon, Bradford metodu ile Lowry metodu kullanılarak belirlenen total protein düzeyleri arasında yüksek pozitif korelasyon belirlendi ($r=0,838$, $p < 0,01$). Kaynatma işlemi uygulanan sütlerde melatonin ile vitamin C arasında negatif ($r=-0,572$, $p < 0,01$), vitamin C ile Bradford yöntemi ile belirlenen total protein düzeyleri arasında düşük pozitif

($r=0,487$, $p<0,05$) korelasyonlar belirlendi. Bradford metodu ile Lowry metodu kullanılarak belirlenen total protein düzeyleri arasında, diğer uygulamalara göre kıyaslandığında, zayıf pozitif korelasyon belirlendi ($r=0,449$, $p<0,05$).

Çizelge 4. 2: Çiğ sütlerde biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar (r , Pierson's test, $n=20$)

Çiğ Süt	Vitamin C $\mu\text{g/ml}$	Total Protein Bradford g/dl	Total Protein Lowry g/dl
Melatonin pg/ml	-0,101	0,270	0,264
Vitamin C $\mu\text{g/ml}$		0,290	0,212
Total Protein Bradford g/dl			0,723**

** $p<0,01$

Çizelge 4.3: Pastörizasyon işlemi uygulanan sütlerde biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar (r , Pierson's test, $n=20$)

Pastörize Süt	Vitamin C $\mu\text{g/ml}$	Total Protein Bradford g/dl	Total Protein Lowry g/dl
Melatonin pg/ml	-0,114*	0,321	0,218
Vitamin C $\mu\text{g/ml}$		0,140	,393
Total Protein Bradford g/dl			0,838**

** $p<0,01$

Çizelge 4.4: Kaynatma işlemi uygulanan sütlerde biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar (r , Pierson's test, $n=20$)

Kaynatma	Vitamin C $\mu\text{g/ml}$	Total Protein Bradford g/dl	Total Protein Lowry g/dl
Melatonin pg/ml	-0,572**	-,077	-0,026
Vitamin C $\mu\text{g/ml}$		0,487*	0,049
Total Protein Bradford g/dl			0,449*

* $p<0,05$

** $p<0,01$

5.TARTIŞMA

Isıl işlem uygulamalarının süt bileşenlerinde bir takım değişikliklere neden olduğu bilinmektedir. Süte uygulanan ısı işlemler sonrasında sütte bulunan proteinlerin konformasyonlarının değiştiği ve böylece proteinlerin denatürasyona ve/veya agregasyona uğradıkları bildirilmektedir (Jimenez-Saiz ve ark. 2015, Lamberti ve ark. 2018). Keçi sütünde temel olarak 5 protein tipi bulunur; bunlar α 2-kazein, β -kazein, κ -kazein, β -laktoglobulin ve α -laktalbumindir. Majör protein fraksiyonu keçi sütünde β -kazein iken inek sütünde bu, α 1-kazeindir (Chandan ve ark. 1992). Keçi sütünün kazein miselleri inek sütününkinden daha az çözünür formdadır ve ısı karşısındaki dayanırlılığı daha azdır, dolayısı ile ısı artışı ile β -kazein kaybı daha fazladır (Juarez ve Ramos 1986). Günümüzde geleneksel kaynatma yönteminin süt proteinleri içeriği ve konformasyonel değişimi hakkında sınırlı veri bulunmaktadır: proteinlerin 55-70°C’de ikincil yapılarının bozulduğu, 70-80°C’de disülfid bağlarının koptuğu, 80-90°C’de yeni intra- ve inter-moleküler bağların kurulduğu ve 90-100°C’de agregatların oluştuğu bildirilmektedir (Wal 2003).

İnek sütünde, aynı süt örnekleri üzerine geleneksel kaynatma (98°C’de 16 dk) ve mikrodalga yöntemi ile ısı işlem uygulaması sonucunda, tek yönlü elektroforezde whey protein (α - laktalbumin) bantlarının zayıfladığı, β - laktoglobulin bantlarının ise neredeyse kaybolduğu belirlenmiştir (Lamberti ve ark. 2018). Bloom ve ark., (2014) da 20 dk’dan uzun kaynatma işlemi uyguladıkları inek sütünde α - laktalbumin ve β - laktoglobulinin yüksek molekül ağırlıklı agregatlarının olduğunu bildirmişlerdir. Yılmaz, (2017) taze keçi sütü ile marketlerde satılan ticari UHT keçi sütlerini karşılaştırdığı çalışmasında keçi sütü total protein düzeylerinin taze süt (% 3,04 $\pm$ 0,17) ve ticari sütlerde (% 2,94 $\pm$ 0,02) istatistiksel olarak farklı olmadığını bildirmiştir. Taze inek sütünde ise protein düzeyleri % 3,66 $\pm$ 0,16 iken, ticari inek sütünde bu değer % 2,71 $\pm$ 0,07 olarak belirlenmiş ve istatistiki olarak düşük olduğu rapor edilmiştir. Yılmaz (2017) çalışmasında süt protein düzeylerini belirlemek için FOSS MilkoScanTM FT-120 (Foss electric, Denmark) cihazını kullanmıştır. Taze ve pastörize keçi sütünde formol titrasyon testi ile belirlenen total protein düzeyleri 2,90 g/dl, 63 °C’de 30 dk ısı işlem uygulanmış ve yağı ve hücreleri alınmış (9800 rpm x 4 °C x 15 dk) sütte 2,63 g/dl olarak bildirilmiştir (Paz ve ark. 2014). Diğer yandan Moreno-Montoro ve ark. (2015), Kjeldahl metodu ile belirledikleri keçi sütü total protein düzeylerini çiğ sütte 3.62 $\pm$ 0.19 g/100 g, santrifüj edilmiş çiğ sütte 4.10 $\pm$ 0.33 g/100 g olarak bildirmişlerdir.

Rukke ve ark. (2010) da santrifüj ettikleri ve yağını aldıkları çiğ keçi sütünde Kjeldahl metoduna göre belirledikleri total protein düzeylerini 1.72-3.31g/100 g olarak bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada 5400 rpm x 15 dk x +4°C’de santrifüj edilerek hem yağ hem de süt hücrelerinden ayrımlanan süt örneklerinde Bradford yöntemi ile belirlenen total protein düzeyleri $2,33 \pm 0,07$ g/100 ml, Lowry metodu ile belirlenen total protein düzeyleri $2,32 \pm 0,07$ g/100 ml olarak belirlendi. Düzeylerin, Rukke ve ark. (2010)’nın bildirdiği düzeyler arasında olduğu, diğer araştırmacıların bildirdiği düzeylerden ise biraz düşük olduğu görüldü. Keçi sütü (her hangi bir işlem uygulanmamış) total protein düzeyleri literatürde farklı ülkelerde ve farklı keçi ırklarında 3.28 % (Sawaya ve ark. 1984) ile 4.0 % (Quiles ve ark. 1984) aralığında bildirilmektedir. Elde edilen farklı sonuçlar, protein analiz metodlarının farklılığı, keçi ırklarının farklılığı, bölgesel farklılık, süt alımının yılın farklı zamanlarında gerçekleştirilmesi gibi nedenlerden kaynaklanabilir.

Sunulan çalışmada Bradford yöntemi ile belirlenen total protein düzeyleri ısıtma işlem uygulamaları ile değişim göstermezken, Lowry yöntemi ile belirlenen total protein düzeyleri 5 dk süreyle kaynatma uygulanan sütlerde, diğer gruplara göre önemli düzeyde düşük olarak belirlendi. İki metodun çalışma prensipleri dikkate alındığında: Bradford yönteminde Commassiebrillat blue (Commassie blue G250) anyonunun proteinler üzerinde bulunan NH_3^+ katyonik grubuna bağlandığı, polilizin, poliarjinin, politirozin, polihistinin peptidleri, arjinin, histidin gibi bazı amino asitler ve bazı di ve tri-peptidlerle bağlanarak renk verdiği bildirilmiştir (De Moreno ve ark. 1986). Lowry metodunda ise Biüret ve Folin reaksiyonu sonucu, Cu^+ iyonları proteinlerde bulunan peptid bağlarına bağlanmaktadır (Lowry ve ark. 1951). Amino asit düzeyi arttıkça Folin reaksiyonunda meydana gelen rengin, proteinlere göre azaldığı da bildirilmiştir (Andersch ve ark. 1933). Dolayısı ile sunulan projede, keçi sütü proteinlerinin 5 dk kaynatma işlemi sonucunda peptid bağlarının sayısının azaldığı ve böylece Lowry yöntemi ile belirlenen total protein düzeylerinin düştüğü sonucuna varılabilir. Sütlerde, özellikle ısıtma işlem uygulaması sonrasında protein düzeylerinin belirlenmesi amacıyla ‘total nitrojen düzeylerinin belirlenmesinin’ daha hassas ve net sonuçlar vereceği öngörülmektedir.

Melatonin, sirkadyen ritim üzerine etkili, antioksidan (Maksimovich 2002), antikanser (Dullo ve Chaudhary 2009) özellikleri bulunan bir hormondur. Melatonin sentez ve salınımı karanlıkta artmakta, aydınlıkta ışık ile birlikte baskılanmaktadır (Özgüner ve ark. 1995). Özellikle gece saat 23:00–05:00 sıralarında melatonin salgılanması en yüksek

seviyeye ulaşır; hücre içinde ve kandaki konsantrasyonu gündüze nazaran 3-10 kat artar (Claustrat ve ark. 2005). Fotoperiyodik olarak pineal bezden sentezlenen melatonin hormonunun insan, inek ve keçi sütünde varlığı ve düzeyleri (5-25 pg/ml) ortaya konulmuştur (Eriksson ve ark. 1998, Valtonen ve ark. 2005). Melatoninin sütteki konsantrasyonu, serum konsantrasyonu ile paralel olarak diüurnal bir seyir izlemektedir; en yüksek konsantrasyon gece, en düşük konsantrasyon öğle saatlerindedir. Bu nedenle gece saatlerinde sağılan sütler (gece 2-4 arası), gündüz sağılan sütlere oranla daha yüksek melatonin içermektedir (Milagres ve ark. 2014). Melatonin düzeyi yüksek gece sütünün kristalleştirilmesi ile elde edilen ve normal süt melatonin düzeylerinin 100 katı daha fazla melatonin içeren preparatlar özellikle uyku sorunu çeken bireyler için ticari amaçlı satılmaktadır (Anonim 2). Sunulan çalışmada gündüz saatlerinde mera dönüşünde alınan keçi sütü melatonin düzeyleri, ineklerde gündüz sütünde bildirilen değerlere yakın çıkmıştır. Yüksek melatonin içeren sütlerin elde edilebilmesi için özellikle sabah 03:00-04:00 saatlerinde sağılan sütlerin temini gerekmektedir. Bu anlamda sabah 10:00 ve akşamüzeri yapılan sağımlarda düşük melatonin içeren keçi sütü elde edilebilecektir. İşlenmiş inek sütündeki (UHT, pastörize) melatonin düzeylerinin, çiğ süttekine göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Schaper ve ark. 2015). Sunulan çalışmada ise ısıl işlem uygulamalarının keçi sütü melatonin düzeylerinde bir düşmeye neden olmadığı gözlemlendi. Bu anlamda gece sağılan ve ısıl işlem uygulanan keçi sütünün, inek sütüne göre daha avantajlı olabileceği öngörülmektedir.

Yapılan literatür taramalarında melatoninin sütte taşınması ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmadı. İnsan kan plazmasında melatoninin özellikle albümine bağlanarak taşındığı (Cardinali ve ark. 1972), total melatoninin (bağlı ve serbest) %23 kadarının ise serbest olduğu bildirilmiştir (Kennaway ve Voultios 1998). Sunulan çalışmada, serbest melatonin düzeylerinin ölçüldüğü yöntemde (ELISA), kaynatma işlemi sonrasında süt melatonin düzeylerinin pastörize ve çiğ süt örneklerine göre yüksek olduğu gözlemlendi. Keçi sütü yapısında bulunan 5 temel protein fraksiyonundan α -laktalbuminin sütte melatonin taşınmasında rolünün olabileceğini düşünmekteyiz. İnek sütünde, ısıl işlem uygulaması sonucunda, elektroforetik incelemede, α - laktalbumin bantlarının zayıfladığı, β -laktoglobulin bantlarının ise neredeyse kaybolduğu belirlenmiştir (Lamberti ve ark. 2018). Yine 20 dk'dan uzun kaynatma işlemi uygulanan inek sütünde α - laktalbumin ve β -laktoglobulinin yüksek molekül ağırlıklı agregatlarının olduğu bildirilmiştir (Bloom ve

ark. 2014). Bu bilgiler ışığında, keçi sütünde bulunan laktalbumine bağlı melatoninin, ısıl işlem uygulaması sonrasında laktalbuminin denatürasyonu ve/veya agregasyonu neticesinde serbest hale geçerek, ELISA analizinde çiğ süt ve pastörize süte göre daha yüksek düzeyde belirlenmiş olması olasıdır. Sütte melatonin analizi yapılacağına melatoninin süt proteinlerinden tamamen serbest hale getirilmesi için bir takım protein denatürasyon yöntemlerinin uygulanmasının uygun olacağı kanaatine varıldı.

Keçi sütünde vitamin C düzeyleri 0,9 mg/100 ml (Sawaya ve ark. 1994), 1,5 mg/100 ml (Guo 2003), 2 mg/100 ml (Getaneh ve ark., 2016), 3,7-6,4 mg/100 ml (Lavinge ve ark., 1989) olarak bildirilmiştir. Sunulan çalışmada belirlenen vitamin C düzeyleri literatür verileriyle uyumlu olarak 3,18 mg/100 ml olarak belirlendi. Oksidasyona oldukça duyarlı, suda çözünen ve antioksidan bir vitamin olan vitamin C'nin ısıl işlem sonrasında kaybının az olması sütün besinsel değerinin artmasına yol açacaktır. Lavinge ve ark. (1989) 76 °C'de 16 sn, 81°C'de 16 sn, 85 °C'de 4 sn, 63 °C'de 30 dk ve 135 °C'de 4 sn boyunca uyguladıkları ısıl işlem sonrasında keçi sütünde vitamin C düzeylerinin sırasıyla %5, %10, %25, %40 ve %30 oranlarında azaldığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada pastörizasyon ısısında (72 °C'de 15 sn) süt vitamin C düzeylerinde, çiğ süt düzeyleri ile karşılaştırıldığında, Lavinge ve ark. (1989)'nın 76 °C'de 16 sn'lik ısıl işlem sonrasında %5'lik düşüş sonucuyla uyumlu olarak, %6'lık bir düşüş belirlendi ancak bu düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p>0,05$). İnsan sütünde pastörizasyon işlemi sonrasında çiğ süte kıyasla %20 oranında bir azalma olduğu bildirilmiştir (Molto-Puigmarti ve ark. 2011). Pastörizasyon (73 °C'de 15 sn) işlemi sonrasında deve sütünde %15'lik, inek sütünde ise %10'luk bir azalma tespit edilmiştir (Mehaia 1994). Bu bilgiler ışığında, keçi sütünün vitamin C yönünden pastörizasyon ısısı karşısında diğer türlere göre daha avantajlı olduğu sonucuna varılabilir. Sunulan çalışmada kaynatma işlemi (5 dk) sonrasında ise vitamin C düzeylerinde önemli düzeyde azalma (%36'lık azalma, $p<0,001$) tespit edildi. Keçi sütünde geleneksel kaynatma yönteminin süt vitamin C düzeylerine etkileri net olarak bilinmemektedir. Sunulan çalışmadaki sonuçlar Lavinge ve ark. (1989)'ın 63°C'de 30 dk ve 135°C'de 4 sn ısıl işlem uygulamaları sonrasında elde ettikleri düşüş aralığında idi. 100°C'de 30 dk ısıl işlem sonrasında vitamin C düzeylerinin inek sütünde %48, deve sütünde %67 oranında düştüğü rapor edilmiştir (Mehaia, 1994). Sunulan çalışmada keçi sütünde geleneksel kaynatma yönteminin vitamin C düzeylerini önemli düzeyde düşürdüğü belirlendi ancak tıpkı

pastörizasyonda olduğu gibi, geleneksel kaynatma yönteminde de, keçi sütünün vitamin C yönünden, diğer türlerin sütlerine göre, daha avantajlı olduğu sonucuna varılabilir.

Süt melatonin ve vitamin C düzeyleri arasındaki ilişki ile ilgili bir literatür veriye rastlanılmadı. Melatonin ile vitamin C arasındaki ilişki ile ilgili yapılan çalışmalarda; yaşlılarda plazma melatonin düzeyleri düşerken vitamin C düzeylerinin değişmediği (Lasisi ve ark. 2012), akciğer toksisitesi oluşturulan ratlarda melatonin ve vitamin C'nin birlikte uygulamasının iyileştirici etkilerinin olduğu (Karaöz ve ark. 2002), periodontal tedavi uygulanan kişilerde melatoninin tek başına klinik parametreleri yeterince iyileştirmedeği ancak melatonin ve vitamin C'nin birlikte uygulanmasının, klinik belirtileri iyileştirdiği bildirilmiştir (Chitsazi ve ark. 2017). Sunulan çalışmada çiğ sütte melatonin ile vitamin C arasında bir korelasyon saptanmadı. Pastörizasyon ve kaynatma uygulanan sütlerde rastlanan zayıf korelasyonların, ısıl işlem ile birlikte vitamin C düzeylerinin düşmesi ve melatonin düzeylerinin yükselmesi ile ilgili olduğu kanaatine varıldı. Antioksidan etkinliği bulunan melatonin ve vitamin C'nin meme savunma mekanizmaları içinde önemli yer tutacağı öngörüldüğünden, meme sağlığı konusunda bu iki parametre ile ilgili daha ileri çalışmaların yapılması önerilmektedir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Keçi sütüne uygulanan pastörizasyon işleminin (72 °C'de 15 sn), süt melatonin, vitamin C ve total protein düzeylerini çiğ süte göre değiştirmediği, 5 dk kaynatma uygulamasının ise proteinlerin denaturasyonu ve/veya agregasyonuna neden olabildiği, ayrıca vitamin C düzeylerini düşürdüğü belirlendi. Bu bilgiler ışığında keçi sütünün biyoyararlanımında pastörizasyon işleminin, geleneksel kaynatma işlemine göre daha üstün olduğu düşünüldü. Sütlerde ELİSA metodu ile melatonin analizi yapılmadan önce, melatoninin sütte bağlı bulunduğu proteinden ayrıştırılması amacıyla, sütün, bir ön işlemde geçirilmesinin, sonuçların daha doğru olarak tespit edilmesinde faydalı olabileceği öngörüldü.

7. KAYNAKÇA

- Andersch M, Gibson RB.** The colorimetric determination of plasma proteins. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **1933**, s. 18: 816-820
- Anonim 1.** http://www.diatek.com.tr/Makale-Yontem/Mikrobiyolojik-Analiz/Isil-islem-Uygulamalarinin-Sut-ve-insan-Sagligi-Uzerine-Etkileri_78.htm, **2010**, erişim: 08.03.2020.
- Anonim 2.** <https://www.amazon.de/Milchkristalle-GmbH-nmk30-Nacht-Milchkristalle-30X12/dp/B00GX0CJNW>, **2020**, Erişim tarihi: 08.03.2020.
- Atasever Z, Gülaç Z.** Durum ve Tahmin: Süt ve Süt Ürünleri-2011-2012. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, **2012**, s. 191, 109
- Baskett JJ, Wood PC, Broad JB, Duncan JR, English J, Arendt J.** Melatonin in older people with age-related sleep maintenance problems: a comparison with age matched normal sleepers. *Sleep*, **2001**, s. 24: 418-424
- Bloom KA, Huang FR, Bencharitiwong R, Bardina L, Ross A, Sampson HA.** Effect of heat treatment on milk and egg proteins allergenicity. *Pediatric Allergy Immunology*, **2014**, s. 25: 740-746
- Bradford MM.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytic Biochemistry*, **1976**, s. 72: 248-251
- Cardinali DP, Pevet P.** Basic aspects of melatonin action. *Sleep Medicine Reviews*, **1998**, s. 2: 175-190
- Cardinali DP, Lynch HJ, Wurtman RJ.** Binding of melatonin to human and rat plasma proteins. *Endocrinology*, **1972**, s. 91: 1213–1218
- Catapano F, Monteleone P, Fuschino A, Maj M, Kemal D.** Melatonin and cortisol secretion in patients with primary obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Research*, **1992**, s. 44: 217-225
- Ceylan B, Çimen M, Bakır K, Oduncu İ.** Farklı mevsimlerden elde edilen inek sütlerinde pH seviyelerinin peynir atandartlarına uygunluklarının belirlenmesi. *Bilim ve Gençlik Dergisi*, **2013**, s. 1-6

- Chandan RC, Attaie R, Shahani KM.** Nutritional Aspects of Goat Milk and Its Products; Proc V Intl Conf Goats, New Delhi, India, Bölüm II, **1992**, s. 399
- Chitsazi M, Faramarzie M, Sadighi M, Shirmohammadi A, Hashemzadeh A.** Effects of adjective use of melatonin and vitamin C in the treatment of chronic periodontitis: A randomized clinical trial. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, **2017**, s. 11: 236-240
- Claustrat B, Brun J, Chazot G.** The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Medicine Reviews*, **2005**, s. 9: 11-24
- De Moreno MR, Smith JF, Smith RV.** Mechanism studies of coomassie blue and silver staining of proteins. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1986**, s. 75: 907-911
- Dullo P, Chaudhary R.** Short review of reproductive physiology of melatonin. *Pakistan Journal of Physiology*, **2009**, s. 5: 46-48
- Eriksson L, Valtonen M, Laitinen JT, Paananen M, Kaikkonen M.** Diurnal rhythm of melatonin in bovine milk: Pharmacokinetics of exogenous melatonin in lactating cows and goats. *Acta Veterinaria Scandinavia*, **1998**, s. 39: 310
- Fox P, Mcweeney P.** Milk Proteins: General and Historical Aspects. Advanced Dairy Chemistry, Volume 1, Part A, New York, Springer Verlag Publish, **2003**, s. 1-48
- Getaneh G, Mebrat A, Wubie A, Kendie H.** Review on Goat Milk Composition and its Nutritive Value, *Journal of Nutrition and Health Sciences*, **2016**, s. 3: 1-10
- Guo M.** Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, in: Goat milk, Second Edition, Academic Press, USA, **2003**, s. 2944-2949
- Gürsoy A.** Sütün Nitelikleri, Ankara, Süt Kimyası ve Biyokimyası, **2018**, s.1-70
- Haag W.** Zur methodik und praktischen Bedeutung der Vitamin C - Bestimmung bei im Rind in Vergangenheit und Gegenwart. Inaugural Dissertation. Justus Liebig Universität, Giessen. **1985**.
- Herxheimer A, Petrie KJ.** Melatonin for preventing and treating jet lag. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, **2001**, s. 1-18
- Jenness R.** Composition and characteristics of goat milk: Review 1968-1979. *Journal of Dairy Science*, **1980**, s. 63: 1605-1630
- Jimenez-Saiz R, Benede S, Molina E, Lopez-Exposito I.** Effect of processing technologies on the allergenicity of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **2015**, s. 55: 1902-1917

- Juarez M, Ramos M.** Physico-chemical characteristics of goat milk as distinct from those of cow milk. *International Dairy Bulletin*, **1986**, s. 202: 54
- Karaöz E, Gültekin F, Akdoğan M, Öncü M, Gökçimen A.** Protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on lung toxicity induced by chlorpyrifos-ethyl in rats, *Experimental and Toxicologic Pathology*, **2002**, s. 54: 97-108
- Kennaway DJ, Voultsios A.** Circadian Rhythm of Free Melatonin in Human Plasma *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. **1998**, s. 83: 1013-1015
- Lamberti C, Baro C, Giribaldi M, Napolitano L, Cavallarin L, Giuffrida MG.** Effects of two different domestic boiling practices on the allergenicity of cow's milk proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2018**, s. 98: 2370-2377
- Lasisi AO, Fehintola FA, Lasisi, TJ.** The role of plasma melatonin and vitamins C and B₁₂ in the development of idiopathic tinnitus in the elderly ghana. *Medical Journal*, **2012**, s. 46: 152-157
- Lavigne C, Zee JA, Simard RE, Beliveau B.** Effect of processing and storage conditions on the fate of vitamins B₁, B₂, and C and on the shelf-life of goat's milk. *Journal of Food Science*, **1989**, s. 54: 30-34
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ.** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, **1951**, s. 193: 265-275.
- Maksimovich AA.** Structure and function of the pineal gland in the vertebrates, *Zhurnal Evoliutsionnoi Biokhimii I Fiziologii*, **2002**, s. 38: 3-13
- Mehaia MA.** Vitamin C and riboflavin content in camels milk: effects of heat treatments. *Food Chemistry*, **1994**, s. 50: 153-155
- Metwally AMM, Dabiza NMA, Wagih I, EL-Kholy WI, Sadek ZI.** The Effect of Boiling on Milk Microbial Contents and Quality. *Journal of American Science*, **2011**, s. 7: 110-114
- Milagres MP, Minim VP, Minim LA, Simiqueli AA, Moraes LE, Martino HS.** Night milking adds value to cow's milk, *Journal of Science Food Agriculture*, **2014**, s. 94: 1688–1692

- Molto-Puigmarti C, Marcpermanyer AI, Castellote MC, Lopez-Sabater C.** Effects of pasteurisation and high-pressure processing on vitamin C, tocopherols and fatty acids in mature human milk. *Food Chemistry*, **2011**, s. 124: 697-702
- Moreno-Montoro M, Olalla M, Gimenez-Martinez R, Bergillos-Meca TB, Ruiz-Lopez MD, Cabrera-Vique CC, Artacho R, Navarro-Alarcon M.** Ultrafiltration of skimmed goat milk increases its nutritional value by concentrating nonfat solids such as proteins, Ca, P, Mg, and Zn, *Journal of Dairy Science*, **2015**, s. 98: 7628–7634
- Nishikimi M, Yağı K.** Biochemistry and molecular biology of ascorbic acid biosynthesis. *Subcellular Biochemistry*, **1996**, s. 25: 17– 39
- Özgüner F, Özçankaya R, Delibaş N, Koyu A, Çalışkan S.** Melatonin ve klinik önemi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **1995**, s. 2: 1-6
- Paz NF, DE Oliveira EG, De Kairuz MSN, Ramon AN.** Characterization of goat milk and potentially symbiotic non-fat yogurt. *Food Science and Technology*, **2014**, s. 34: 629-635
- Poon AM, Pang SF.** Pineal melatonin-immune system interactions, in, melatonin, a universal photoperiodic signal with diverse, *Signal with Diverse Actions*, **1996**, s. 71-83
- Quiles A, Gonzalo B, Barcina C, Fuentes A, Hevia M.** Protein quality of Spanish Murciano-Granadina goat milk during lactation. *Small Ruminant Research*, **1994**, s. 14: 67-72
- Rukke EO, Olsen EF, Devold T, Vegarud G, Isaksson T.** Technical note: Comparing calibration methods for determination of protein in goat milk by ultraviolet spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, **2010**, s. 93: 2922-2925
- Sawaya WN, Khalil JK, Al-Shalhat AF.** Mineral and vitamin content of goat's milk. *Journal of the American Dietetic Association*, **1984**, s. 84: 433-455
- Schaper C, Koethe M, Braun PG.** Comparison of melatonin concentrations in raw and processed cow's milk. *Journal of Food Safety and Food Quality*, **2015**, s. 66: 125-156
- Üçüncü M.** A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi, Cilt I, İzmir, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, **2008**, s. 543

- Ünal RN, Besler T.** Beslenmede Sütün Önemi, Ankara, Sağlık Bakanlığı Yayınları, **2008**, s. 727: 18
- Valtonen M, Niskanen L, Kangas AP, Koskinen T.** Effect of melatonin rich night time milk on sleep and activity in elderly institutionalized subjects, *Nordic Journal of Psychiatry*, **2005**, s. 59: 217-221
- Wal JM.** Thermal processing and allergenicity of foods. *Allergy*, **2003**, s. 58: 727-729
- Yılmaz E.** Sütlerin Besinsel Değerlerinin Karşılaştırılması, Yüksek lisans Tezi, Adıyaman Üniversitesi, Adıyaman, **2017**, s. 1-21



ÖZGEÇMİŞ

Fırat Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulunu 2000 yılında kazandı ve 2004 yılında mezun oldu. Eğitimini tamamladıktan sonra alanı ile ilgili olarak çeşitli özel kuruluşlarda Spor Eğitmeni olarak çalıştı. 2008 yılında Beden Eğitimi Öğretmeni olarak Milli Eğitim Bakanlığı'na atandı. 2016 yılında Gaziantep Üniversitesi Eğitim Yönetim, Teftiş Planlama ve Ekonomisi tezsiz yüksek lisansına başlayarak 2018 yılında mezun oldu. Ayrıca alanıyla ilgili çeşitli seminer ve çalışmalara katıldı. Halen Milli Eğitim Bakanlığı'na bağlı bir okulda Müdür Yardımcısı olarak çalışmaktadır.

