

UHT Sütlerin Bazı Kalite Kriterlerinin ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Ceren Sönmez, Güldem Ertaş, Özge Duygu Okur, Zeynep Güzel-Seydim

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta
E-posta: dokur@mmf.sdu.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada sade ve aromalı süt örneklerinin antioksidan aktiviteleri ile bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sade, çilek aromalı ve çikolatalı süt olmak üzere 6 farklı firmadan alınan karton kutu ambalajlı UHT sütler kullanılmıştır. Örneklerde titrasyon asitliği, pH, yağ, toplam kuru madde ve kül analizleri yapılmış olup, toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan aktiviteleri TEAC (Trolox Eşdeğer Antioksidan Aktivitesi, ABTS) ve ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi) yöntemleriyle belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre çilek aromalı, çikolatalı ve sade sütlerde toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 1152.93 ± 57.82 , 1587.52 ± 229.84 ve 1030.10 ± 19.31 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L, TEAC değerleri sırasıyla 5.38 ± 0.28 , 6.25 ± 0.53 ve 4.31 ± 0.51 mM Trolox eşdeğeri, ORAC değerleri ise sırasıyla 3.38 ± 0.36 , 4.31 ± 0.57 ve 2.98 ± 0.15 μmol Trolox eşdeğeri/mL olarak bulunmuştur. Antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik madde içeriği ve ORAC bakımından ürünler arasında en düşük değerler sade süt örneklerinde tespit edilmiştir. Çikolatalı sütlerde toplam antioksidan aktivite değerleri en yüksek belirlenmiştir ($p < 0.001$).

Anahtar Kelimeler: Süt, Toplam antioksidan aktivite, ORAC, TEAC, ABTS, Toplam fenol içeriği

Determination of Some Quality Characteristics and Antioxidant Activities of UHT Milks

ABSTRACT

Total antioxidant activity and some quality properties were determined in UHT plain milk and chocolate- and strawberry-flavoured milk samples of six different brands. Total titratable acidity, pH, fat, total solids, total ash analysis, total phenolic content and total antioxidant activity using TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, ABTS) and ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) assays were determined in milk samples. Results indicated that total phenolic content, TEAC and ORAC values of strawberry-flavoured, chocolate-flavoured and plain milk samples ranged between 1152.93 ± 57.82 , 1587.52 ± 229.84 and 1030.10 ± 19.31 mg gallic acid equivalents (GAE)/L, 5.38 ± 0.28 , 6.25 ± 0.53 and 4.31 ± 0.51 mM Trolox equivalent, and 3.38 ± 0.36 , 4.31 ± 0.57 and 2.98 ± 0.15 μmol Trolox equivalents/mL, respectively. The lowest total phenolic content, TEAC and ORAC values were determined in plain milk samples. The highest total antioxidant activity was determined in chocolate-flavoured milk samples ($p < 0.001$).

Key Words: Milk, Total antioxidant activity, ORAC, TEAC, ABTS, Total phenolic content

GİRİŞ

Atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine "serbest oksijen radikali" ismi verilmektedir. Diğer moleküllerle kolayca elektron alışverişine girebilen bu moleküllere "reaktif oksijen partikülleri" de denilmektedir [4]. Bu radikaller, hücredeki diğer moleküllerle kolayca etkileşime girerek oksidatif stres oluşumuna neden olmaktadır. Oksidatif stres, temel hücre bileşenlerinde hasara neden olarak yaşa bağlı çeşitli hastalıklara neden olmaktadır [3]. Serbest

radikallerin etkisinden korunmak için yüksek antioksidan içeriği olan gıdalarla beslenme önemlidir. Çoğunlukla polifenolik yapıdaki antioksidan maddeler meyvelerde ve sebzelerde yüksek miktarda bulunmakta olup bunların en önemlileri tokoferoller, flavonoidler, karotenoidler ve askorbik asittir [7, 15, 21, 22].

Süt, insan beslenmesi için temel bir gıdadır. Yüksek besin değerinin yanı sıra sütün bileşiminde de antioksidan maddeler bulunmaktadır. Bu antioksidanlar protein yapıda olan ve olmayan antioksidanlar olarak

ikiye ayrılmaktadır. Protein yapıda olmayan antioksidanlar; A, C, E vitaminleri ile fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Protein grupta ise, proteolitik enzimler (pepsin, tripsin), peptitler (Trp-Tyr- Ser-Leu-Ala-Met-Ala-Ser-Asp-Ile) ve süt proteinlerinden kazein (α -kazein, β -kazein, K-kazein), β -laktoglobulin yer almakta ve yüksek antioksidan özelliğe sahip oldukları bilinmektedir [8].

Antioksidan bileşiklerin etki mekanizmaları farklılıklar göstermektedir. Örneğin, E vitamini lipit oksidasyonu sırasında oluşan peroksil radikallerini yakalayarak etkisiz hale getirmekte ve böylelikle otooksidasyonu engellemektedir. Ancak kendisi bir radikale dönüşmekte ve bu radikal de C vitamini tarafından indirgenerek yeniden E vitaminine dönüştürülmektedir. Oluşan C vitamini radikali de vücut mekanizmaları tarafından özellikle askorbat peroksidazca etkisizleştirilmektedir. Fenolik maddeler ise antioksidan etkilerini yapılarında bulunan OH gruplarındaki hidrojeni radikale vererek, serbest radikal üreten lipoksigenaz enzimini etkisiz hale getirmekte ve serbest radikal üreten reaksiyonlardaki metal katalizörleri ile şelatlar oluşturarak bunu gerçekleştirmektedir [2]. Süt ve süt ürünlerinde fenolik maddeler, hayvanın beslenmesinde kullanılan yemler, aminoasit katabolizması, fenolik bileşenlerin fonksiyonel nedenlerle ürüne doğrudan eklenmesi ve çevreden kontamine olmaları gibi nedenlerden dolayı bulunabilmektedir [9].

Serum proteinlerinin muhtemel antioksidan mekanizmaları ise; laktoferrin ve peynir altı suyu albümini ve tirozin ile sistein gibi aminoasitler tarafından da serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesine dayanmaktadır [10, 11]. Serum proteinlerinin antioksidan aktiviteleri, sülfidril gruplarının varlığına bağlıdır ve bu gruplar bulunmadığında aktivite kaybolmaktadır [18]. Kazeinler ise lipit peroksidasyonunu inhibe edebilmektedirler [5].

Çalışmamızda beslenme açısından öneme sahip olan karton kutu ambalajlı sade ve aromalı sütlerin çeşitli kalite parametreleri ve antioksidan özelliklerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışmada kullanılan karton kutu ambalajlı UHT süt örnekleri 6 farklı markadan 3 farklı zamanda piyasadan temin edilmiştir. Örnekler 2 paralelli olarak analiz edilmiştir. Aynı marka örnekler farklı zamanlarda alınarak aynı parti üretim olmaması amaçlanmıştır.

Metot

Örneklerin toplam asitlik, pH, yağ, kuru madde ve kül analizleri AOAC prosedürlerine uygun olarak yapılmıştır [1]. Toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu ayracı kullanılarak spektrofotometre (Shimadzu Scientific Instruments, Inc., Tokyo, Japonya) ile 760nm de ölçülerek belirlenmiştir. Sonuçlar mg GAE (gallik asit eşdeğeri)/L olarak verilmiştir. Örneklerin Troloks eşdeğeri (TE) antioksidan aktiviteleri (TEAC) ise 2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonik asit) radikal (ABTS+) inhibisyonunun Troloks ile karşılaştırılmasına göre spektrofotometre ile 734 nm dalga boyunda ölçülerek tespit edilmiştir [13]. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC), spektrofotometrik olarak ORAC-Florescein yöntemiyle 485 – 520 nm (eksitasyon ve emisyon) dalga boylarında Biotek HT Synergy mikropilaka okuyucusu (Winooski, Vermont, USA) kullanılarak Gen 5TM programı ile belirlenmiştir [6].

İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen sonuçlar tanımlayıcı istatistik ve karşılaştırma testleri ile SAS V8 [14] paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Farklı süt örneklerindeki bazı kimyasal analiz sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Tüm örneklerin asitlikleri uygun olarak tespit edilmiştir [22, 23]. Çilek aromalı ve çikolatalı sütte yağ oranları sade süte göre düşük olmasına karşın kuru madde oranlarının yüksek olmasının nedeni içerdikleri kakao ve/veya şekerden dolayı çözünür kuru madde oranının artmasından kaynaklanmaktadır.

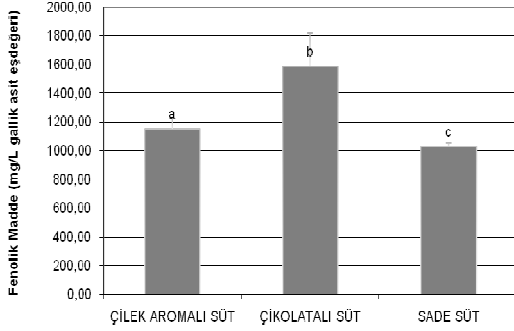
Tablo 1. Üç farklı süt örneğine ait kimyasal analiz sonuçları

Örnek	Toplam Asitlik (SH)	pH	% Yağ	% Kuru Madde	% Kül
Çilek Aromalı Süt	7.73±0.20	6.67±0.02	1.40±0.09	14.61±0.51	0.68±0.02
Çikolatalı Süt	6.67±0.20	6.76±0.04	1.65±0.21	16.62±0.54	0.82±0.05
Sade Süt	7.73±0.17	6.7±0.02	3.15±0.06	11.14±0.06	0.70±0.02

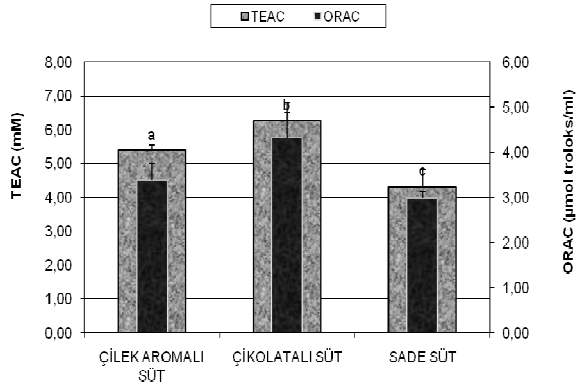
Örneklerin Folin-Ciocalteu ayracı kullanılarak spektrofotometrik yöntemle göre belirlendiği toplam fenolik madde içerikleri Şekil 1'de, TEAC (ABTS) ve ORAC yöntemlerine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite değerleri Şekil 2'de sunulmuştur. Elde edilen

sonuçlara göre çilek aromalı, çikolatalı ve sade sütlerde sırasıyla toplam fenolik madde içeriği; 1046.60-1414.60 mg GAE/L, 834.60-2347.20 mg GAE/L, 936.60-1066.60 mg GAE/L aralığında tespit edilmiştir. Toplam antioksidan aktivite iki farklı yöntemle belirlenmiş, çilek

aromalı, çikolatalı ve sade sütlerde sırasıyla TEAC değerleri 5.6-6.54, 3.81-7.04 ve 2.82-6.29 mM Troloks eşdeğeri, ORAC değerleri ise, 2.42-5.09, 3.11-6.89 ve 2.26-3.29 μmol Troloks eşdeğeri/mL aralığında bulunmuştur.



Şekil 1. Çilek Aromalı, Çikolatalı ve Sade Sütlerin Toplam Fenolik Madde İçerikleri (a,b,c kodlamaları örnekler arasındaki farklılığı ($p < 0.001$) temsil etmektedir)



Şekil 2. Çilek Aromalı, Çikolatalı ve Sade Sütlerin TEAC ve ORAC Değerleri (a,b,c harfleri örnekler arasındaki farklılığı ($p < 0.001$) temsil etmektedir)

Belirli oranlarda portakal, çilek, muz, şeftali, kayısı, elma, limon, havuç ve tropikal bazı meyve suları ile yağsız sütlerin karıştırılmasıyla elde edilen içeceklerin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite içeriklerinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmada, özellikle çilek, muz, portakal (%25), yağsız süt (%20) örneğinde elde edilen toplam fenolik bileşimlerin konsantrasyonu $84.7 \pm 0.03 \text{ mg/100 mL GAE}$, TEAC değeri ise $3.41 \pm 0.05 \text{ mmol Troloks eşdeğeri/L}$ olarak bulunmuştur. Ürün içeriğinde su, şeker, kalsiyum tuzları, stabilizör (pektin), sitrik asit, vitamin C, aromalar, vitamin A ve renklendirici olarak allura red kullanılmıştır [26]. Nar, çilek, kiraz, yaban mersini ve Frenk üzümü gibi koyu renkli meyve sularında yapılan diğer bir çalışmada toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiş ve çilekli meyve sularında toplam fenolik madde içeriği 1302.1 mg/L GAE , toplam antioksidan içeriği ise $3,95 \text{ mM Troloks}$ olarak bulunmuştur [14]. Yapılan çalışmada da çilek aromalı sütlerin antioksidan aktivitelerinde, farklı markalar arasında önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Kakao tanelerinin ve çikolatalı ürünlerin yüksek polifenolik madde içeriklerinden dolayı

diğer fenolik maddeleri içeren gıdalardan daha yüksek ORAC değerlerine sahip oldukları bilinmektedir [20]. Anne sütünün antioksidan aktivitesini belirlemek için yapılan çalışmada anne sütü örneklerinin ORAC değerleri $2.46\text{-}3.41 \mu\text{mol TE/mL}$ olarak tespit edilerek süt içindeki alfa tokoferol ile ORAC değerlerinin önemli düzeyde ilişkide olduğu belirtilmiştir [16]. Sütün kompleks bir sistem olmasına karşın ORAC testinin toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesinde faydalı olduğu açıklanmıştır [16]. Yapılan başka bir çalışmada süt örneklerinin ortalama ORAC değeri $3,4 \mu\text{mol}$, peynir altı suyunun ORAC değeri $0,28 \mu\text{mol}$ olarak açıklanmıştır; sütte mevcut antioksidan aktivitenin önemli düzeyde kazeinden kaynaklandığı belirlenmiştir [6]. Doğal kakao tozunda yapılan bir çalışmada ORAC değeri $826 \pm 103 \mu\text{mol TE/g}$ olarak tespit edilmiş ve kakaonun önemli düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [8]. Sade sütün kendi bileşiminden kaynaklanan doğal antioksidan bileşenlerinin yanı sıra özellikle çikolatalı sütlerin toplam fenolik ve toplam antioksidan değerlerinin diğer sütlere göre yüksek olduğu belirlenmiş ve tüm örnekler arasında önemli düzeyde farklılık tespit edilmiştir ($p < 0.001$). Bu sonuç, kakao tanelerinin yüksek antioksidan ve fenolik içeriğe sahip olmasından dolayı beklenen bir sonuçtur. Özellikle kakao ve çikolatada bulunan flavonoidlerin kardiyovasküler sağlık üzerinde önemli etkilerinin olduğu bilinmektedir [20]. Bu bakımdan elde edilen sonuçların beslenme ve sağlık açısından önemi de kaçınılmaz olmaktadır.

SONUÇ

Beslenme ve sağlık açısından, gıdaların güncel yöntemlerle toplam antioksidan aktivitelerinin ve fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi önemlidir. Bileşiminde dengeli olarak bulundurduğu kıymetli besin maddeleriyle çocukların gelişimini, yetişkinlerin hücre yenilenmesini, enerji sağlaması vb. özelliklerinden dolayı sütün temel bir gıda olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra sütün toplam antioksidan aktivitesinin belirlenmesi ve bu aktiviteden sorumlu bileşimlerin karakterize edilmesi sağlık açısından ve özellikle serbest radikallerden korunmada önemlidir. Bu kapsamda içme sütünün besleyici maddelerinin yanı sıra sağlık açısından olumlu olabilecek bu fonksiyonel özelliklerinin bilinmesi de süt tüketimi açısından önemli olacaktır. Ayrıca süt antioksidanları, lipid peroksidasyonunu engellemede ve süt kalitesinin sürdürülmesinde de önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada, sade sütün içerdiği bileşenlerden kaynaklanan önemli düzeyde antioksidan aktivitesi tespit edilmiş, çilek aromalı ve özellikle çikolatalı sütlerin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Çocuklar tarafından yaygın olarak tüketilen sütlerin doğal meyve püreleri kullanılarak hazırlanmasının antioksidan aktiviteyi artırabileceği ve çocukların sağlıklı beslenmesine önemli katkılar sağlayabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] AOAC 1997. Method 945.46, 947.05, 986.33, 989.04, 990.19. *Official methods of analysis of*

- AOAC international (16th ed.). Gaithersburg, MD 20877-2417. USA.
- [2] Benzie, I.F.F., 2003. Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 136:113-126.
- [3] Çakatay, U., Kayalı, R., 2006. Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 37: 162-167.
- [4] Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 3-4: 92-95.
- [5] Cervato, G., Cazzola, R. & Cestaro, B., 1999. Studies on the antioxidant activity of milk caseins. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50: 291-296.
- [6] Clausen, M.R., Skibsted, L.H., Stagsted, J. 2009. Characterization of major radical scavenger species in bovine milk through size exclusion chromatography and functional assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(7): 2912-2919.
- [7] Dávalos, A., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C., 2004. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-Fluorescein) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 48-54.
- [8] Gu, L., House, S. E., Wu, X., Ou, B., & Prior, R. L. 2006. Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 4057-4061.
- [9] Hudson, B.J.F., 1990. Food Antioxidants. *Elsevier Applied Science Publishers*, New York. Elsevier, New York, pp. 253–307.
- [10] Jiménez, A.M., Murcia, M.A., Parras, P., Martínez-Tomé, M. 2008. On the importance of adequately choosing the ingredients of yoghurt and enriched milk for their antioxidant activity. *International Journal of Food Science and Technology*. 43(8): 1464-1473.
- [11] O'Connell, J.E., and Fox, P.F. 2001. Significance and application of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal* 11(3):103-120.
- [12] Ostdal, H., Daneshvar, B., Skibsted, L., 1996. Reduction of ferrylmyoglobin by b-lactoglobulin. *Free Radical Research* 24: 429-438.
- [13] Pihlanto, A., 2006. Antioxidative peptides derives from milk proteins. *International Dairy Journal* 16, 1306-1314.
- [14] Piljac-Žegarac, J., Valek, L., Martinez, S., Belščak, A., 2009. Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chemistry* 113: 394-400.
- [15] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 1231-1237.
- [16] Saenz, A.T., Elisia, I., Innis, S.M., Friel, J. K., Kitts, D. D. 2009. Use of ORAC to assess antioxidant capacity of human milk. *Journal of Food Composition and Analysis* 22 (7-8): 694-698.
- [17] SAS Institute Inc., Version 8, Cary, NC, USA, 1999.
- [18] Shahidi, F. 2000. Antioxidants in Food and Food Antioxidants, *Nahrung*, 44,158-163.
- [19] Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
- [20] Steinberg, F. M., Bearden, M. M., Keen, C. L., 2003. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetic Association* 103(2): 215-223.
- [21] Tong, L.M., Sasaki, S., McClements, D.J., Decker, E.A., 2000. Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48: 1473-1478.
- [22] TSE (Türk Standartları Enstitüsü) 2001. Uzun Ömürlü Süt Standardı. T.S. 1192. Ankara.
- [23] TSE (Türk Standartları Enstitüsü) 2002. Aromalı Süt Standardı. T.S. 5004. Ankara.
- [24] Tunalier, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K H C., Duman, H., Kırimer, N., 2002. Bazı sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi, XIV. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, 130-138, Eskişehir.
- [25] Yanishlieva, N V., Pokomy, J., Gordon, M., 2001. Inhibiting Oxidation in Antioxidants in Food: Practical Applications., CRC press LLC and Woodhead Publishing Ltd, New York, USA, 288s.
- [26] Zulueta, A., Esteve, M. J., Frasquet, I., Frígola, A., 2007. Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. *Food Chemistry* 103: 1365-1374.