

T.C.  
İSTANBUL SABAHATTİN ZAİM ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI  
BESLENME VE DİYETETİK BİLİM DALI

TÜRKİYE'DE MARKETLERDE SATILAN ÇEŞİTLİ  
SÜTLERİN FUROZİN, 5- HİDROKSİMETİLFURFURAL  
VE LİZİN İÇERİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İrem KAYA

İstanbul  
Eylül-2024

**T.C.**  
**İSTANBUL SABAHATTİN ZAİM ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**  
**BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI**  
**BESLENME VE DİYETETİK BİLİM DALI**

**TÜRKİYE'DE MARKETLERDE SATILAN ÇEŞİTLİ SÜTLERİN**  
**FUROZİN, 5- HİDROKSİMETİLFURFURAL VE LİZİN**  
**İÇERİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İrem KAYA**

**Tez Danışmanı**  
**Doç. Dr. Serap ANDAÇ**

**İstanbul**  
**Eylül-2024**

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma, jürimiz tarafından Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Beslenme ve Diyetetik Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman Doç., Dr. Serap ANDAÇ

Üye Dr. Öğr. Üyesi İsmail Hakkı TEKİNER

Üye Dr. Öğr. Üyesi Zehra GÜLSÜNOĞLU KONUŞKAN

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Erhan İÇENER  
Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Yüksek lisans tezi olarak hazırladığım ‘Türkiye’de Marketlerde Satılan Çeşitli Sütlerin Furozin, 5-Hidroksimetilfurfural ve Lizin İçeriklerinin Araştırılması’ adlı çalışmanın öneri aşamasından sonuçlandığı aşamaya kadar geçen süreçte bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle uyduğumu, tez içindeki tüm bilgileri bilimsel ahlak ve gelenek çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığımı, bu çalışmamda doğrudan veya dolaylı olarak yaptığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu beyan ederim.

**İrem KAYA**

## ÖNSÖZ

Araştırmamın her aşamasında bana yardımcı olan değerli tez danışmanım Doç. Dr. Serap ANDAÇ'a, analizlerde yardımcı olan sayın Doç. Dr. Mustafa YAMAN'a ve Uzm. Ömer Faruk MIZRAK'a, İstanbul'da beni koşulsuz destekleyen Aslıhan Burcu İNAN KURT ve Fikri KURT'a, dostum ve meslektaşım Mümine Kübra SERÇE'ye ve her koşulda desteklerini esirgemeyen canım Aile'me teşekkürlerimi sunarım.

**İrem KAYA**  
**İstanbul-2024**

## ÖZET

# TÜRKİYE'DE MARKETLERDE SATILAN ÇEŞİTLİ SÜTLERİN FUROZİN, 5-HİDROKSİMETİLFURFURAL VE LİZİN İÇERİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

İrem KAYA

Yüksek Lisans, Beslenme ve Diyetetik

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap ANDAÇ

Haziran, 2024 – 78 Sayfa

Süt ve ürünlerine uygulanan ısı işlemleri; Maillard reaksiyonu ile protein denatürasyonu ve çapraz bağlanmaya neden olarak, protein yapısını farklılaştırmakta, biyoaktivite ve sindirilebilirliği değiştirmektedir. Maillard reaksiyonu, laktoz ve lizin gibi reaktifleri kullanarak, furozin ve 5-hidroksimetilfurfural (5-HMF) oluşumuna yol açmaktadır. Bu çalışmada, çiğ ve ısı işleme görmüş çeşitli sütün furozin, 5-HMF ve lizin içeriklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu bağlamda, İstanbul ilindeki çeşitli marketlerden toplam 42 adet süt örneği (3 çiğ, 3 kaynatılmış, 3 yüksek sıcaklıkta pastörize ve 33 UHT) toplanmıştır. Toplanan süt örneklerinde furozin, 5-HMF ve lizin seviyeleri HPLC yöntemi ile ölçülmüştür. Bulgulara göre, furozin ve lizin değişkenleri arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Çiğ ve ısı işleme görmüş sütün 5-HMF ve lizin seviyeleri arasında anlamlı farklılık olmadığı ( $p > 0.05$ ), ancak furozin düzeyinin ısı işleme görmüş sütte anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). UHT tam yağlı standart sütün 5-HMF düzeyinin, UHT yağsız standart sütün ve UHT laktozsuz yarım yağlı sütün furozin düzeyinin standart UHT yarım yağlı sütün anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Sonuç olarak, sütün, özelliklerine ve uygulanan ısı işleme göre furozin, 5-HMF ve lizin düzeylerinin değişebildiği anlaşılmıştır. Buna göre, süt ve ürünlerinde Maillard reaksiyon ürünlerini azaltacak proseslerin ve doğal koruyucu katkıların araştırılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Süt, Pastörizasyon, UHT, Furozin, 5-HMF, Lizin

## ABSTRACT

# INVESTIGATION OF FUROSINE, 5-HYDROXYMETHYLFURFURAL AND LYSINE CONTENTS OF VARIOUS MILKS SOLD IN TURKISH MARKETS

İrem KAYA

Master, Nutrition and Dietetic

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Serap ANDAÇ

June, 2024 – 78 Pages

Heat treatments applied in dairy products cause protein denaturation and cross-linking via Maillard reactions, which differ in protein structure and alter bioactivity and digestibility. Maillard reactions yield furosine and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) using lactose and lysine. This study investigated the furosine, 5-HMF, and lysine contents of raw and heat-treated milk. In this context, 42 milk samples (3 raw, 3 boiled, 3 pasteurized at high temperature and 33 UHT) were collected from the established markets in Istanbul. Furosine, 5-HMF, and lysine levels were determined using the HPLC method in the milk samples collected. According to the findings, there was a correlation between furosine and lysine variables ( $p < 0.05$ ). It was determined that raw and heat-treated milk did not have significant differences between 5-HMF and lysine levels ( $p > 0.05$ ), but that the level of furosine increased significantly in heat-treated milk ( $p < 0.05$ ). It was detected that the 5-HMF level of UHT whole fat standard milk was significantly higher than that of UHT skimmed standard milk, and the furosine level of UHT lactose-free semi-skimmed milk was significantly higher than that of standard UHT semi-skimmed milk ( $p < 0.05$ ). As a result, it has been understood that according to the characteristics of the milk and the heat treatment applied, the levels of furosine, 5-HMF and lysine can change. Accordingly, it is necessary to investigate the processes and natural protective additives that will reduce Maillard reaction products in milk and products.

**Keywords:** Milk, Pausterization, UHT, Furosine, 5-HMF, Lysine

# İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	i
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiii

## BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ .....	1
-------------	---

## İKİNCİ BÖLÜM

GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Süt .....	3
2.2 Sütlere Uygulanan Isıl İşlemler.....	4
2.3 Maillard Reaksiyonu .....	5
2.4 Furozin .....	8
2.4.1 Furozinin Sağlık Üzerine Etkileri .....	10
2.5 5-Hidroksimetilfurfural .....	10
2.5.1 5-Hidroksimetilfurfural ve Sağlık Üzerine Etkileri .....	13
2.6 Lizin .....	15
2.6.1 Bloke Lizin.....	16

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1 Gereç .....	17
3.2 Kullanılan Ekipmanlar ve Kimyasallar .....	18
3.3 Yöntemler.....	19
3.3.1 Furozin Analizi .....	19
3.3.1.1 Örnek Hazırlama ve Kromatografik Şartlar .....	20

3.3.2 5-Hidroksimetilfurfural Analizi .....	20
3.3.2.1 Örnek Hazırlama ve Kromatografik Şartlar .....	20
3.3.3 Lizin Analizi .....	21
3.3.3.1 Örnek Hazırlama ve Kromatografik Tanımlama .....	21
3.3.3.2 Çözeltilerin Hazırlanması.....	22
3.4 İstatiksel Analiz.....	22

## **DÖRDÜNCÜ BÖLÜM**

<b>BULGULAR .....</b>	<b>23</b>
4.1 Furozin Bulguları .....	23
4.1.1 Standart Eğri ve Kalibrasyon Bulguları .....	23
4.1.2 Çiğ Süt.....	24
4.1.3 Kaynatılmış Süt.....	25
4.1.4 Yüksek Sıcaklıkta Pastörize Süt .....	25
4.1.5 UHT Sütler .....	26
4.2 5-HMF Bulguları.....	28
4.2.1 Standart Eğri ve Kalibrasyon Bulguları .....	28
4.2.2 Çiğ Süt.....	29
4.2.3 Kaynatılmış Süt.....	30
4.2.4 YS Pastörize Süt.....	30
4.2.5 UHT Sütler .....	31
4.3 Lizin Bulguları .....	33
4.3.1 Standart Eğri ve Kalibrasyon Bulguları .....	33
4.3.2 Çiğ Süt.....	34
4.3.3 Kaynatılmış Süt.....	35
4.3.4 YS Pastörize Süt.....	35
4.3.5 UHT Sütler .....	36
4.4 Korelasyon ve Karşılaştırma Bulguları .....	40

## **BEŞİNCİ BÖLÜM**

<b>DEĞERLENDİRME VE TARTIŞMA .....</b>	<b>45</b>
5.1 Tartışma.....	45

<b>SONUÇ</b> .....	<b>52</b>
<b>KAYNAKÇA</b> .....	<b>523</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>644</b>



## TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Farklı Süt Çeşitlerinin Besin İçerikleri .....	3
Tablo 2.2: Çeşitli Sütlerin Lizin İçerikleri (mg/100 g) .....	15
Tablo 3.1: Örneklem ve Özellikleri .....	17
Tablo 3.2: Analizde Kullanılan Ekipmanlar, Kimyasallar ve Sarf Malzemeleri .....	18
Tablo 4.1: Çiğ Süt Örnekleri Furozin Seviyeleri (mg/kg) .....	24
Tablo 4.2: Kaynatılmış Süt Örnekleri Furozin Seviyeleri (mg/kg) .....	25
Tablo 4.3: Yüksek Sıcaklıkta Pastörize Süt Örnekleri Furozin Seviyeleri (mg/kg) ..	25
Tablo 4.4: UHT Süt Örnekleri Furozin Seviyeleri (mg/kg).....	26
Tablo 4.5: Çiğ Süt Örnekleri 5-HMF Seviyeleri (mg/100 mL) .....	29
Tablo 4.6: Kaynatılmış Süt Örnekleri 5-HMF Seviyeleri (mg/100 mL) .....	30
Tablo 4.7: YS Pastörize Süt Örnekleri 5-HMF Seviyeleri (mg/100 mL) .....	30
Tablo 4.8: UHT Süt Örnekleri 5-HMF Seviyeleri (mg/100 mL).....	31
Tablo 4.9: Çiğ Süt Örnekleri Lizin Seviyeleri (mg/100 mL).....	34
Tablo 4.10: Kaynatılmış Süt Örnekleri Lizin Seviyeleri (mg/100 mL).....	35
Tablo 4.11: YS Pastörize Süt Örnekleri Lizin Seviyeleri (mg/100 mL).....	35
Tablo 4.12: UHT Süt Örnekleri Lizin Seviyeleri (mg/100 mL) .....	36
Tablo 4.13: Süt Örnekleri Grupları Konsolide ve Ortalama Furozin, 5-HMF ve Lizin Seviyeleri.....	38
Tablo 4.14: Furozin, 5-HMF ve Lizin Değişkenleri Arasındaki Korelasyon Bulguları.....	41
Tablo 4.15: Örneklerin Isıl İşlemlere Göre Sınıflandırılarak Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması.....	42
Tablo 4.16: Standart UHT Sütlerin Yağ İçeriklerine Göre Sınıflandırılarak Furozin, 5-HMF Ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması.....	43
Tablo 4.17: Laktozsuz Yarım Yağlı ve Standart Yarım Yağlı Sütlerin Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması.....	44
Tablo 4.18: Laktozsuz Sütlerin Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması.....	44

Tablo 4.19: UHT Standart Yarım Yağlı Süt ile UHT Aromalı Şekerli Yarım Yağlı Sütlerin Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması.....45



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Süt ve Ürünlerinde Maillard Reaksiyonunun Aşamaları ve İlerlemesi .....	6
Şekil 2.2: Furozin (Bileşik X)'in İlk Kromatogramı.....	9
Şekil 2.3: Furozin Oluşumu .....	9
Şekil 2.4: Hidroksimetilfurfuralın Kimyasal Yapısı .....	11
Şekil 2.5: Glikoz (a) ve Fruktozdan (b) Maillard Reaksiyonu ile/ ya da Fruktofuronozil Katyonundan (c) Karamelizasyon Yolu ile HMF Oluşumu .....	12
Şekil 2.6: Kahve Çekirdeği ve Farklı Hazırlanmış Kahve İçeceklerin 5-HMF Seviyeleri (mg/kg) .....	13
Şekil 2.7: (A) Sağlıklı Kontrol Grubu Hayvan Böbrek Resmi (◆) ve SMF Maruziyetine Uğramış Böbrek Resmi (◇) (B) Sağlıklı Hayvan Böbreği Kesiti (B) ve SMF'e Maruz Kalmış Hayvan Nekrozlu Böbrek Kesiti (C) 14	
Şekil 4.1: Furozin Standart Eğri ve Kalibrasyon Kromatogramı .....	23
Şekil 4.2: Çiğ Süt Örneği Furozin Kromatogramı .....	24
Şekil 4.3: HMF Standart Eğri ve Kalibrasyon Kromatogramı.....	28
Şekil 4.4: Çiğ Süt Örneği HMF Kromatogramı .....	29
Şekil 4.5: Aminoasit 5 ppm Çözeltisi Standart Eğri ve Kalibrasyon Kromatogramı 33	
Şekil 4.6: Çiğ Süt Örneği Lizin Kromatogramı .....	34
Şekil 4.7: Süt Örnekleri Furozin Seviyesi Grup Ortalamaları .....	38
Şekil 4.8: Süt Örnekleri 5-HMF Seviyesi Grup Ortalamaları.....	39
Şekil 4.9: Süt Örnekleri Lizin Seviyesi Grup Ortalamaları .....	39

## KISALTMALAR LİSTESİ

°C	: Santigrat Derece
%	: Yüzde
μ	: Mikro
±Ss	: Standart Sapma
g	: Gram
AGE	: İleri Glikasyon Son Ürünleri
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
CAS	: Kimyasal Özetler Servisi (Chemical Abstracts Service)
F	: Furozin
HMF	: 5-Hidroksimetilfurfural
HCl	: Hidroklorik Asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
kg	: Kilogram
Kkal	: Kilokalori
L	: Litre
LOD	: Gözlenebilme Sınırı (Limit of Detection)
LOQ	: Tayin Sınırı (Limit of Quantification)
LS	: Laktozsuz
M	: Molarite
mg	: Miligram

n.d	: Not Detected
n.a	: Not Available
$\mu$ L	: Mikrolitre
$\mu$ m	: Mikrometre
mL	: Mililitre
N	: Normalite
nm	: Nanometre
Ö	: Örnek
ÖS	: Örnek Sayısı
ppm	: Milyonda Bir Birim
rmp	: Dakikadaki Devir Sayısı
sn	: Saniye
SMF	: Sülfoksimetilfurfural
TY	: Tam Yağlı
UHT	: Ultra Isıl İşlem (Ultra High Temperature)
UV	: Ultraviyole
YS	: Yüksek Sıcaklık
YY	: Yarım Yağlı
Vd.	: Ve Diğerleri

# BİRİNCİ BÖLÜM

## GİRİŞ

Süt, dengeli protein, karbonhidrat, lipit ve mineral içeriği ile beslenmede önemli bir yer tutmaktadır. Tüketici talep ve tercihleriyle, piyasada, tam yağlı, yağsız, yarım yağlı, aromalı, proteinli ve laktozsuz sütler satışa sunulmaktadır (Barbano, 2017).

Süt sanayisinde, çiğ sütün mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak ve raf ömrünü uzatmak için pastörizasyon ve sterilizasyon gibi ısı işlemlerin uygulanması önemlidir. Uygulanan ısı işlemler protein denatürasyonuna neden olmakta, protein yapısını farklılaştırmakta, biyoaktivitesi ve sindirilebilirliğinin değişmesine neden olmaktadır (Krishna vd., 2021).

Süt ve ürünlerinde ısı işlemin neden olduğu değişiklikler önemli ölçüde Maillard reaksiyonundan kaynaklanmaktadır (Yu vd., 2020). Maillard reaksiyonu; indirgeyici karbonhidratların karbonil grupları ile proteinlerin, peptitlerin ve aminoasitlerin nükleofilik kalıntıları arasında gerçekleşen enzimatik olmayan esmerleşmeyi ifade etmektedir. Bu reaksiyon sonucunda glikasyon ürünleri oluşmaktadır (Akıllıoğlu vd., 2022). Süt ve süt ürünlerinde, oluşan Maillard ürünleri arasında; “furozin”, “5-hidroksimetilfurfural (5-HMF)” ve “ileri glikasyon son ürünleri (AGE)” yer almaktadır (Aljahdali ve Carbonero, 2019).

Sütte reaksiyona katılan ana reaktifler laktoz ve lizindir. Maillard reaksiyonuna dahil olan lizin, bloke lizin halini almaktadır. Bloke edilmiş lizin Amadori bileşiği yapısında bulunmakta olup, sindirim için uygun değildir. Bu durum besin değeri kaybına neden olmaktadır. Bloke edilmiş veya glikozillenmiş lizinin metabolik süreçlerde biyolojik olarak kullanılabilirliği azalmaktadır (Li vd., 2022).

Furozin [ $N\epsilon$ -(2-furoylmethyl)-L-lysine]; glukoz, laktoz veya maltozun lizindeki  $\epsilon$ -amino gruplarıyla etkileşimi sonucu, erken aşamada oluşan Amadori bileşiklerinin asit hidrolizi sırasında meydana gelmektedir. Furozin seviyesi, süt ve ürünlerindeki ısı hasarını tespit etmek için kullanılmakta olup, bloke edilmiş lizinin bir göstergesi olarak kullanılabilir (Mehta ve Deeth, 2016; Bi vd., 2023).

5-hidroksimetilfurfural, Maillard reaksiyonunun orta aşamasında oluşan ve vücutta kanserojen türevlere dönüşebilen, en çok araştırılan furfural türlerinden biridir (Cepas vd., 2020; Li vd., 2021).

Bu çalışmada; Türkiye’de marketlerde satılan çeşitli sütlerin (çiğ, kaynatılmış, yüksek sıcaklıkta pastörize, ultra ısıl işlem görmüş (tam yağlı, yarım yağlı, yağsız, laktozsuz, organik, aromalı/meyveli, protein ilaveli ve laktozsuz) furozin, 5-HMF ve lizin içeriklerinin araştırılması amaçlanmıştır.



## İKİNCİ BÖLÜM

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1 Süt

Süt genellikle emülsifiye yağ globülleri, protein, laktoz, mineraller, vitaminler ve enzimler içeren koloidal bir süspansiyon olarak tanımlanmaktadır. Dengeli protein, karbonhidrat, lipid ve mineral içeriğiyle insan beslenmesinde önemli bir yer tutar. Geçmişte tam yağlı süt tüketiminin nispeten yüksek olduğu, ancak yaşam tarzı değişikliğiyle tam yağlı süt tüketiminin azaldığı; yağsız, yarım yağlı, meyveli/aromalı, laktozu hidrolize ve yüksek proteinli çeşitli süt ürünlerinin tüketiciye sunulduğu belirtilmektedir (Pratelli vd., 2024). Farklı süt çeşitlerine ait besin içerikleri Tablo 2.1’de sunulmaktadır.

**Tablo 2.1: Farklı Süt Çeşitlerinin Besin İçerikleri**

Çeşit	İçerik (g/100 ml)				Enerji Değeri (Kkal)
	Protein	Yağ	Laktoz	Mineral	
İnsan	1.1	4.2	7.0	0.2	70
İnek	2.8	3.2	4.8	0.7	58
Keçi	3.0	4.2	4.5	0.8	68
Koyun	5.6	7.7	4.8	0.8	111
Kısrak	2.3	1.0	5.8	0.4	41
Deve	4.0	5.1	4.9	0.7	82
Bufalo	4.0	78	4.8	0.8	105
Eşek	1.9	1.4	6.2	0.5	46
Geyik	10.9	17.1	2.8	1.5	209

**Kaynak:** Karimova ve İsmailova, 2023

Süt, özellikle nüfustaki hassas gruplar tarafından (çocuklar, gebeler ve yaşlılar) sıklıkla tüketilen biyolojik değeri yüksek bir besindir. İyi kalite protein kaynağı olmasıyla birlikte, kalsiyum, fosfor, B2, B6 ve B12 vitaminlerini içermektedir.

Yağda eriyen vitaminlerden A, E ve K vitaminleri ise sütün yağında bulunmakta ve yağsız veya yarım yağlı sütlerde bu vitaminlerin konsantrasyonu azalmaktadır (TUBER, 2022; Yu vd., 2023).

Uygun miktarda süt ve türevlerinin tüketiminin, laktoz intoleransı veya süt proteini alerjisi gibi spesifik tıbbi durumlar haricinde tüm yaş gruplarında faydalı olabileceği öne sürülmektedir. Süt ve ürünlerinin obezite, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklara karşı potansiyel koruyucu etkilerinin olabileceği bildirilmektedir (Marangoni vd., 2019).

İnek sütü, bazı bireylerde laktoz intoleransından dolayı diyare veya şişkinliğe neden olabilmektedir. Bu nedenle,  $\beta$ -galaktosidaz olarak da bilinen ve aktivitesi sıcaklıktan etkilenen laktaz enzimi ile sütün içindeki laktoz hidrolize edilerek laktozu azaltılmış süt elde edilmektedir (Bi vd., 2023).

Laktozla hidrolize edilmiş sütlerde bir mol laktoz; birer mol glukoz ve galaktoza dönüşmektedir. Proteinle zenginleştirilmiş sütlerde ise süt bazlı proteinlerin eklenmesiyle lizin içeriği arttırılmaktadır (Aktağ vd., 2019).

## **2.2 Sütlere Uygulanan Isıl İşlemler**

Çiğ süt, nötr pH ve yüksek su aktivitesi ile birçok mikroorganizma için elverişli bir büyüme ortamına sahiptir. Isıl işlem, sütün besin değerini önemli ölçüde değiştirmeden sütün mikrobiyolojik güvenliğini arttırmak için en sık kullanılan yöntemdir (Núñez-Delgado vd., 2024).

Pastörizasyon ve sterilizasyon gibi ısıl işlemler içme sütü ve süt ürünleri imalatında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, ısıl işlem süt matrisinde ve bileşenlerinde bir dizi fiziksel ve kimyasal modifikasyona neden olmaktadır. Bu durum, özellikle proteinlerin moleküler özelliklerini etkileyebilmekte ve sütün besin değerinde değişikliklere yol açmaktadır. Sütlere uygulanan ısıl işlemler; renk değişikliklerine, besin değerinin kaybına ve sindirilebilirliğin azalmasına yol açabilmektedir (Nielsen vd., 2022).

İçme sütü üretim tesislerinde sütlere uygulanan ısıl işlemlerde temel olarak dikkat edilen faktörler şunlardır (Aalaei vd., 2019):

- Tüketicilerde enfeksiyonlara neden olabilecek tüm patojenik bakterileri öldürmek
- İnsan sağlığı için olumlu etkileri olan laktoferrini korumak
- Isıl işlemin zararını en aza indirmek
- Isıl işlemin neden olduğu olumsuz yan ürünlerinin oluşumunu azaltmak.

Türk Gıda Kodeksi İçme Sütleri Tebliğine göre sütlere uygulanan ısıl işlemler 4'e ayrılmaktadır (Resmî Gazete, 2019a):

- Pastörizasyon
- Sterilizasyon
- Termizasyon
- Ultra yüksek sıcaklık (UHT).

Pastörizasyon, sütteki patojen mikroorganizmaların vejetatif formlarının tamamını elimine etmek amacıyla uygulanan, sütlerde en az düzeyde fiziksel ve kimyasal değişikliğe neden olan, çiğ süütün en az 72 °C'de 15 sn veya 63 °C'de 30 dk işlem görmesidir. Yüksek sıcaklıkta pastörizasyon ise, 85 °C ve üzerindeki kısa süreli ısıl işlemi tanımlamaktadır (Resmî Gazete, 2019a; Resmî Gazete, 2019b).

Sterilizasyon, ürünleri oda sıcaklığında saklayabilmek amacıyla, en az 115 °C 13 dk veya 121 °C 3 dk boyunca gerçekleştirilen ısıl işlemi ifade etmektedir. UHT ise, kısa süreli, sütte canlı mikroorganizma veya gelişim kabiliyetine sahip sporların oluşmamasını sağlayan, 135 °C'den az olmayan, ısıl işlemdir (Resmî Gazete, 2019a).

Sütlere uygulanan ısıl işlem ve uzun süreli depolama, gıda kalitesinin önemli bir göstergesi olan ve toksik olabilen Amadori bileşiklerinin oluşumuna yol açan Maillard reaksiyonuyla sonuçlanmaktadır (Saeed vd., 2017).

### **2.3 Maillard Reaksiyonu**

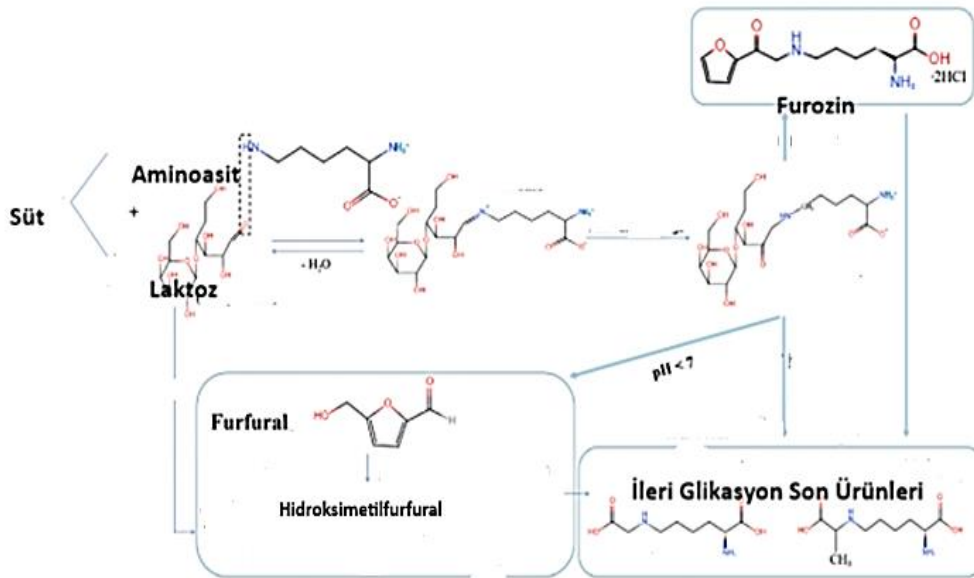
Maillard reaksiyonu; 1912'de Louis Camille Maillard tarafından, besinin işlenmesi ve depolanması sırasında oluşan, glikoz ve laktoz gibi indirgeyici

şekerlerin karbonil grubu ile amino asitlerin amino grubu arasındaki non-enzimatik reaksiyon olarak tanımlanmıştır (Aljahdali ve Carbonero, 2019).

Süt proteini ve laktoz, sütün iki ana bileşeni olarak, yüksek kimyasal aktivitelere sahiptir, Maillard reaksiyonunda reaktan olarak yer almaktadırlar ve oluşturdukları Maillard reaksiyon ürünleri; besin aroması, besin oksidasyon direnci ve ilaç taşıyıcıları gibi çeşitli alanlarda kullanılabilir (Lund ve Ray, 2017; Xiang vd., 2021).

Sütlerde Maillard reaksiyonu ısıl işlem sırasında başlar ve özellikle sterilize süt gibi uzun ömürlü ürünlerde depolama süresince devam eder. Reaksiyon hızı, 30 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda önemli ölçüde artmaktadır (Zhao vd., 2023).

Sütteki temel indirgeyici şeker, glukoz ve galaktozdan meydana gelen ve bir disakkarit olan laktozdur. Maillard reaksiyonu başlangıç, orta ve ileri olmak üzere üç aşamaya ayrılmaktadır (Şekil 2.1) (Li vd., 2022).



**Şekil 2.1: Süt ve Ürünlerinde Maillard Reaksiyonunun Aşamaları ve İlerlemesi**

**Kaynak:** Li vd., 2022

Süt, zengin karbonhidrat ve protein içeriği nedeniyle, yüksek sıcaklıktaki ısıl işlem sırasında sıcaklığın şiddeti ve zamanına bağlı olarak Maillard reaksiyonuna yatkındır.

Depolama koşulları ve süresi de Maillard reaksiyonu oluşumunda etkili bir faktördür (Aalaei vd., 2019).

Isıl işlemin türüne bağlı olarak çeşitli Maillard reaksiyon bileşikleri meydana gelmektedir. Bu bileşikler arasında furozin, Ne-karboksimetillizin, 5-HMF, piralin ve pentozidin yer almaktadır. Bunlar, yüksek düzeyde veya hafif ısıl işlem görmüş, ultra yüksek sıcaklıkta işlenmiş veya pastörize süt gibi besinlerin nütrisyonel değerlendirmesi için kullanılan belirteçlerdir (Li vd., 2022). Furozin, furfuraller ve ileri glikasyon son ürünleri gibi Maillard reaksiyon ürünlerinin insan sağlığında ve besinler üzerinde olumsuz etkileri bulunabilmektedir (Goulding vd., 2020; Zhao vd., 2023). Bunlar arasında;

- Besin kalitesinin bozulması,
- Besin değerinin azalması,
- Vücut için toksik ve kanserojenik olabilecek bileşiklerin oluşması yer almaktadır.

Erken Maillard reaksiyonunda bir aldehit olan laktoz, proteine bağlı lizinin amino grubuyla bir Schiff bazı oluşturur ve daha sonra proteine bağlı Amadori ürününe, laktulosil-lizine dönüşür ve bu aşamadaki en önemli sonuç lizinin kullanılabilirliğinin kaybıdır (Huan vd., 2024).

Amadori ürünleri, aynı zamanda, tripsin ve karboksipeptidaz gibi proteinazların erişimini azaltarak proteinlerin sindirilebilirliğini azaltabilirler. Schiff bazından sonra oluşan Amadori ürünleri asidik hidroliz (6 M HCl, 110 °C, 24 saat) ile furozine dönüştürülür. Bu ise erken Maillard reaksiyonu sırasında oluşan Amadori bileşikleri için özel bir kimyasal belirteçtir. Bu nedenle, Amadori bileşikleri genellikle asit hidroliz ürünü olan furozin cinsinden ölçülmektedir (Li vd., 2022).

Proteinler glikolize edildiğinde; metabolik süreçler için gerekli olan lizinin kullanılabilirliğinin ve proteinlerin sindirilebilirliğinin azalması olası patojenik etkiler ile sonuçlanabilmektedir (Dong vd., 2023).

Maillard reaksiyonunun orta aşamasında, Amadori ürünlerinin enolizasyonu meydana gelmekte olup, pH aracılı bu reaksiyonda; pH değeri 7'nin altına indiği

takdirde, pentozlar furfurala, heksozlar ise HMF'ye dönüşmektedir (Özdal vd., 2018).

Maillard reaksiyonunun daha sonraki aşamalarında ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşmaktadır. AGE, insan vücudunda endojen olarak oluşabilmekte veya ekzojen olarak besinler yoluyla alınabilmektedir. Proteinlerin vücuttaki fonksiyonlarını olumsuz etkileyerek oksidatif stres veya inflamatuvar süreçlere neden olabilmektedir (Al-Abbasy vd., 2024).

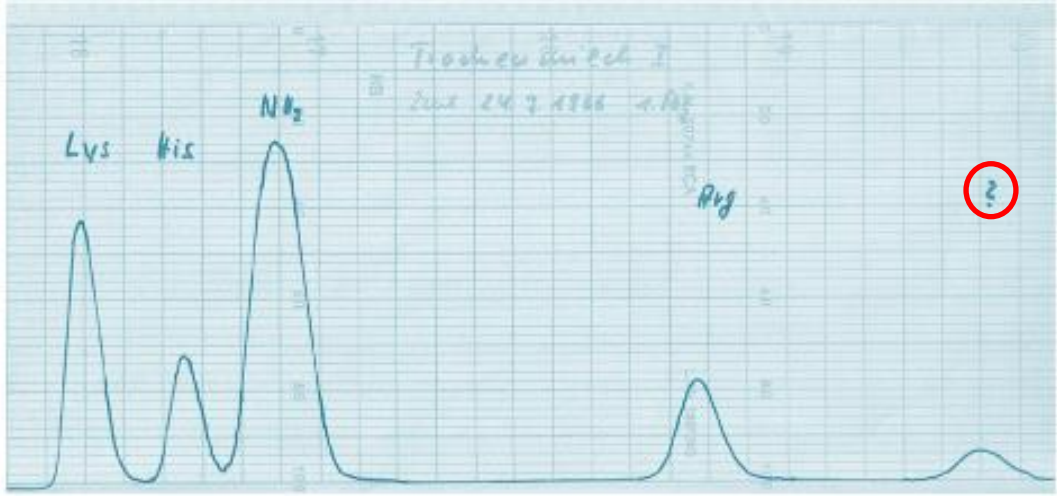
Karbonhidrat türünün Maillard reaksiyonu üzerine önemli etkisi bulunmaktadır. Maltodekstrin ve laktoz karşılaştırıldığında laktozun amin grubuyla daha kolay reaksiyona girdiği belirtilmektedir. Laktoz hidrolizi sırasında yüksek konsantrasyonlarda monosakkaritler olan glukoz ve galaktoz oluşmaktadır. Bu monosakkaritler laktozdan daha aktif öğelerdir (Zhang vd., 2024).

Laktoz hidrolizi ve/veya protein takviyesi, UHT işleme tabi tutulmuş süt ürünlerinde Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşumu açısından yüksek risk oluşturabilmektedir. Çeşitli sütlere uygulanan ısı işlemlerde Maillard reaksiyonunun ilerlemesinin izlenmesi gıda güvenliği ve insan sağlığı açısından önemlidir (Aktağ vd., 2019; Li vd., 2021).

## **2.4 Furozin**

Furozin; birçok gıdada ve yenidoğan formülasyonlarında erken Maillard reaksiyonunun bir belirteci olarak ve süte uygulanan ısı işlemin şiddetini değerlendirmek için kullanılmaktadır (Bi vd., 2023).

Hafif ve çok ısıtılmış, kurutulmuş yağsız süttten hazırlanan asit hidrolizatın kolon kromatogramlarında, furozinin varlığına işaret eden bir pik görülmüştür; bu pik, kimyasal yapısı henüz tanımlanmadığı için o dönemde "bileşik x" olarak adlandırılmıştır. "Bileşik x" keşfinin tesadüfen olduğu belirtilmektedir. Daha sonra, bileşiğin e-fruktozlinin parçasının türevi olduğu, lizin ve glukozun bileşiğin oluşumunda rol oynadığı belirtilmiştir (Şekil 2.2) (Zhang vd., 2024).

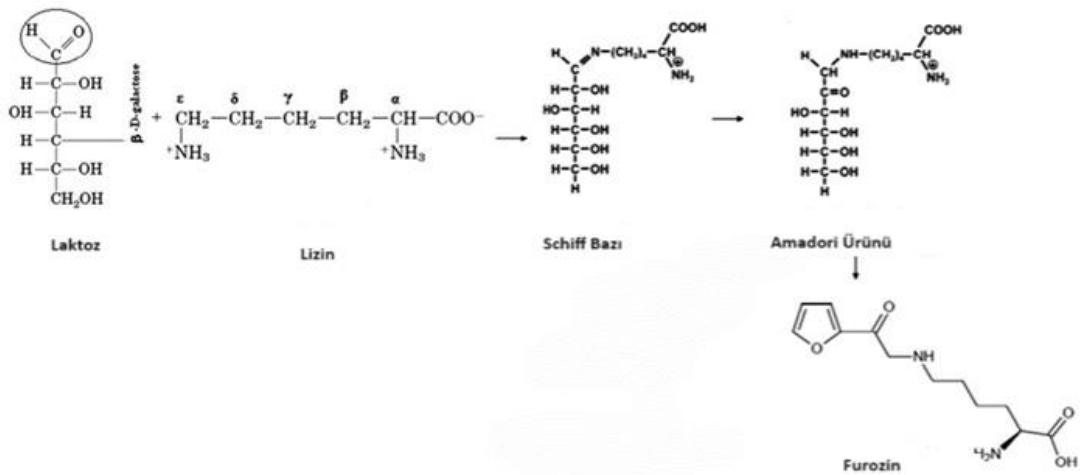


**Şekil 2.2: Furozin (Bileşik x)'in İlk Kromatogramı**

**Kaynak:** Erbersdobler ve Somaza, 2007

Furozin; lizinin, laktoz, glikoz ve galaktoz ile tepkimesiyle ortaya çıkan Amadori bileşiklerinin (laktulozil-lizin, fruktozil-lizin ve tagatozil-lizin) asit hidrolizi sırasında oluşmaktadır (Şekil 2.3) (Lv vd., 2024).

Sütlere, uygulanan ısıl yükün artmasıyla, ısıl hasarın göstergesi olan, furozin miktarının da artması beklenmektedir. Furozin, özellikle, 30 °C ve üzeri sıcaklıklarda yükselişe geçmektedir. Furozin analizi için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yaygın olarak kullanılmaktadır (Schmidt vd., 2017; Li vd., 2019).



**Şekil 2.3: Furozin Oluşumu**

**Kaynak:** Nielsen vd., 2022

### **2.4.1 Furozinin Sağlık Üzerine Etkileri**

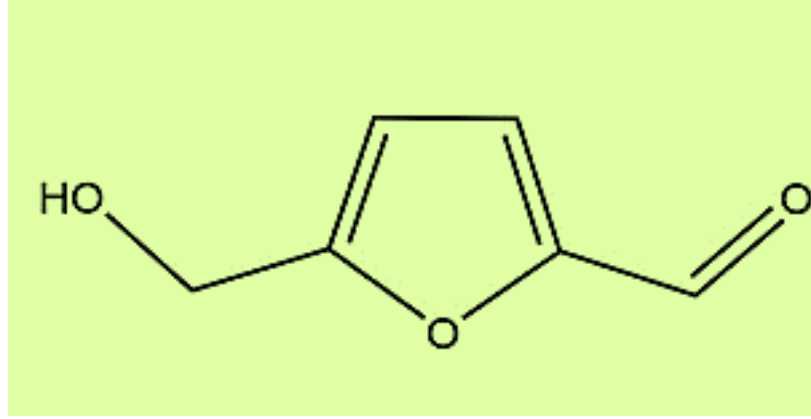
Furozinin *in vitro* hücre hatlarındaki doz yanıt ilişkilerini ve toksik etkilerini araştıran bir çalışmada, furozinin böbrek Hek-293 hücre hatları için güçlü bir genotoksik ajan olduğu ve düşük konsantrasyonlarda bile önemli deoksiriboz nükleik asit (DNA) hasarı ve hücre ölümüne yol açtığı bildirilmiştir. Furozinin absorpsiyonu sonrasındaki etkilerini belirlemek için *in vivo* böbrek fonksiyonları üzerindeki etkisinin de değerlendirilmesine ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (Saeed vd., 2017).

İntragastrik gavaj fare modeli ile kontrollü olarak yapılan başka bir çalışmada 42 gün boyunca farklı düzeylerde furozin farelere uygulanmış ve karaciğer dokusuna sitotoksitesi araştırılmıştır. Doza bağlı şekilde, kontrol grubuna kıyasla, fare serumlarında alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Uzun süre furozine maruziyetin karaciğer hasarı ve kronik inflamasyon ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Li vd., 2019).

Furozinin kronik hastalıklar ile ilişkisi ve hedef organlar üzerinde oluşturabilecek toksisitesinin geniş kapsamlı olarak aydınlatılması; besin sanayisinde furozin oluşumunu en aza indirmek ve güvenli gıda üretimini optimize etmek için önem taşımaktadır (Li vd., 2018).

### **2.5 5-Hidroksimetilfurfural**

5-Hidroksimetilfurfural (5-HMF), ısı işlem görmüş gıdalarda Maillard reaksiyonu ve karamelizasyon gibi enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları ile oluşan ve gıda kontaminantı olarak kabul edilen heterosiklik bir üründür (Şekil 2.6) (Pastoriza De La Cueva vd., 2017).



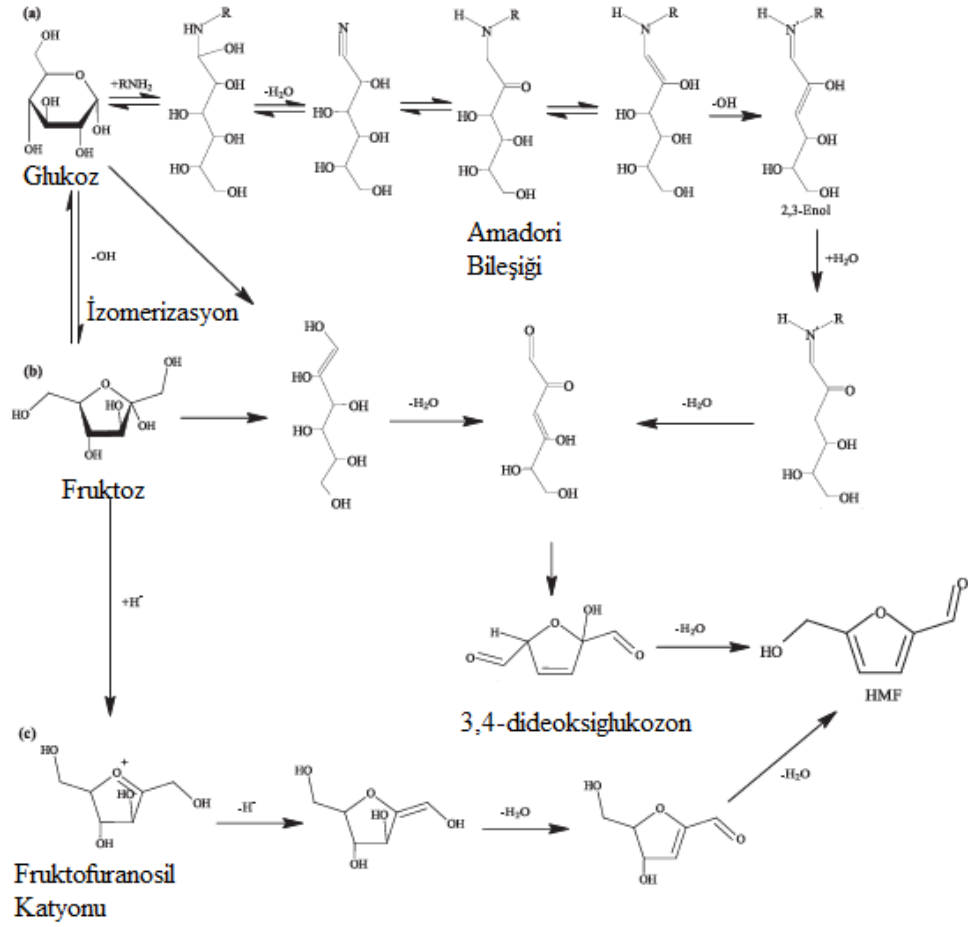
**Şekil 2.4: Hidroksimetilfurfuralın Kimyasal Yapısı**

**Kaynak:** Li vd., 2023

5-Hidroksimetilfurfural oluşumu, artan sıcaklıkta (>100 °C) lizin yokluğunda laktozun izomerizasyonu ve bozunması yoluyla da gerçekleşebilmektedir. Depolama koşulları 5-HMF oluşumunu etkilemektedir. Yüksek 5-HMF konsantrasyonları, iyi olmayan depolama koşullarına işaret edebilmektedir (Shapla vd., 2018; Zhang vd., 2022).

Furfuralın oluşumu, şeker ve amino asit bileşimi, pH değeri ve ısıtma koşullarından etkilenmektedir. Karamel, kurutulmuş meyveler, kahve; 5-HMF konsantrasyonu açısından zengin ürünlerdir (Shapla vd., 2018; Zhang vd., 2019).

Sütteki 5-HMF içeriği ısıl işlem, saklama koşulları ve sütün bileşimi gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Yüksek sıcaklığın HMF seviyelerinde artışa yol açtığı bildirilmektedir. 5-HMF tespiti için yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında HPLC yer almaktadır (Zhang vd., 2022; Zhao vd., 2023). Maillard reaksiyonu veya karamelizasyon ile HMF oluşabilmektedir (Şekil 2.5) (Martins vd., 2022).

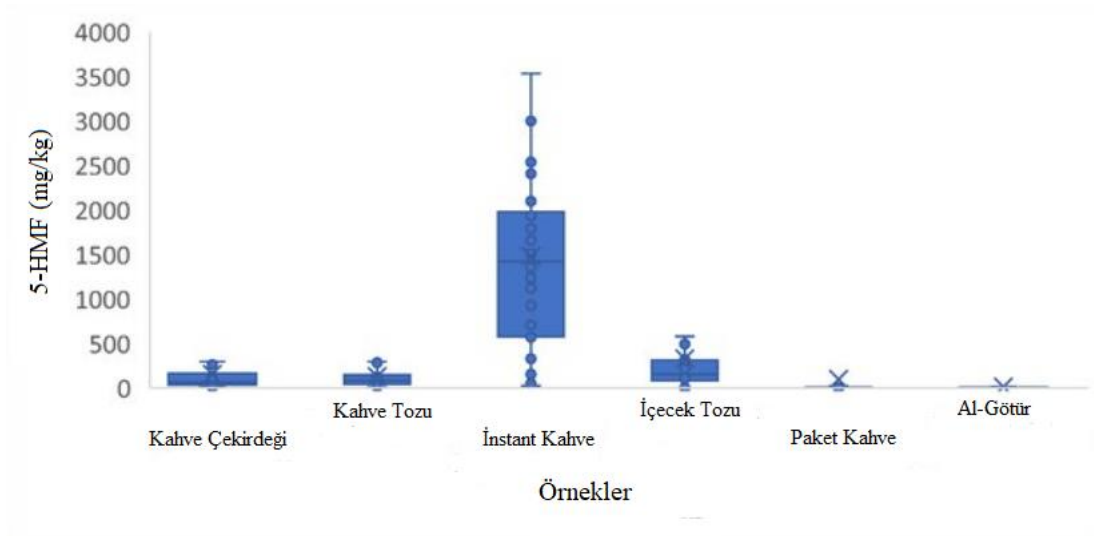


**Şekil 2.5: Glikoz (a) ve Fruktozdan (b) Maillard Reaksiyonu ile/ya da Fruktofuranozil Katyonundan (c) Karamelizasyon Yolu ile HMF Oluşumu**

**Kaynak:** Martins vd., 2022

Çeşitli besinler ile günlük 30-150 mg HMF'nin vücuda alınabildiği belirtilmiştir. HMF için güvenilir alım düzeyi henüz netlik kazanmamıştır. HMF'nin metabolizması, biyotransformasyonu ve atılımı her bireyin organ fonksiyonuna göre farklılık gösterebilmektedir. Sütlerde, furfuralin izin verilen maksimum limitine ilişkin açık bir bilgi bulunmamaktadır. Genellikle, Maillard reaksiyon ürünlerinin mümkün olduğu kadar düşük seviyede tutulması önerilmektedir. (Shapla vd., 2018; Guan vd., 2023).

Bazı farklı kahve içeceklerinin furfural türevlerince durumları Şekil 2.6'da gösterilmektedir (Liu vd., 2023).



**Şekil 2.6: Kahve Çekirdeği ve Farklı Hazırlanmış Kahve İçeceklerin 5-HMF Seviyeleri (mg/kg)**

**Kaynak:** Liu vd., 2023

### 2.5.1 5-Hidroksimetilfurfural ve Sağlık Üzerine Etkileri

5-HMF, Maillard reaksiyonunun ara ürünlerinden biridir sütün ısıl işlem hasarını değerlendirmek için kullanılabilir. 5-HMF, son yıllarda yoğun olası toksikolojik etkisiyle dikkat çekmektedir. İlgili araştırmalar, 5-HMF'nin sitotoksik ve genotoksik etkilere sahip olabileceğini göstermiştir (Jiang vd., 2022; Zhao vd., 2023; Han vd., 2024).

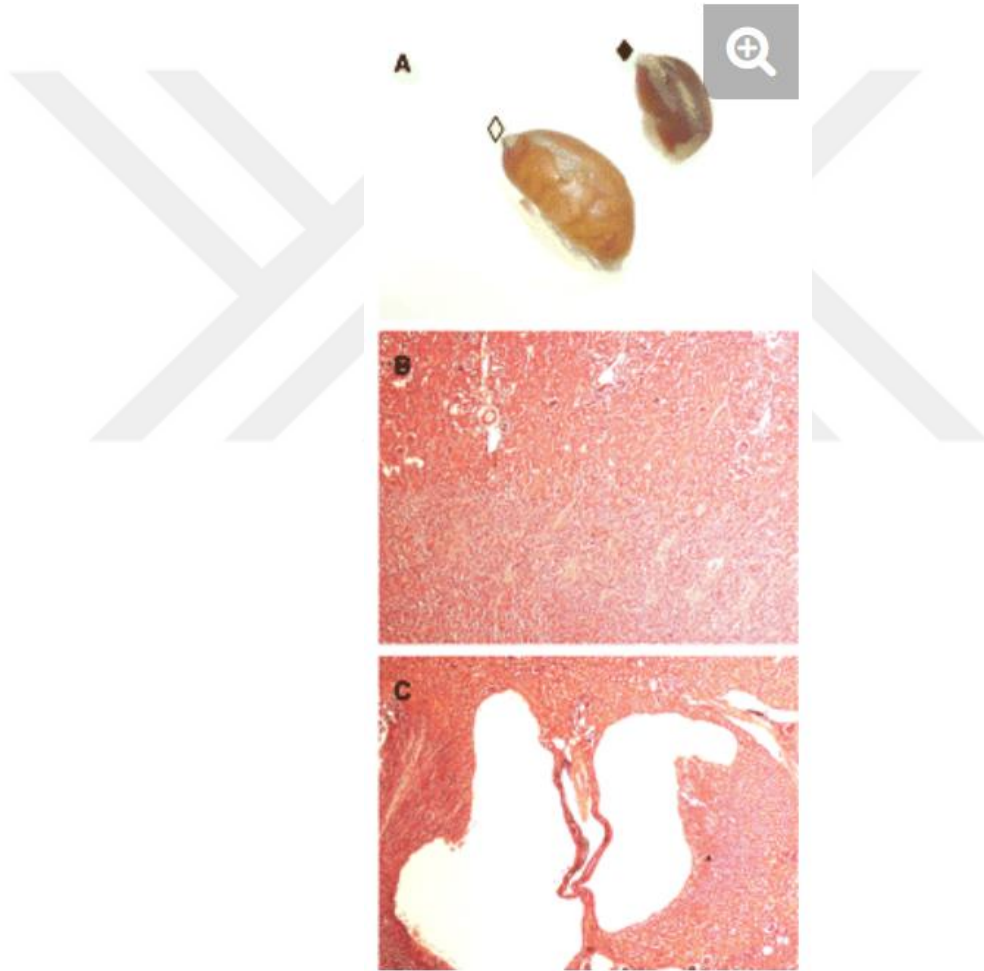
5-Hidroksimetilfurfural, insan hücreleri üzerinde istenmeyen etkilere neden olabilmektedir. Olası kanserojenik, mutajenik, sitotoksik ve genotoksik etkileri nedeniyle, farklı yiyecek ve içeceklerdeki dağılımı önceki araştırmalarda nicel olarak incelenmiştir (Høie vd., 2015; Zhang vd., 2019).

5-HMF metabolitlerinden olan 5-sülfoksimetilfurfuralın (5-SMF) olumsuz etkileri sağlık açısından endişe uyandırmaktadır (Czerwonka vd., 2020). Pre-adolesan bireyler ve deney hayvanları ile yapılan bir çalışmada, oral yoluyla alınan HMF'nin *in vivo* olarak sülfoksimetilfurfurala dönüşebildiği bildirilmiştir (Pastoriza De La Cueva vd., 2017).

5-sülfoksimetilfurfural, potansiyel genotoksik ve mutajenik etkilere sahip olabilmektedir (Høie vd., 2015). Diğer taraftan, DNA ile reaksiyona girerek

karaciğer ve böbrek hastalıklarına yol açabilen 5-sülfoksimetilfurfural, HMF'ın biyodönüşümü yoluyla üretilirken, HMF'nin insan sağlığına olumsuz etkilerinin olup olmadığı konusu henüz netlik kazanmamıştır (Seo vd., 2018).

Deney hayvanları ile yapılan bir araştırmada, farelere SMF verilmiştir. Şekil 2.7'de kontrol grubu sağlıklı farelerin böbrekleri (A◆) ve böbrek kesit (B) resimleri ve SMF ile muameleye tabi tutulan hayvanların böbrekleri (A◇) ve böbrek kesiti görüntüsü (C) gösterilmektedir. SMF'a maruz kalan hayvanların böbreklerinde büyüme ve kesit görüntülerinde ise nekroz saptanmıştır (Svendsen vd., 2009).



**Şekil 2.7:** (A) Sağlıklı Kontrol Grubu Hayvan Böbrek Resmi (◆) ve SMF Maruziyetine Uğramış Böbrek Resmi (◇) (B) Sağlıklı Hayvan Böbreği Kesiti (B) ve SMF'e Maruz Kalmış Hayvan Nekrozlu Böbrek Kesiti (C)

**Kaynak:** Svendsen vd., 2009

## 2.6 Lizin

Lizin, vücut için gerekli olan elzem aminoasitlerden birisidir. Karnitin üretimi, kolesterol seviyelerinin düşürülmesi, kemik ve bağ doku için gerekli olan kalsiyumun absorpsiyonu gibi birçok işlevi vardır. Lizin metabolizması dokuya özgüdür. Serbest bir molekül olan lizin, antioksidan tepkisinde yer alır ve protein modifikasyonlarına katılır. Kimyası hem proteomu hem de metabolomu şekillendirmektedir. Proteomda, çok sayıda posttranslasyonel modifikasyon için bir alıcıdır. Metabolomda ise, değiştirilebilir, konjuge edilebilir ve bozulabilir bir esansiyel aminoasittir (Tan vd., 2023).

Süt proteinleri nispeten yüksek miktarda lizin içerir. Lizin, işleme veya uzun süreli depolama sırasında modifikasyona duyarlıdır. Lizinin yan zincir amino grubu, laktoz veya diğer bileşiklerle reaksiyona girebilmekte ve lizinin reaktif olmayan türevleri oluşmaktadır. Bu nedenle Maillard reaksiyonunda lizinin kullanılabilirliğinin azalması dikkate alınması gereken bir süreçtir (Mehta ve Deeth, 2016; Zenker vd., 2020). TürKomp verilerine göre bazı sütlerin lizin içerikleri Tablo 2.2’de yer almaktadır (TürKomp, 2024).

**Tablo 2.2: Çeşitli Sütlerin Lizin İçerikleri (mg/100 g)**

Süt Çeşiti	Miktar (mg/100 g)
Laktozsuz Süt	322
Pastörize Tam Yağlı İnek Sütü	407
UHT-Tam Yağlı İnek Sütü	273
UHT-Yarım Yağlı İnek Sütü	355
UHT-Yağsız İnek Sütü	246

UHT: Ultra Isıl İşlem

**Kaynak:** TürKomp, 2024

Aminoasit analizleri besinsel protein kalitesini değerlendirmek için uzun süredir kullanılmaktadır. Ancak, ısıl işlem uygulanmış besinlerde aminoasit analizinin güvenilir sonuç vermediği bulunmuştur. Lizin gibi serbest amino grubu taşıyan amino asitler ısıl işlem sırasında indirgen şekerlerle kolayca reaksiyona

girebilmektedir. Bu reaksiyon sonucunda lizinin besinsel olarak erişilebilir olmadığı bileşikler oluşmaktadır. Aminoasit analizinin standart prosedürü uygulandığı zaman erişilebilir olmayan lizin, serbest lizin olarak ölçülmektedir (Matthews, 2020).

### **2.6.1 Bloke Lizin**

Sütün ısıya maruz kalmasıyla oluşan Maillard reaksiyonu, lizini bloke edebilen ve vücut tarafından emilmesini ve kullanılmasını engelleyen kompleks bileşiklerin oluşumuna yol açmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda, lizinin indirgeyici şekerlerle özellikle laktozla reaksiyona girerek biyoyararlanımını azaltan glikasyon ürünleri oluşmaktadır (He vd., 2020).

Bloke edilmiş veya glikozillenmiş lizin, lizinin metabolik süreçlerde biyolojik olarak kullanılabilirliğini azaltmaktadır. Süt proteini glikasyonunun, post-prandiyal plazma lizin kullanılabilirliğini düşürdüğü belirtilmektedir. Yüksek glikasyon seviyesine sahip proteinlerin alımını takiben lizinin daha düşük post-prandiyal kullanılabilirliği, protein kaynağının anabolik özelliklerini olumsuz etkileyebilmektedir (Nyakayiru vd., 2020).

Lizin blokajının boyutunu ve sütlerdeki biyolojik değerdeki azalmayı değerlendirmek için kullanılan yöntemler arasında furozin analizi yer almaktadır. Bağımsız olarak ölçülebilen lizin içeriğiyle birlikte furozin içeriğinin belirlenmesi, bloke edilmiş lizinin yüzdesinin hesaplanmasına olanak tanımaktadır (Zenker vd., 2020).

Proteine bağlı laktulozil-lizinin 6 M HCl kullanılarak hidrolizi ile %40 verimle lizin ve %32 verimle furozin ürettiği kabul edilmektedir. Furozin analizinden bloke lizinin belirlenmesinin dezavantajı, Amadori ürünlerinden yalnızca %30-40 verimle furozin oluşmasıdır. Maillard reaksiyonunun, yüksek şiddette ısıtılmış ürünlerde ilerlemesi, Amadori ürünlerini ve furozin içeriğini azaltan başka ara ve son glikasyon ürünlerin oluşmasına yol açmaktadır (Akıllıoğlu vd., 2022).

Isıl işlemin, genellikle benzer işleme koşullarına tabi tutulan, içme sütü, bebek mamaları, kefir ve yoğurt gibi süt ürünlerinde kullanılabilir lizin konsantrasyonunda bir azalmaya yol açabileceği belirtilmiştir (Ziarno vd., 2021).

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Gereç

Bu çalışmada, Nisan 2024 döneminde İstanbul ilindeki marketlerde satılan çiğ ve işlenmiş sütlerden toplam 42 adet örnek toplanmıştır. Toplanan örnekler İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Sabri Ülker Gıda ve Beslenme Ar-Ge Merkezi'nde ileri analizlere kadar 4 °C'de saklanmaya alınmıştır. Kaynatılmış süt örnekleri; Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi (2004) talimatına göre, çiğ sütün kaynamaya başladıktan sonra, 5 dk daha set üstü ocak ateşinde kaynatılmaya devam edilmesi ile elde edilmiştir. Örnekleme ait bilgiler Tablo 3.1'de sunulmaktadır.

**Tablo 3.1: Örneklem ve Özellikleri**

Kategorisi	İşlem Tanımı	Ürün Tanımı	Örnek Kodu	Adet
İşlenmemiş	Çiğ	Çiğ Süt	Ö1, Ö2, Ö3	3
	Kaynatma	Kaynatılmış Süt	Ö4, Ö5, Ö6	3
Isıl İşlenmiş	YS* Pastörize	Tam Yağlı	Ö7, Ö8, Ö9	3
	UHT**	Standart Tam Yağlı	Ö10, Ö11, Ö12	3
		Standart Yarım Yağlı	Ö13, Ö14, Ö15	3
		Standart Yağsız	Ö16, Ö17, Ö18	3
		Organik Tam Yağlı	Ö19, Ö20, Ö21	3
	UHT Aromalı Şekerli	Çilekli Şekerli	Ö22, Ö23, Ö24	3
		Muzlu Şekerli	Ö25, Ö26, Ö27	3
Kakaolu Şekerli		Ö28, Ö29, Ö30	3	
UHT Laktozsuz Şekersiz	Laktozsuz Standart	Ö31, Ö32, Ö33	3	
	Laktozsuz Kakaolu Şekersiz	Ö34, Ö35, Ö36	3	
	Laktozsuz Proteinli Aromalı Şekersiz	Ö37, Ö38, Ö39, Ö40, Ö41, Ö42	6	
<b>Toplam</b>				<b>42</b>

\*YS: Yüksek Sıcaklık, \*\*UHT: Ultra Isıl İşlem

Süt örnekleri ısıtılma işlem türlerine göre kategorize edilmiştir. Buna göre toplam 42 adet örnekten 3 adeti çiğ süt olarak alınmıştır. Kalan 39 adet süt örneği içinde; 3 adet kaynatılmış, 3 adet YS pastörize ve 33 adet UHT işleme görmüş standart, aromalı şekerli ve laktozsuz şekerli olan ürünler yer almaktadır. UHT laktozsuz şekerli ürün grubunda standart, kakaolu, proteinli ve aromalı alt ürün çeşitleri bulunmaktadır. Örnekler 3 paralel olarak çalışılmıştır.

Bu çalışma İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi BAP 2023-24 projesi kapsamında desteklenmiştir.

### 3.2 Kullanılan Ekipmanlar ve Kimyasallar

Çalışmada kullanılan ekipmanlar, kimyasallar ve sarf malzemelere ait bilgiler Tablo 3.2’de sunulmaktadır.

**Tablo 3.2: Analizde Kullanılan Ekipmanlar, Kimyasallar ve Sarf Malzemeleri**

Ekipman	Markası ve Menşei
Dijital Pipet	
Şırınga	
Şırınga Filtresi CA-45/25	
Vial Tüpler	
Deney Tüpleri	ISOLAB, Eschau, Almanya
Beherglas	
Falcon Santrifüj Tüpleri	
Balon Joje	
Pipet ucu	
Saf Su Sistemi	New Human Power -UV, Seul, Kore
HPLC-UV	Shimadzu LC20A, Kyoto, Japonya
Kromatografik Kolon	Agilent Zorbax SB-C8, Santa Clara, ABD

**Tablo 3.2 (Devamı): Analizde Kullanılan Ekipmanlar, Kimyasallar ve Sarf Malzemeleri**

Kromatografik Kolon	LUNA C-18, Aschaffenburg, Almanya
Kromatografik Kolon	Agilent Eclipse 08-C18
Analitik Terazî	Radwag – AS 220R2, Radom, Polonya
Santrifüj Cihazı	Weightlab Instruments-WN- CM15N, Ataşehir, İstanbul
Etüv Cihazı	Memmert UNB-400, Schwabach, Almanya
Vorteks Cihazı	Velp ZX, Usmate, Italy
Ph Metre	HANNA, Woonsocket, ABD
Hidroklorik asit	Isolab 932.103
Amonyum Asetat, $\geq 98$	Isolab 903.026
Asetonitril, $\geq 99.9\%$	Isolab 901.038
Methanol, $\% \geq 99.9$	Isolab 947.046
Trietilamin, $\% \geq 99$	Isolab 974.031
Aminoasit Standardı	Sigma Aldrich AAS18, Darmstadt, Almanya
5-(Hidroksimetil) furfural Standardı	Sigma Aldrich W501808
Fenil izotiyosiyanat, $\%98$	Sigma Aldrich 185353
Trikloroasetik asit, $\geq 99.5\%$	Sigma Aldrich 91228
Furozin Standardı	Iris Biotech HAA2960, Marktredwitz, Almanya

HPLC-UV: High Performance Liquid Chromatography

### 3.3 Yöntemler3.3.1 Furozin Analizi

Örneklerde furozin analizi kısmen modifiye edilerek Chiang (1983), Resmini vd. (1990) ve Li vd. (2021) çalışmaları takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.1.1 Örnek Hazırlama ve Kromatografik Şartlar

Cam tüpe 1 ml örnek pipet ile alınmıştır. Üzerine, 10 mL, 6 N HCl ilave edilmiştir. HCl ilave edilmiş örnek 50 mL'lik cam şişeye aktarılmış, kapak sıkıca kapatılmış ve 110,5 °C etüvde minimum 24 saat hidrolize edilmiştir. Hidrolize edilen örnek hacmi saf su ile 20 mL'e tamamlanmıştır. 20 mL'e tamamlanan örnekten 0,5 mL falkon tüpe pipetlenmiştir. Üzerine 4,5 mL amonyum asetat (pH: 6,6) ilave edilerek toplam hacmi 5,0 mL'e tamamlanmıştır. Bu solüsyon, selüloz asetat filtre ile süzülerek HPLC analizi için vialer aktarılmıştır.

Furozini tanımlamak ve kantifikasyonu için Shimadzu LC20A HPLC-UV dedektörü ve separasyon için ise Agilent Zorbax SB-C8 (4,6 mm×250 mm, 5 µm) kolonu kullanılmıştır. İleri aşamada, Mobil Faz A: 0,06 M sodyum asetat (pH: 4,3 asetik asit ile) ve Mobil faz B (Asetonitril) hazırlanmıştır.

Elüsyon gradyan programları; 0-6 dk, %100 A hattı, 6-10 dk %50 A-%50 B hattı ve 10-15 dk %100 A hattı olarak set edilmiştir. Akış 1mL/dk, enjeksiyon hacmi 10 µL, dalga boyu 280 nm ve kolon sıcaklığı 32 °C olarak ayarlanmıştır. Furozin analizi öncesi, standart eğrisi ve saf analit ile kalibrasyonu yapılmıştır.

### 3.3.2 5-Hidroksimetilfurfural Analizi

Örneklerde 5-HMF analizi kısmen modifiye edilerek Zappala vd. (2005) çalışması takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

#### 3.3.2.1 Örnek Hazırlama ve Kromatografik Şartlar

Eppendorf tüpe 1 mL örnek pipet ile alınmış ve üzerine 1 mL %10'luk trikloroasetik asit eklenmiştir. Ardından solüsyon, Weightlab Instruments-WN-CM15R, 15000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örnek selüloz asetat filtresinden süzülerek HPLC analizi için vialer aktarılmıştır.

5-Hidroksimetilfurfurali tanımlamak ve kantifikasyonu için Shimadzu LC20A HPLC-UV dedektörü ve separasyon için ise LUNA C-18 (4,6 mm×250 mm, 5 µm) kolonu kullanılmıştır. İleri aşamada, Mobil Faz A/Mobil Faz B: 92:8 (Su:Metanol) hazırlanmıştır.

Akış 1mL/dk, enjeksiyon hacmi 20 µL, dalga boyu 280 nm ve kolon sıcaklığı 25 °C olarak ayarlanmıştır. 5-HMF analizi öncesi, standart eğrisi ve saf analit ile kalibrasyonu yapılmıştır.

### **3.3.3 Lizin Analizi**

Örneklerde Lizin analizi kısmen modifiye edilerek Pehlivanoglu vd. (2021) çalışması takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

#### **3.3.3.1 Örnek Hazırlama ve Kromatografik Tanımlama**

Cam tüpe 1 mL örnek pipet ile alınmıştır ve üzerine 10 mL, 6 N HCl ilave edilmiştir. HCl ilave edilen örnek cam schot şişeye aktarılmış, kapak sıkıca kapatılmış ve 110,5 °C etüvde minimum 24 saat hidrolize edilmiştir. Hidrolize edilen örnek hacmi saf su ile 20 mL'e tamamlanmıştır. Ardından, solüsyondan falkon tüpe 0,5 mL alınmış ve üzerine 5 mL sodyum bikarbonat tamponu (pH:10) eklenmiştir. Tamponlanan örnekten 0,1 mL cam deney tüpüne alınarak üzerine 0,25 mL asetonitril:metanol:triethylamin (100:50:20) ve türevlendirme çözeltilisinden 0,1 mL fenilzotiyosiyanat ilave edilmiş, oda sıcaklığında 30 dk süreyle türevlendirme yapılmıştır. Üzerine 0,02 M amonyum asetat çözeltilisinden 1,55 mL ilave edilmiştir. En son elde edilen solüsyon, selüloz asetat filtresinden süzülerek viale aktarılmıştır.

Lizini tanımlamak ve kantifikasyonu için Shimadzu LC20A HPLC-UV dedektörü ve separasyon için Agilent Eclipse 08-C18 (4×6×150 mm, 5 µm) ters fazlı kolon kullanılmıştır. İleri aşamada, Mobil Faz A (%80): 1 L'lik balon jöjeye, 0,78 g sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ve 0,88 g disodyum hidrojen fosfat dihidrat tartılmış ve hacim deiyonize suyla tamamlanmıştır. Mobil faz B (%20): Asetonitril hazırlanmıştır. Akış 1mL/dk, enjeksiyon hacmi 10 µL, dalga boyu 254 nm ve kolon sıcaklığı 30 °C olarak ayarlanmıştır. Lizin analizi öncesi, standart eğrisi ve saf analit ile kalibrasyon yapılmıştır. Tampon çözeltilisinin pH değeri 6,8-6,9 arasında olacak şekilde ayarlanmış ve süzülmüştür.

Lizin analizi, 0,001 mg/100 g LOD ve 0,007 ila 0,161 mg/100 g LOQ ile gerçekleştirilmiştir. Okumalarda, paralel sonuçlar arasındaki farkın %15'den fazla olmaması beklenmiştir.

### **3.3.3.2 Çözeltilerin Hazırlanması**

HCl Çözeltisi (0,1 N): 8,28 mL HCl hacmi 1-L olan balon joje içerisine eklenmiş ve daha sonra hacim deiyonize suyla tamamlanmıştır.

HCl Çözeltisi (6 N): 496,8 mL HCl hacmi 1-L olan balon jojeye konulmuş ve hacim deiyonize suyla tamamlanmıştır.

Türevlendirme Çözeltisi: 1,2 mL fenilzotiyosiyanat ve 100 mL asetonitril balon jojeye alınarak türevlendirme çözeltisi hazırlanmıştır.

Amonyum Asetat Çözeltisi (0,02 M): 0,31 g amonyum asetat balon joje (200 mL) içerisine konulmuş ve hacim deiyonize suyla tamamlanmıştır.

Asetonitril:Metanol:Trietilamin Çözeltisi: 200 mL'lik balon joje içine 100 mL asetonitril, 50 mL metanol ve 20 mL trietilamin ilave edilmiştir.

Aminoasit Çözeltisi: 100 ppm aminoasit standardından 0,1 mL alınmış ve 2 mL'e dilüe edilerek 5 ppm derişime geçilmiştir.

### **3.4 İstatiksel Analiz**

Çiğ, kaynatılmış, YS pastörize ve UHT standart tam yağlı süt örneklerinin furozin, 5-HMF ve lizin değışkenleri arasındaki korelasyon Pearson's R yöntemi ile SPSS 20 (IBM Corporation, NY, ABD) paket programı kullanılarak analiz edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

Sütlere uygulanan ısıl işlemlere (kaynatılmış, YS pastörizasyon ve UHT) ve sütün yağ ve laktoz içeriklerine göre furozin, 5-HMF ve lizin seviyeleri arasındaki ilişkiler Minitab (Pensilvanya, ABD) paket programı kullanılarak tek yönlü ANOVA Tukey tekniğı ile analiz edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

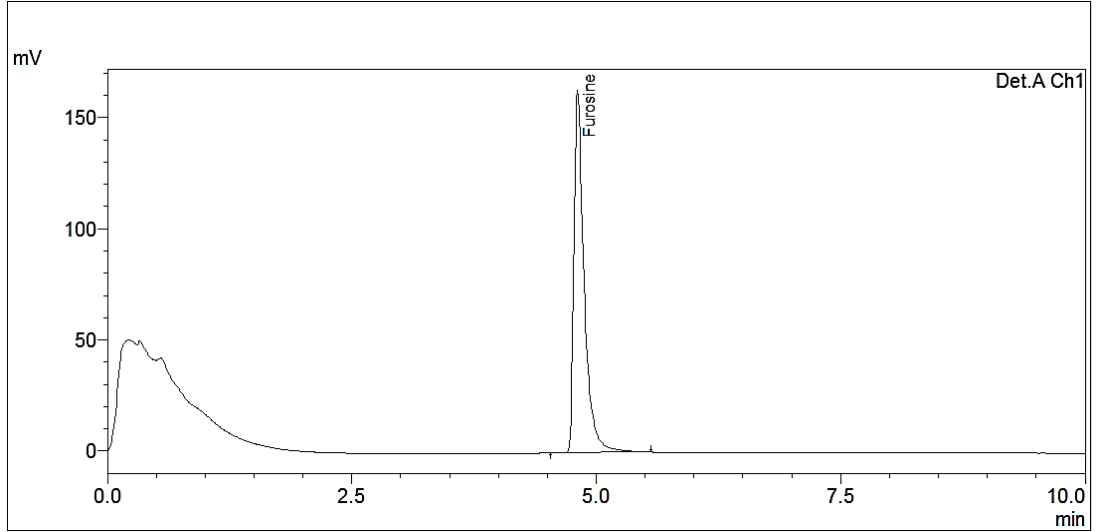
### BULGULAR

Çalışmada örneklerde furozin, 5-HMF ve lizin düzeyleri bakılmış ve ortalama (Ort.) ve standart sapma ( $\pm Ss$ ) değerleri hesaplanmıştır. Her ürün grubu için üçer örnek olmak üzere toplam 42 adet süt örneği çalışılmıştır.

#### 4.1 Furozin Bulguları

##### 4.1.1 Standart Eğri ve Kalibrasyon Bulguları

Furozin çalışılan süt örnekleri analizi öncesi, furozin standart solüsyonundan 20 ppm hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti ile standart eğri ve kalibrasyon ölçüm kontrolü gerçekleştirilmiştir. Devamında, çiğ süt örneğinde test amaçlı furozin seviyesi ölçülmüştür. Ölçümlere ait kromatograflar Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de gösterilmektedir.

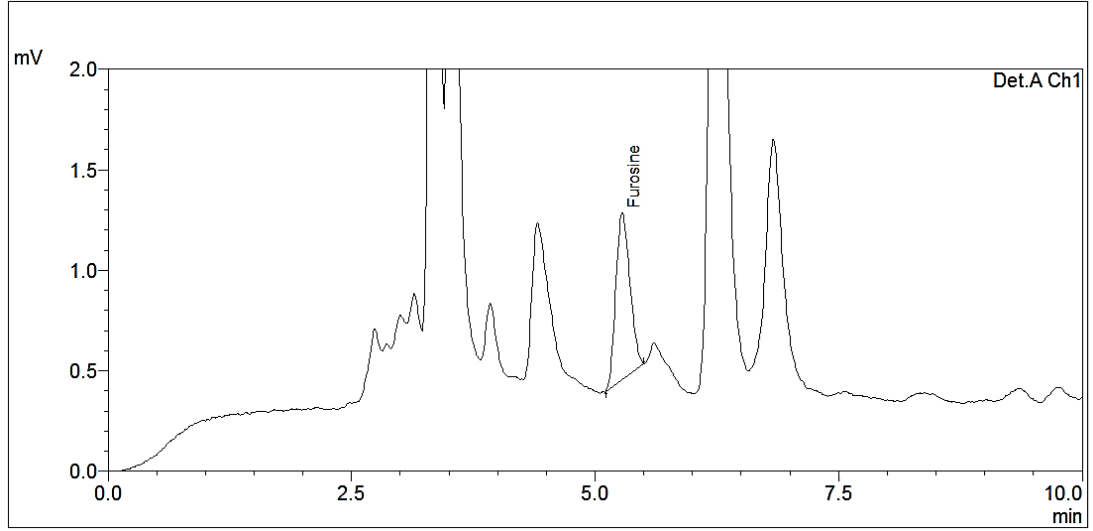


Şekil 4.1: Furozin Standart Eğri ve Kalibrasyon Kromatogramı

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Kalibrasyon Standart Eğrisi  $R^2=0,9999$

Kalibrasyon Standart Eğrisi Denklemi  $y = (1,62785e^{-0,05}).X + (0,0722219)$



**Şekil 4.2: Çiğ Süt Örneği Furozin Kromatogramı**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

#### 4.1.2 Çiğ Süt

Toplam 3 adet çiğ süt örneğinde HPLC tekniği ile furozin (F) (mg/kg) seviyesine bakılmıştır. Çiğ süt örneklerine ait furozin sonuçları Tablo 4.1’de sunulmaktadır.

**Tablo 4.1: Çiğ Süt Örnekleri Furozin Seviyeleri (mg/kg)**

Örnek	*F-1	F-2	F-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö1	4.0	3.0	10.0	5.7	3.8	
Ö2	3.0	4.0	3.0	3.3	0.6	4.5±2.2
Ö3	** n.d.	n.d.	n.d.	*** n/a	n/a	

\*F: Furozin, \*\* n.d: not detected, \*\*\* n/a: not available

İncelenen çiğ süt örnekleri arasında, Ö1 için furozin seviyesi  $5,7 \pm 3,8$  mg/kg ve Ö2 için  $3,3 \pm 0,6$  mg/kg tespit edilmiştir. Ancak, Ö3’te furozin belirlenememiştir. Üç adet çiğ süt örneği için furozin ortalaması  $4,5 \pm 2,2$  mg/kg hesaplanmıştır.

#### 4.1.3 Kaynatılmış Süt

Toplam 3 adet kaynatılmış çiğ süt örneğinde HPLC tekniği ile furozin (F) (mg/kg) seviyesine bakılmıştır. Kaynatılmış süt örneklerine ait furozin sonuçları Tablo 4.2’de sunulmaktadır.

**Tablo 4.2: Kaynatılmış Süt Örnekleri Furozin Seviyeleri (mg/kg)**

Örnek	F-1	F-2	F-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö4	37.0	33.0	39.0	36.3	3.1	
Ö5	33.0	32.0	32.0	32.3	0.6	29.9±1.2
Ö6	20.0	23.0	20.0	21.0	1.7	

F: Furozin

İncelenen kaynatılmış süt örnekleri arasında, Ö4 için furozin seviyesi  $36,3\pm 3,1$  mg/kg, Ö5 için  $32,3\pm 0,6$  mg/kg ve Ö6 için  $21,0\pm 1,7$  mg/kg tespit edilmiştir. Üç adet kaynatılmış süt örneği için furozin ortalaması  $29,9\pm 1,2$  mg/kg olarak hesaplanmıştır.

#### 4.1.4 Yüksek Sıcaklıkta Pastörize Süt

Toplam 3 adet yüksek sıcaklıkta pastörize süt örneğinde HPLC tekniği ile furozin (F) (mg/kg) seviyesine bakılmıştır. YS pastörize süt örneklerine ait furozin sonuçları Tablo 4.3’te sunulmaktadır.

**Tablo 4.3: Yüksek Sıcaklıkta Pastörize Süt Örnekleri Furozin Seviyeleri (mg/kg)**

Örnek	F-1	F-2	F-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö7	25.0	26.0	26.0	25.7	0.6	
Ö8	18.0	20.0	22.0	20.0	2.0	46.1±0.7
Ö9	93.0	94.0	91.0	92.7	1.5	

F: Furozin

İncelenen YS pastörize süt örnekleri arasında, Ö7 için furozin seviyesi  $25,7\pm 0,6$  mg/kg, Ö8 için  $20,0\pm 2,0$  mg/kg ve Ö9 için  $92,7\pm 1,5$  mg/kg tespit edilmiştir. Üç adet YS pastörize süt örneği için furozin ortalaması  $46,1\pm 0,7$  mg/kg hesaplanmıştır.

#### 4.1.5 UHT Sütler

Toplam 33 adet UHT süt örneğinde HPLC tekniği ile furozin (F) (mg/kg) seviyesine bakılmıştır. UHT süt örneklerine ait furozin sonuçları Tablo 4.4'te sunulmaktadır.

**Tablo 4.4: UHT Süt Örnekleri Furozin Seviyeleri (mg/kg)**

Örnek	F-1	F-2	F-3	Ort.	Ss ( $\pm$ )	Ort. $\pm$ Ss
Ö10	45.0	46.0	44.0	45.0	1.0	
Ö11	54.0	52.0	54.0	53.3	1.2	44.0 $\pm$ 0.4
Ö12	35.0	35.0	32.0	34.0	1.7	
Ö13	40.0	41.0	42.0	41.0	1.0	
Ö14	49.0	47.0	46.0	47.3	1.5	40.0 $\pm$ 1.3
Ö15	30.0	30.0	36.0	32.0	3.5	
Ö16	59.0	60.0	59.0	59.3	0.6	
Ö17	33.0	32.0	32.0	32.3	0.6	48.0 $\pm$ 0.5
Ö18	52.0	54.0	55.0	53.7	1.5	
Ö19	27.0	29.0	15.0	23.7	7.6	
Ö20	37.0	38.0	36.0	37.0	1.0	25.0 $\pm$ 3.7
Ö21	16.0	14.0	15.0	15.0	1.0	

**Tablo 4.4(Devamı): UHT Süt Örnekleri Furozin Seviyeleri (mg/kg)**

Örnek	F-1	F-2	F-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö22	43.0	42.0	39.0	41.3	2.1	
Ö23	15.0	16.0	14.0	15.0	1.0	
Ö24	54.0	55.0	56.0	55.0	1.0	
Ö25	42.0	40.0	43.0	41.7	1.5	
Ö26	45.0	48.0	45.0	46.0	1.7	39.0±0.6
Ö27	44.0	43.0	44.0	43.7	0.6	
Ö28	45.0	44.0	45.0	44.7	0.6	
Ö29	52.0	50.0	53.0	51.7	1.5	
Ö30	150.0	16.0	15.0	15.3	0.6	
Ö31	42.0	45.0	43.0	43.3	1.5	
Ö32	87.0	87.0	86.0	86.7	0.6	58.0±1.2
Ö33	41.0	49.0	42.0	44.0	4.4	
Ö34	246.0	250.0	237.0	244.3	6.7	
Ö35	152.0	136.0	140.0	142.7	8.3	168.0±2.9
Ö36	119.0	114.0	116.0	116.3	2.5	
Ö37	104.0	108.0	104.0	105.3	2.3	
Ö38	74.0	75.0	75.0	74.7	0.6	
Ö39	122.0	126.0	121.0	123.0	2.6	96.0±0.7
Ö40	110.0	115.0	114.0	113.0	2.6	
Ö41	71.0	67.0	70.0	69.3	2.1	
Ö42	93.0	90.0	90.0	91.0	1.7	
<b>Genel Ort. ±Ss</b>						<b>63.1±2.0</b>

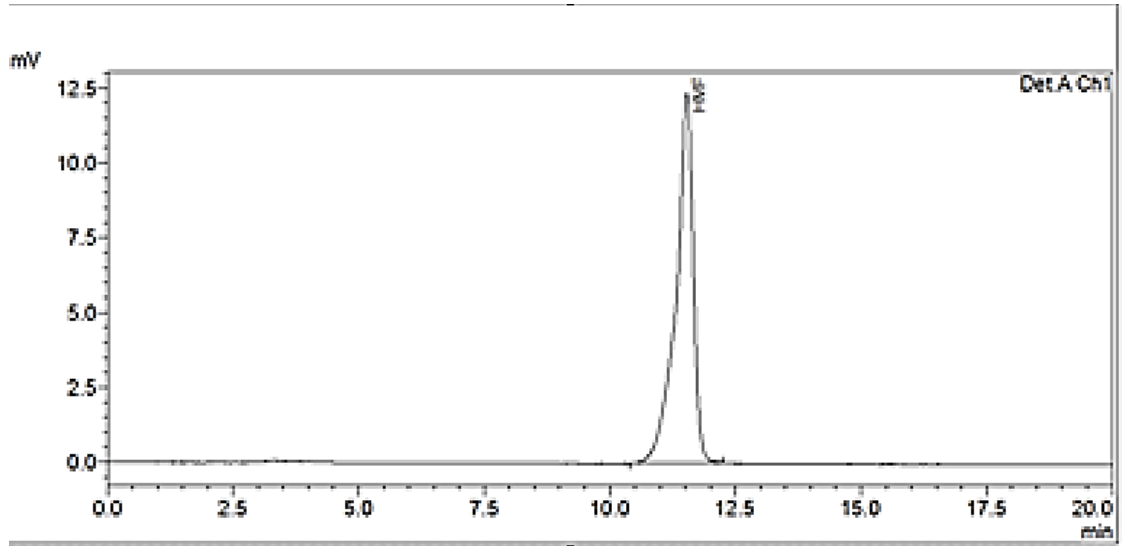
UHT: Ultra Isıl İşlem

UHT süt örnekleri arasında, furozin seviyesi, standart tam yağlı sütlerde (Ö10, Ö11, Ö12)  $44,0 \pm 0,4$  mg/kg, standart yarım yağlı sütlerde (Ö13, Ö14, Ö15)  $40,0 \pm 1,3$  mg/kg, standart yağsız sütlerde (Ö16, Ö17, Ö18)  $48,0 \pm 0,5$  mg/kg, organik tam yağlı sütlerde (Ö19, Ö20, Ö21)  $25,0 \pm 3,7$  mg/kg, aromalı şekerli sütlerde (Ö22, Ö23, Ö24, Ö25, Ö26, Ö27, Ö28, Ö29, Ö30)  $39,0 \pm 0,6$  mg/kg, laktozsuz standart sütlerde (Ö31, Ö32, Ö33)  $58,0 \pm 1,2$  mg/kg, laktozsuz kakaolu şekerli sütlerde (Ö34, Ö35, Ö36)  $168,0 \pm 2,9$  mg/kg ve laktozsuz proteinli aromalı şekerli sütlerde (Ö37, Ö38, Ö39, Ö40, Ö41, Ö42)  $96,0 \pm 0,7$  mg/kg olarak tespit edilmiştir. UHT süt örnekleri grubunun ortalama furozin düzeyi  $63,1 \pm 2,0$  mg/kg olarak hesaplanmıştır.

## 4.2 5-HMF Bulguları

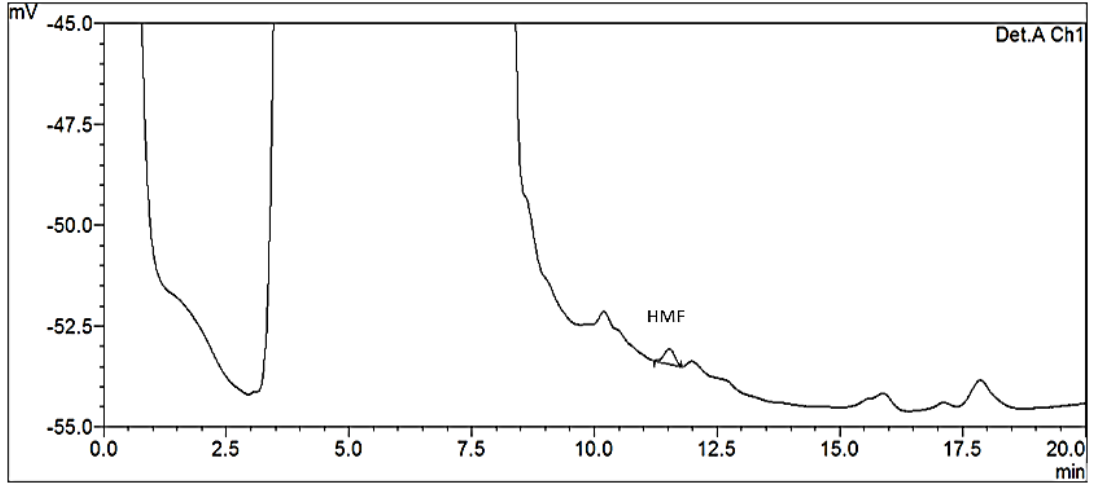
### 4.2.1 Standart Eğri ve Kalibrasyon Bulguları

5-HMF çalışılan süt örnekleri analizi öncesi HMF standart solüsyonundan 20 ppm hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti ile standart eğri ve kalibrasyon ölçüm kontrolü gerçekleştirilmiştir. Devamında, çiğ süt örneğinde test amaçlı HMF seviyesi ölçülmüştür. Ölçümlere ait kromatograflar Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te gösterilmektedir.



Şekil 4.3: HMF Standart Eğri ve Kalibrasyon Kromatogramı

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.



**Şekil 4.4: Çiğ Süt Örneği HMF Kromatogramı**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Kalibrasyon Standart Eğrisi  $R^2=0,9999$

Kalibrasyon Standart Eğrisi Denklemi  $y = (6,64328e^{-0,06}).X + (-0,00182497)$

#### 4.2.2 Çiğ Süt

Toplam 3 adet çiğ süt örneğinde HPLC tekniği ile 5-HMF (mg/100ml) seviyesine bakılmıştır. Çiğ süt örneklerine ait 5-HMF sonuçları Tablo 4.5'te sunulmaktadır.

**Tablo 4.5: Çiğ Süt Örnekleri 5-HMF Seviyeleri (mg/100 mL)**

Örnek	HMF-1	HMF-2	HMF-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö1	0.040	0.038	0.036	0.038	0.002	
Ö2	0.017	0.018	0.008	0.014	0.006	0.091±0.002
Ö3	0.221	0.221	0.224	0.222	0.002	

HMF: Hidroksimetilfurfural

İncelenen çiğ süt örnekleri arasında, Ö1 için HMF seviyesi  $0,038\pm0,002$  mg/100 mL, Ö2 için  $0,014\pm0,006$  mg/100 mL, Ö3 için  $0,222\pm0,002$  mg/100 mL tespit edilmiştir. Üç adet çiğ süt örneği için HMF ortalaması  $0,091\pm0,002$  mg/100 mL hesaplanmıştır.

### 4.2.3 Kaynatılmış Süt

Toplam 3 adet kaynatılmış çiğ süt örneğinde HPLC tekniği ile HMF (mg/100mL) seviyesine bakılmıştır. Kaynatılmış süt örneklerine ait HMF (mg/100mL) sonuçları Tablo 4.6'da sunulmaktadır.

**Tablo 4.6: Kaynatılmış Süt Örnekleri 5-HMF Seviyeleri (mg/100 mL)**

Örnek	HMF-1	HMF-2	HMF-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö4	0.046	0.055	0.04	0.047	0.008	
Ö5	0.023	0.024	0.027	0.025	0.002	0.048±0.005
Ö6	0.077	0.058	0.078	0.071	0.011	

HMF: Hidroksimetilfurfural

Kaynatılmış süt örneklerinde HMF değeri Ö4 için 0,047±0,008 mg/100 mL, Ö5 için 0,025±0,002 mg/100 mL, Ö6 için 0,071±0,011 mg/100 mL hesaplanmıştır.

### 4.2.4 YS Pastörize Süt

Toplam 3 adet YS pastörize süt örneğinde HPLC tekniği ile HMF (mg/100mL) seviyesine bakılmıştır. YS pastörize süt örneklerine ait HMF (mg/100mL) sonuçları Tablo 4.7'de sunulmaktadır.

**Tablo 4.7: YS Pastörize Süt Örnekleri 5-HMF Seviyeleri (mg/100 mL)**

Örnek	HMF-1	HMF-2	HMF-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö7	0.024	0.025	0.028	0.026	0.002	
Ö8	0.039	0.037	0.005	0.027	0.019	0.196±0.014
Ö9	0.557	0.548	0.501	0.535	0.030	

YS: Yüksek Sıcaklık

Yüksek sıcaklıkta pastörize süt örneklerinde Ö7 için HMF düzeyi 0,026±0,002 mg/100 mL, Ö8 için 0,027±0,019 mg/100 mL, Ö9 için 0,535±0,030 mg/100 mL tespit edilmiştir.

#### 4.2.5 UHT Sütler

Toplam 33 adet UHT süt örneğinde HPLC tekniği ile 5-HMF (mg/100mL) seviyesine bakılmıştır. UHT süt örneklerine ait 5-HMF sonuçları Tablo 4.8’de sunulmaktadır.

**Tablo 4.8: UHT Süt Örnekleri 5-HMF Seviyeleri (mg/100 mL)**

Örnek	HMF-1	HMF-2	HMF-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö10	0.094	0.093	0.076	0.088	0.010	
Ö11	0.149	0.138	0.142	0.143	0.006	0.115±0.004
Ö12	0.118	0.112	0.115	0.115	0.003	
Ö13	0.159	0.153	0.123	0.145	0.019	
Ö14	0.090	0.104	0.103	0.099	0.008	0.084±0.009
Ö15	0.009	0.01	0.009	0.009	0.001	
Ö16	0.054	0.054	0.052	0.053	0.001	
Ö17	0.040	0.035	0.030	0.035	0.005	0.047±0.006
Ö18	0.050	0.043	0.069	0.054	0.013	
Ö19	0.042	0.04	0.039	0.040	0.002	
Ö20	0.052	0.051	0.051	0.051	0.001	0.035±0.000
Ö21	0.015	0.013	0.015	0.014	0.001	
Ö22	0.237	0.259	0.250	0.249	0.011	
Ö23	0.305	0.311	0.305	0.307	0.003	
Ö24	0.143	0.147	0.154	0.148	0.006	
Ö25	0.069	0.077	0.070	0.072	0.004	
Ö26	0.179	0.166	0.173	0.173	0.007	0.198±0.003
Ö27	0.108	0.108	0.101	0.106	0.004	
Ö28	0.251	0.241	0.259	0.250	0.009	
Ö29	0.447	0.468	0.449	0.455	0.012	
Ö30	0.026	0.021	0.023	0.023	0.003	

**Tablo 4.8 (Devamı): UHT Süt Örnekleri 5-HMF Seviyeleri (mg/100 ml)**

Örnek	HMF-1	HMF-2	HMF-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö31	0.038	0.044	0.041	0.041	0.003	
Ö32	0.072	0.07	0.063	0.068	0.005	0.067±0.001
Ö33	0.094	0.092	0.086	0.091	0.004	
Ö34	0.156	0.160	0.170	0.162	0.007	
Ö35	0.208	0.229	0.215	0.217	0.011	0.262±0.002
Ö36	0.419	0.403	0.400	0.407	0.010	
Ö37	0.196	0.185	0.168	0.183	0.014	
Ö38	0.019	0.024	0.021	0.021	0.003	
Ö39	0.070	0.071	0.069	0.070	0.001	0.067±0.008
Ö40	0.102	0.093	0.091	0.095	0.006	
Ö41	0.010	0.011	0.013	0.011	0.002	
Ö42	0.047	0.009	0.013	0.023	0.021	
<b>Genel Ort.±Ss</b>						<b>0.122±0.005</b>

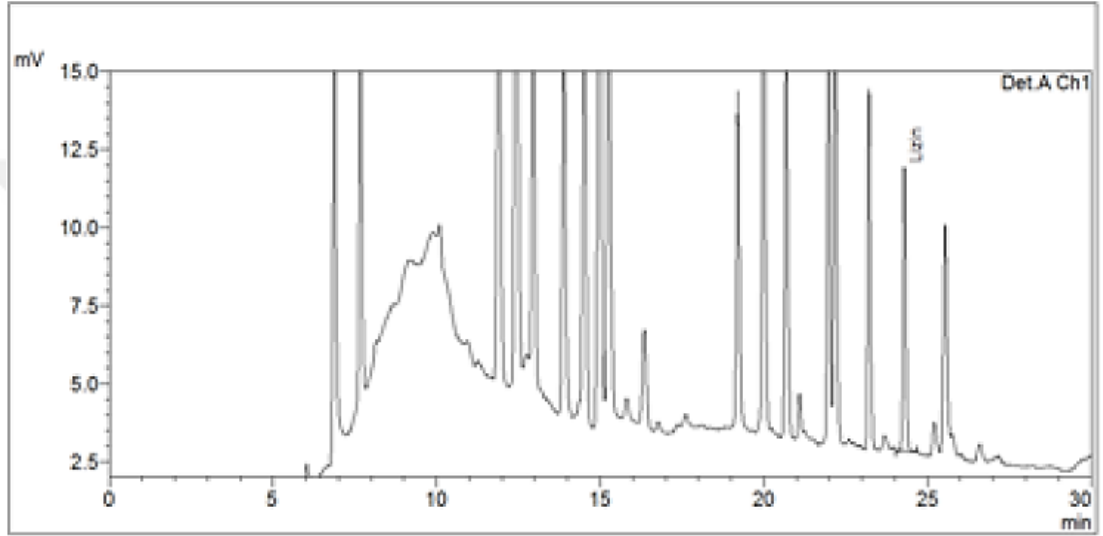
UHT: Ultra Isıl İşlem

UHT süt örnekleri arasında, 5-HMF seviyesi, standart tam yağlı sütlerde (Ö10, Ö11, Ö12) 0,115±0,004 mg/100 mL, standart yarım yağlı sütlerde (Ö13, Ö14, Ö15) 0,084±0,009 mg/100 mL, standart yağsız sütlerde (Ö16, Ö17, Ö18) 0,047±0,006 mg/100 mL, organik tam yağlı sütlerde (Ö19, Ö20, Ö21) 0,035±0,000 mg/100 mL, aromalı şekerli sütlerde (Ö22, Ö23, Ö24, Ö25, Ö26, Ö27, Ö28, Ö29, Ö30) 0,198±0,003 mg/100 mL, laktozsuz standart sütlerde (Ö31, Ö32, Ö33) 0,067±0,001 mg/100 mL, laktozsuz kakaolu şekerli sütlerde (Ö34, Ö35, Ö36) 0,262±0,002 mg/100 mL ve laktozsuz proteinli aromalı şekerli sütlerde (Ö37, Ö38, Ö39, Ö40, Ö41, Ö42) 0,067±0,008 mg/100 mL olarak tespit edilmiştir. UHT süt örnekleri grubunun ortalama 5-HMF düzeyi 0,122±0,005 mg/100 mL olarak hesaplanmıştır.

### 4.3 Lizin Bulguları

#### 4.3.1 Standart Eğri ve Kalibrasyon Bulguları

Lizin çalışılan süt örneklerinin analizi öncesi, toplam 16 farklı aminoasit içeren standart solüsyonundan 5 ppm çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti ile standart eğri ve kalibrasyon ölçüm kontrolü gerçekleştirilmiştir. Devamında, çiğ süt örneğinde test amaçlı lizin seviyesi ölçülmüştür. Ölçümlere ait kromatogramlar Şekil 4.5 ve Şekil 4.6’da gösterilmektedir.

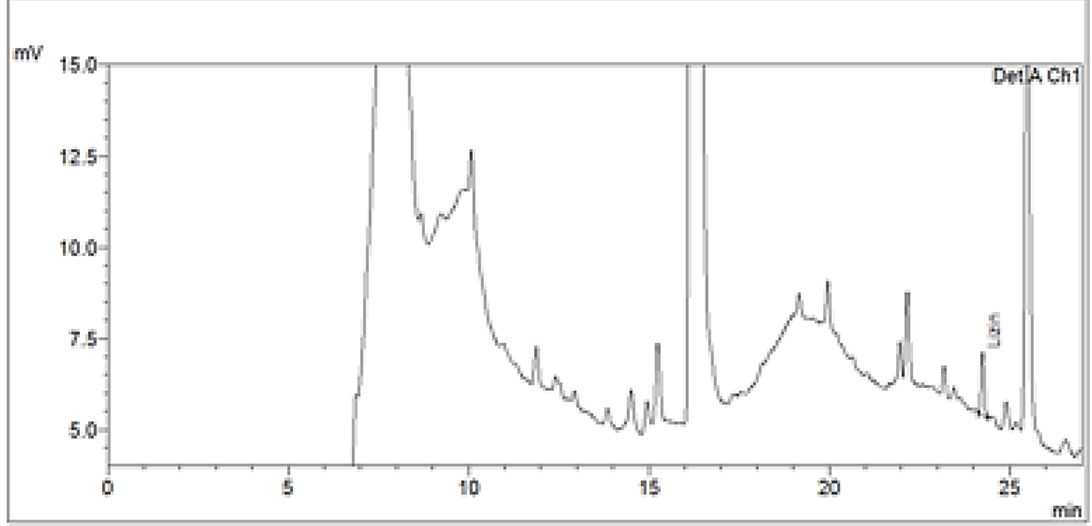


**Şekil 4.5: Aminoasit 5 ppm Çözeltisi Standart Eğri ve Kalibrasyon Kromatogramı**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Kalibrasyon Standart Eğrisi  $R^2=0,9999$

Kalibrasyon Standart Eğrisi Denklemi  $y = (3,63025e^{-0,05}).X + (0,0585566)$



**Şekil 4.6: Çiğ Süt Örneği Lizin Kromatogramı**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

#### 4.3.2 Çiğ Süt

Toplanan 3 adet çiğ süt örneğinde HPLC tekniği ile lizin (mg/100mL) seviyesine bakılmıştır. Çiğ süt örneklerine ait lizin sonuçları Tablo 4.9’da sunulmaktadır.

**Tablo 4.9: Çiğ Süt Örnekleri Lizin Seviyeleri (mg/100 mL)**

Örnek	Lizin-1	Lizin-2	Lizin-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö1	306.0	261.0	272.0	279.7	23.4	
Ö2	268.0	245.0	283.0	265.3	19.1	252.6±8.7
Ö3	220.0	211.0	207.0	212.7	6.6	

İncelenen çiğ süt örnekleri arasında lizin düzeyleri Ö1 için  $279,7 \pm 23,46$  mg/100 mL, Ö2 için  $265,3 \pm 19,14$  mg/100 mL, Ö3 için  $212,7 \pm 6,66$  mg/100 mL olarak tespit edilmiştir.

### 4.3.3 Kaynatılmış Süt

Toplam 3 adet kaynatılmış çiğ süt örneğinde HPLC tekniği ile Lizin (mg/100mL) seviyesine bakılmıştır. Kaynatılmış süt örneklerine ait Lizin (mg/100mL) sonuçları Tablo 4.10'da sunulmaktadır.

**Tablo 4.10: Kaynatılmış Süt Örnekleri Lizin Seviyeleri (mg/100 mL)**

Örnek	Lizin-1	Lizin-2	Lizin-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö4	278.0	269.0	261.0	269.3	8.5	
Ö5	292.0	291.0	298.0	293.7	3.7	278.1±2.4
Ö6	275.0	274.0	265.0	271.3	5.5	

Kaynatılmış süt örneklerinde Ö4 için 269,3±8,5 mg/100mL, Ö5 için 293,7±3,7 mg/100 mL ve Ö6 için 271,3±5,5 mg/100 mL lizin tespit edilmiştir.

### 4.3.4 YS Pastörize Süt

Toplam 3 adet YS pastörize süt örneğinde HPLC tekniği ile Lizin (mg/100mL) seviyesine bakılmıştır. YS pastörize süt örneklerine ait lizin (mg/100mL) sonuçları Tablo 4.11'de sunulmaktadır.

**Tablo 4.11: YS Pastörize Süt Örnekleri Lizin Seviyeleri (mg/100 mL)**

Örnek	Lizin-1	Lizin-2	Lizin-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö7	240.0	238.0	252.0	243.3	7.5	
Ö8	328.0	249.0	261.0	279.3	42.6	260.8±19.7
Ö9	263.0	249.0	267.0	259.7	9.4	

YS: Yüksek Sıcaklık

YS pastörize süt örneklerinde Ö7 için 243,3±7,5 mg/100 mL, Ö8 için 279,3±42,5 mg/100 mL, Ö9 için 259,7±9,4 mg/100 mL hesaplanmıştır.

#### 4.3.5 UHT Sütler

Toplam 33 adet UHT süt örneğinde HPLC tekniği ile lizin (mg/100mL) seviyesine bakılmıştır. UHT süt örneklerine ait lizin sonuçları Tablo 4.12’de sunulmaktadır.

**Tablo 4.12: UHT Süt Örnekleri Lizin Seviyeleri (mg/100 mL)**

Örnek	Lizin-1	Lizin-2	Lizin-3	Ort.	Ss (±)	Ort.±Ss
Ö10	294.0	314.0	298.0	302.0	10.6	
Ö11	293.0	317.0	290.0	300.0	14.8	276.0±8.0
Ö12	251.0	228.0	199.0	226.0	26.1	
Ö13	261.0	276.0	267.0	268.0	7.6	
Ö14	231.0	251.0	226.0	236.0	13.2	263.0±3.8
Ö15	289.0	287.0	278.0	284.7	5.8	
Ö16	247.0	256.0	276.0	259.7	14.8	
Ö17	317.0	338.0	298.0	317.7	20.0	290.0±6.3
Ö18	295.0	298.0	284.0	292.3	7.4	
Ö19	289.0	274.0	304.0	289.0	15.0	
Ö20	291.0	297.0	281.0	289.7	8.0	286.0±3.4
Ö21	292.0	268.0	278.0	279.3	12.0	
Ö22	317.0	335.0	296.0	316.0	19.5	
Ö23	276.0	251.0	273.0	266.7	13.7	
Ö24	171.0	161.0	134.0	155.3	19.1	
Ö25	287.0	281.0	317.0	295.0	19.2	
Ö26	270.0	271.0	315.0	285.3	25.7	255.0±13.3
Ö27	336.0	334.0	247.0	305.7	50.8	
Ö28	192.0	175.0	163.0	176.7	14.6	
Ö29	221.0	241.0	222.0	228.0	11.2	
Ö30	271.0	266.0	271.0	269.3	2.8	

**Tablo 4.12(Devamı): UHT Süt Örnekleri Lizin Seviyeleri (mg/100 mL)**

Ö31	307.0	288.0	268.0	287.7	307.0	
Ö32	288.0	346.0	321.0	318.3	288.0	295.0±4.8
Ö33	282.0	255.0	302.0	279.7	282.0	
Ö34	259.0	267.0	272.0	266.0	6.6	
Ö35	232.0	231.0	221.0	228.0	6.0	250.0±3.0
Ö36	254.0	254.0	256.0	254.7	1.2	
Ö37	244.0	235.0	254.0	244.3	9.5	
Ö38	236.0	256.0	243.0	245.0	10.2	
Ö39	309.0	307.0	288.0	301.3	11.6	269.0±18.2
Ö40	262.0	266.0	274.0	267.3	6.1	
Ö41	346.0	257.0	255.0	286.0	51.9	
Ö42	268.0	271.0	266.0	268.3	2.5	
					<b>Genel Ort.±Ss.</b>	<b>269.4±11.6</b>

UHT: Ultra Isıl İşlem

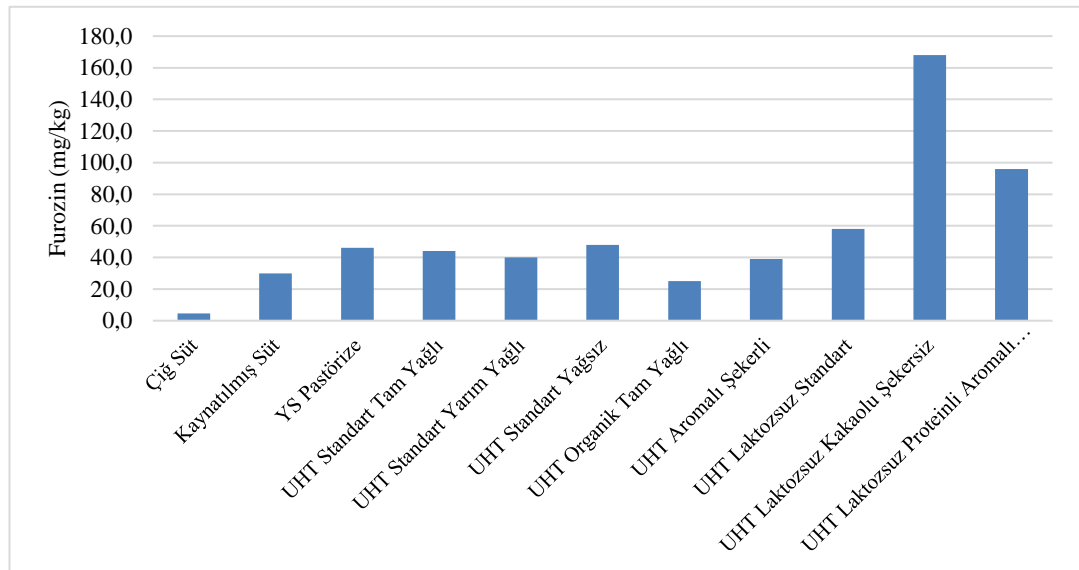
UHT süt örnekleri arasında, lizin seviyesi, standart tam yağlı sütlerde (Ö10, Ö11, Ö12) 276,0±8,0 mg/100 mL, standart yarım yağlı sütlerde (Ö13, Ö14, Ö15) 263,0±3,8 mg/100 mL, standart yağsız sütlerde (Ö16, Ö17, Ö18) 290,0±6,3 mg/100 mL, organik tam yağlı sütlerde (Ö19, Ö20, Ö21) 286,0±3,4 mg/100 mL, aromalı şekerli sütlerde (Ö22, Ö23, Ö24, Ö25, Ö26, Ö27, Ö28, Ö29, Ö30) 255,0±13,3 mg/100 mL, laktozsuz standart sütlerde (Ö31, Ö32, Ö33) 295,0±4,8 mg/100 mL, laktozsuz kakaolu şekersiz sütlerde (Ö34, Ö35, Ö36) 250,0±3,0mg/100 mL ve laktozsuz proteinli aromalı şekersiz sütlerde (Ö37, Ö38, Ö39, Ö40, Ö41, Ö42) 269,0±18,2 mg/100 mL olarak tespit edilmiştir. UHT süt örnekleri grubunun ortalama lizin düzeyi 269,4±11,6 mg/100 mL olarak hesaplanmıştır.

Tüm süt örnekleri gruplarının ortalama furozin, 5-HMF ve lizin değerleri ise Tablo 4.13, Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’da sunulmaktadır.

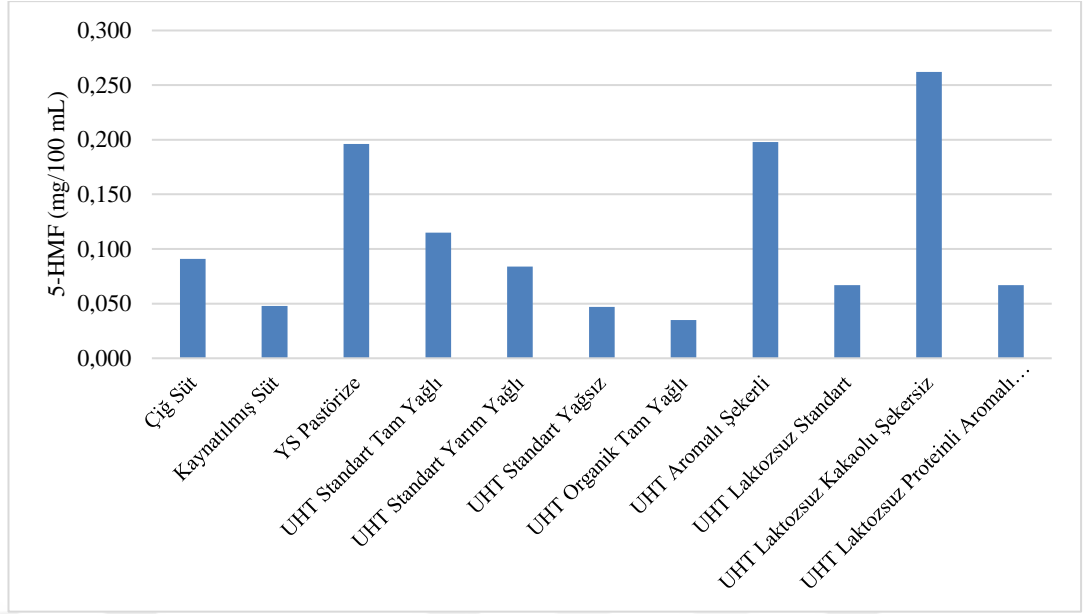
**Tablo 4.13: Süt Örnekleri Grupları Konsolide ve Ortalama Furozin, 5-HMF ve Lizin Seviyeleri**

Örnek Grubu	Alt Örnek Grubu	Furozin (mg/kg)	5-HMF (mg/100 mL)	Lizin (mg/100mL)
Çiğ Süt	-	4.5±2.2	0.091±0.002	252.6±8.7
Kaynatılmış Süt	-	29.9±1.2	0.048±0.005	278.1±2.4
*YS Pastörize	-	46.1±0.7	0.196±0.014	260.8±19.7
**UHT	Standart Tam Yağlı	44.0±0.4	0.115±0.004	276.0±8.0
	Standart Yarım Yağlı	40.0±1.3	0.084±0.009	260.0±3.8
	Standart Yağsız	48.0±0.5	0.047±0.006	290.0±6.3
	Organik Tam Yağlı	25.0±3.7	0.035±0.000	286.0±3.4
	Aromalı Şekerli	39.0±0.6	0.198±0.003	255.0±13.3
	Laktosuz Standart	58.0±1.2	0.067±0.001	295.0±4.8
	Laktosuz Kakaolu Şekersiz	168.0±2.9	0.262±0.002	250.0±3.0
	Laktosuz Proteinli Aromalı	96.0±0.7	0.067±0.008	269.0±18.2

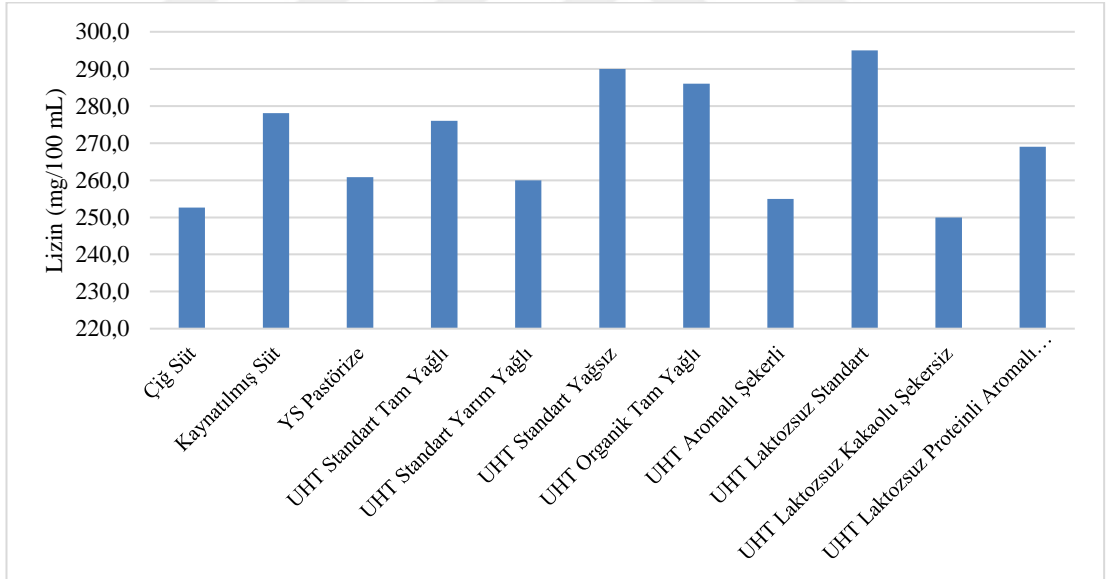
\*YS: Yüksek Sıcaklık, \*\*UHT: Ultra Isıl İşlem



**Şekil 4.7: Süt Örnekleri Furozin Seviyesi Grup Ortalamaları**



**Şekil 4.8: Süt Örnekleri 5-HMF Seviyesi Grup Ortalamaları**



**Şekil 4.9: Süt Örnekleri Lysin Seviyesi Grup Ortalamaları**

#### 4.4 Korelasyon ve Karşılaştırma Bulguları

##### Furozin, 5-HMF ve Lizin Değişkenleri Arasındaki Korelasyon Bulguları

Çiğ, kaynatılmış, YS pastörize ve UHT standart tam yağlı süt örneklerinin furozin, 5-HMF ve lizin değişkenleri arasındaki korelasyon Pearson's R yöntemi ile SPSS 20 (IBM Corporation, NY, ABD) paket programı kullanılarak analiz edilmiştir (Tablo 4.14) ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 4.14: Furozin, 5-HMF ve Lizin Değişkenleri Arasındaki Korelasyon Bulguları**

Değişkenler	Furozin	5-HMF	Lizin
Furozin	1		
HMF	$r = -0.6772$ ; $p = 0.06$	1	
Lizin	$r = 0.7625$ ; $p = 0.03$	$r = -0.8199$ ; $p = 0.01$	1

P değerinin hesaplanmasında Pearson's R Korelasyon Testi uygulanmıştır.

Buna göre;

- Furozin seviyesi ile 5-HMF seviyesi arasında anlamlı bir ilişki olmadığı ( $r = -0,6772$ ;  $p = 0,06 > 0,05$ );
- Furozin seviyesi ile lizin seviyesi arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon olduğu ( $r = 0,7625$ ;  $p = 0,03 < 0,05$ );
- 5-HMF seviyesi ile lizin seviyesi arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon olduğu ( $r = -0,8199$ ;  $p = 0,01 < 0,05$ ) tespit edilmiştir.

##### Isıl İşleme Göre Furozin, 5-HMF ve Lizin Değişkenlerinin Karşılaştırılması

Farklı ısıl işlemler (kaynatma, YS pastörizasyon ve UHT) ile furozin, 5-HMF ve lizin seviyelerinin karşılaştırılması Minitab (Pensilvanya, ABD) programı kullanılarak tek yönlü ANOVA Tukey tekniği ile analiz edilmiştir (Tablo 4.15) ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 4.15: Örneklerin Isıl İşlemlere Göre Sınıflandırılarak Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması**

Örnekler	Furozin (mg/kg)	5-HMF (mg/100 mL)	Lizin (mg/100 mL)
Çiğ Süt	3.0±3.12 <sup>b</sup>	0.091±0.098 <sup>a</sup>	252.6±34.30 <sup>a</sup>
Kaynatılmış	29.89±7.11 <sup>a</sup>	0.047±0.021 <sup>a</sup>	278.11±12.89 <sup>a</sup>
YS Pastörize	46.1±35.00 <sup>a</sup>	0.019±0.255 <sup>a</sup>	260.78±27.08 <sup>a</sup>
UHT Süt	44.11±8.48 <sup>a</sup>	0.115±0.024 <sup>a</sup>	276.0±40.70 <sup>a</sup>

Tek yönlü ANOVA Tukey testi. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasındaki farkın anlamlı olduğunu göstermektedir (p <0,05). UHT: Ultra Isıl İşlem, 5-HMF: 5-Hidroksimetilfurfural, YS: Yüksek Sıcaklık ±: Ortalama-Standart Sapma

Buna göre;

- Çiğ süt furozin düzeyi diğer ısıl işlem görmüş sütlerden anlamlı olarak düşük çıkmıştır (p=0,00<0,05).
- Kaynatılmış, YS pastörize ve UHT sütlerin furozin seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (p>0,05).
- Çiğ ve ısıl işlem görmüş sütlerin 5-HMF (p=0,16>0,05) ve lizin (p=0,25>0,05) seviyeleri arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

#### **Sütlerin Yağ ve Laktoz İçeriklerine Göre Furozin, 5-HMF ve Lizin Değişkenlerinin Karşılaştırılması**

Farklı oranlarda yağ ve laktoz içeren UHT standart tam yağlı, yarım yağlı ve yağsız sütlerde furozin, 5-HMF ve lizin seviyeleri arasındaki karşılaştırmalar Minitab (Pensilvanya, ABD) paket programı kullanılarak tek yönlü ANOVA Tukey tekniği ile analiz edilmiştir (Tablo 4.16 ve Tablo 4.17) (p<0.05).

**Tablo 4.16: Standart UHT Sütlerin Yağ İçeriklerine Göre Sınıflandırılarak Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması**

Örnekler	ÖS	Furozin (mg/kg)	5-HMF (mg/100mL)	Lizin (mg/100mL)
Yağsız UHT	3	48.44±12.36 <sup>a</sup>	0.047±0.011 <sup>b</sup>	289.89±28.33 <sup>a</sup>
YY UHT	3	40.11±6.95 <sup>a</sup>	0.084±0.060 <sup>ab</sup>	262.89±22.92 <sup>a</sup>
TY UHT	3	44.11±8.48 <sup>a</sup>	0.115±0.024 <sup>a</sup>	276.0±40.70 <sup>a</sup>

Tek yönlü ANOVA Tukey testi. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasın farkı anlamlı olduğunu göstermektedir (p<0,05). UHT: Ultra Isıl İşlem, TY: Tam Yağlı, YY: Yarım Yağlı, 5-HMF: 5-Hidroksimetilfurfural, ÖS: Örnek Sayısı, ±: Ortalama-Standart Sapma

Buna göre;

- UHT standart tam yağlı, yarım yağlı ve yağsız sütlerin furozin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığı (p>0,05);
- UHT tam yağlı standart sütlerin 5-HMF düzeyinin, UHT yağsız standart süttten anlamlı olarak daha yüksek olduğu (p=0,004<0,05);
- UHT standart tam yağlı, yarım yağlı ve yağsız sütlerin lizin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığı (p=0,21>0,05) tespit edilmiştir.

**Tablo 4.17: Laktozsuz Yarım Yağlı ve Standart Yarım Yağlı Sütlerin Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması**

Örnekler (UHT)	ÖS	Furozin (mg/kg)	5-HMF (mg/100 mL)	Lizin (mg/100mL)
Standart YY	3	39.44±7.65 <sup>b</sup>	0.084 ± 0.060 <sup>a</sup>	262.89 ± 22.92 <sup>b</sup>
Laktozsuz YY	3	58.00±21.63 <sup>a</sup>	0.066 ± 0.021 <sup>a</sup>	295.22 ± 27.54 <sup>a</sup>

Tek yönlü ANOVA Tukey testi. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasındaki farkın anlamlı olduğunu göstermektedir (p <0,05). UHT: Ultra Isıl İşlem, 5-HMF: 5-Hidroksimetilfurfural, LS: Laktozsuz, TY: Tam Yağlı, YY: Yarım Yağlı, YS: Yüksek Sıcaklık, ÖS: Örnek Sayısı, ±: Ortalama-Standart Sapma

- UHT laktozsuz yarım yağlı sütlerin furozin ve lizin düzeylerinin, UHT standart yarım yağlı sütlerden anlamlı olarak daha yüksek olduğu ( $p=0,02<0,05$ ); HMF düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığı ( $p=0,42>0,05$ ) belirlenmiştir.

### **UHT Laktozsuz Yarım Yağlı ve Laktozsuz Kakaolu Yarım Yağlı Sütlerin Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması**

UHT laktozsuz yarım yağlı standart sütler ile UHT laktozsuz kakaolu yarım yağlı sütlerin furozin, 5-HMF ve lizin içerikleri tek yönlü ANOVA Tukey testi ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.18).

**Tablo 4.18: Laktozsuz Sütlerin Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması**

<b>Örnekler (UHT)</b>	<b>ÖS</b>	<b>Furozin (mg/kg)</b>	<b>5-HMF</b>	<b>Lizin (mg/100mL)</b>
Laktozsuz YY	3	58,00±21,6 <sup>b</sup>	0,066±0,021 <sup>b</sup>	249,56±27,54 <sup>b</sup>
Laktozsuz Kakaolu YY	3	167,8±58,8 <sup>a</sup>	0,262±0,111 <sup>a</sup>	295,22±17,49 <sup>a</sup>

Tek yönlü ANOVA Tukey testi. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasındaki farkın anlamlı olduğunu göstermektedir ( $p<0,05$ ). UHT: Ultra Isıl İşlem, 5-HMF: 5-Hidroksimetilfurfural, LS: Laktozsuz, TY: Tam Yağlı, YY: Yarım Yağlı, YS: Yüksek Sıcaklık, ÖS: Örnek Sayısı, ±: Ortalama-Standart Sapma

Buna göre;

- UHT laktozsuz kakaolu yarım yağlı sütlerin furozin ve 5-HMF düzeylerinin UHT laktozsuz yarım yağlı süttten anlamlı olarak daha yüksek ( $p=0,00<0,05$ );
- UHT laktozsuz yarım yağlı sütlerin lizin düzeyinin, UHT laktozsuz kakaolu yarım yağlı süttten anlamlı olarak daha düşük ( $p=0,001<0,05$ ) olduğu bulunmuştur.

## UHT Standart Yarım Yağlı Sütler ile Aromalı Şekerli Yarım Yağlı Sütlerin Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması

UHT standart yarım yağlı sütler ile UHT aromalı şekerli yarım yağlı sütlerin furozin, 5-HMF ve lizin içerikleri tek yönlü ANOVA Tukey testi ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.19).

**Tablo 4.19: UHT Standart Yarım Yağlı Süt ile UHT Aromalı Şekerli Yarım Yağlı Sütlerin Furozin, 5-HMF ve Lizin İçeriklerinin Karşılaştırılması**

Örnekler (UHT)	ÖS	Furozin (mg/kg)	5-HMF (mg/100mL)	Lizin (mg/100mL)
Standart YY	3	40,11±13,91 <sup>a</sup>	0,084±0,060 <sup>a</sup>	262,89± 22,92 <sup>a</sup>
Aromalı Şekerli YY	9	39,37±6,95 <sup>a</sup>	0,204±0,125 <sup>b</sup>	252,3 ±57,00 <sup>a</sup>

Tek yönlü ANOVA Tukey testi. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasındaki farkın anlamlı olduğunu göstermektedir ( $p < 0,05$ ). UHT: Ultra Isıl İşlem, 5-HMF: 5-Hidroksimetilfurfural, LS: Laktozsuz, TY: Tam Yağlı, YY: Yarım Yağlı, YS: Yüksek Sıcaklık, ÖS: Örnek Sayısı, ±: Ortalama-Standart Sapma

Buna göre;

- UHT standart yarım yağlı sütlerin furozin düzeyi ile UHT aromalı şekerli yarım yağlı sütlerin arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p=0,21>0,05$ ).
- UHT standart yarım yağlı sütün 5-HMF düzeyinin, UHT aromalı şekerli yarım yağlı süttten anlamlı olarak daha düşük olduğu ( $p=0,01<0,05$ ) tespit edilmiştir.
- UHT standart yarım yağlı sütün ve UHT aromalı şekerli yarım yağlı sütün lizin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p=0,5>0,05$ ).

## BEŞİNCİ BÖLÜM

### DEĞERLENDİRME VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, çiğ ve ısıl işlem görmüş çeşitli sütlerin furozin, 5-HMF ve lizin içerikleri araştırılmıştır. Sonuç olarak, sütlerin, özelliklerine ve uygulanan ısıl işleme göre furozin, 5-HMF ve lizin düzeylerinin değişebildiği gözlemlenmiştir. Buna göre, süt ve ürünlerinde, Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşumunu, azaltacak yöntemler üzerinde araştırma yapılmasının önemli olduğu düşünülmüştür.

#### 5.1 Tartışma

Süt besin değeri açısından zengindir ancak farklı mikroorganizmalar için elverişli bir yetiştirme ortamıdır. Süt elde edilirken; çevre, sağım, depolama, taşıma ve ulaşım koşulları ürünün patojen mikrobiyal yükünü arttırabilmektedir. Tüketici sağlığını korumak ve sütün olası mikrobiyal risklerini ortadan kaldırmak için içme sütlerine genel olarak ısıl (termal) sterilizasyon işlemleri uygulanmaktadır (Akıllıoğlu vd., 2022).

Sütler, içme sütü üretim tesislerinde yüksek sıcaklıkta kısa süreli (72 s veya üstü için 15 °C) yöntemle pastörize edilebilmektedir. Yüksek kaliteli pastörize süt için raf ömrü, uygun şekilde soğutulduğunda yaklaşık 14 gündür. Ultra yüksek sıcaklık (UHT) uygulaması ile sütün raf ömrü uzatılmaktadır. UHT işlemi genel olarak 135 °C-4s uygulanmaktadır. UHT sütünler, altı aydan bir yıla kadar raf ömrüne sahiptir (Xing vd., 2021).

Sütün ısıl işlem ile mikrobiyolojik güvenliğinin sağlanması ve tüketici için güvenli hale getirilmesi bir zorunluluktur. Isıl işlemler sütün mikrobiyolojik güvenliğini korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla çeşitli teknolojik işlemler kullanılarak yapılmaktadır. Isıl işlemler ise süt proteinlerinde, başlıca, enzimatik olmayan Maillard reaksiyonunun sonucu olarak üretilen kimyasal yan ürünler ile sonuçlanmaktadır. Maillard reaksiyonu, protein glikasyonu ile başlamakta ve devamında ileri glikasyon son ürünlerine dönüşerek sonuçlanmaktadır (Gazi vd., 2022).

Maillard reaksiyonu, (i)başlangıç, (ii)orta ve (iii)ileri olmak üzere başlıca üç aşamadan meydana gelmektedir. Her aşama için farklı değerlendirme kriterleri ile indikatör kimyasal yan ürünler tanımlanmıştır (Özdal vd., 2018).

Ekzojen glikasyon bileşiklerinin bir dizi hastalığa katkıda bulunduğu ve olumsuz sağlık etkilerine neden olabileceği, üzerinde ciddiyle durulan bir araştırma alanı olmuştur (Feng, 2021).

Bu çalışmada, İstanbul ilinde bulunan marketlerden tedarik edilen; çiğ, çiğ süttten elde edilen kaynatılmış, yüksek sıcaklıkta pastörize ve UHT süt örneklerinde lizin düzeyleri ve glikasyon ürünlerinden furozin ve 5-HMF düzeylerine HPLC tekniği ile bakılmıştır. Çalışmamız, ısı işleme maruz kalmış süt örneklerindeki glikasyon ürünlerinin güncel düzeylerini incelemiş olması nedeniyle, halk sağlığının korunması ve besin kalitesinin sürdürülebilir olması açılarından literatüre katkıda bulunmuştur.

Reaktanların aktivitesi Maillard reaksiyon oluşum hızında etkilidir. Yüksekten düşüğe reaktant aktivite sırası: indirgeyici monosakkarit> indirgeyici polisakkarit, indirgeyici beş karbonlu şeker> indirgeyici altı karbonlu şeker, amin > amino asit > protein şeklindedir. Demir, bakır ve çinko iyonları gibi metal iyonlarının varlığı Maillard reaksiyonunu hızlandırabilmektedir (Xiang vd., 2021). Besin hazırlama ve depolama sırasında Maillard reaksiyonu kendiliğinden oluşabilmektedir (Li vd., 2022).

Lizin, glikasyon ürünü oluşumunda son derece aktif rol oynamaktadır. İşleme veya uzun süreli depolama sırasında modifikasyona duyarlıdır. Lizinin yan zincir amino grubu, laktoz veya diğer bileşiklerle reaksiyona girebilmektedir ve lizinin reaktif olmayan türevleri oluşmaktadır (Zenker vd., 2020).

Bu çalışmada, sütlere uygulanan ısı işlemin türüne göre (kaynatılmış, YS pastörize, UHT) sınıflandırma yapılarak, ürünlerin furozin, 5-HMF ve lizin değerleri karşılaştırılmıştır. Buna göre, çiğ süt, kaynatılmış süt, YS pastörize ve UHT sütlerde; furozin, 5-HMF ve lizin konsantrasyonları ortalamaları sırasıyla; 4,5±2,2 mg/kg, 0,091±0,002 mg/100 mL ve 252,6±8,7 mg/100 mL; 29,9±1,2 mg/kg, 0,048±0,005 mg/100 mL ve 278,1±2,4 mg/100 mL; 46,1±0,7 mg/kg, 0,196±0,014 mg/100 mL ve 260,8±19,7 mg/100 mL;

63.1±2,0 mg/kg, 0,122±0,005 mg/100 mL ve 269,4±11,6 mg/100 mL olarak tespit edilmiştir.

Bulgulara bakıldığında, furozin seviyesi açısından en düşük düzey çiğ süt grubunda 4,5±2,2 mg/kg olarak bulunmuştur. UHT grubunda yer alan bütün süt çeşitlerinin furozin düzeyi çiğ süttten daha yüksektir. Literatürde, sütlerde, Maillard reaksiyon yan ürünlerinin, UHT işlemi sırasında oluştuğu bildirilmektedir (Aktağ vd., 2019). Bu nedenle, UHT sütteki furozin içeriğinin daha yüksek olması beklenen bir durumdur. Başka bir çalışmada sterilize ve pastörize sütlerde furozin düzeyi çiğ süte göre sırasıyla 2,5-5,0 ve 1,4-2,8 kat daha yüksek tespit edilmiştir (Li vd., 2021). Sütlerin depolanma sıcaklığı Maillard reaksiyonu için önemli bir parametre olduğunda UHT sütlerin, oda sıcaklığında değil 4-6 °C sıcaklıktaki soğuk depoda saklanması önerilmektedir (Martysiak ve Stolyhwo, 2007). Üretim ve saklamanın her aşamasında sütlerin furozin içeriğinde değişiklik olabilmektedir (Akıllıoğlu vd., 2022). Bunun temel sebebi, Maillard reaksiyonunun dinamik bir süreç olmasıdır (Aktağ vd., 2019).

Ayrıca, bu çalışmada kaynatılmış süt ve YS pastörize sütlerin furozin düzeyleri çiğ sütlerin ortalama furozin düzeyinden sırasıyla 6,6 ve 10,2 kat daha yüksek belirlenmiştir. Bu değerler Li vd. (2021) bildirdikleri oranların oldukça üzerindedir. Bu farklılığın nedeni sütlere uygulanan ısıl işlem, üretim süreçleri ya da ürünlerin depolama koşullarına bağlı olabilir.

Başka bir çalışmada keçi sütlerinin furozin ve 5-HMF düzeyleri araştırılmış ve ısıl işlem sıcaklığının ve zamanın artması ile bu iki molekülün düzeyi artmıştır. Ultra yüksek sıcaklıkta sterilize (UHT) keçi sütündeki 5-HMF ve furozin içeriği sırasıyla  $1,3 \pm 0,03$  mg/L ve  $130,2 \pm 0,15$  mg/100 g protein olarak tespit edilmiştir (Guo vd., 2023). Bizim çalışmamızda ise artan ısıl işlem sıcaklığı ile furozin düzeyleri artarken, 5-HMF düzeylerinde anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ( $p>0.05$ ).

Bu çalışmada, çiğ, kaynatılmış, YS pastörize ve UHT standart tam yağlı süt örneklerinin furozin ve 5-HMF, furozin ve lizin, 5-HMF ve lizin değişkenleri arasındaki korelasyon analiz edilmiştir. Buna göre; lizin seviyesi ile furozin düzeyleri arasında, 5-HMF ve lizin konsantrasyonları arasında korelasyon olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Lizin, Maillard reaksiyonunda indirgen şekerlerle

kolayca reaksiyona girerek glikasyon ürünlerini oluşturmaktadır (Matthews, 2020). Furozin ve 5-HMF ile lizin aminoasidi arasında korelasyon bulunması lizinin reaksiyonda aktif rol alması ile açıklanabilir.

Maillard reaksiyonu dinamik bir süreçtir ve furozin reaksiyonun erken aşamasında oluşmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda (80-100 °C) furozin düzeyinin azalabileceği ve diğer glikasyon ürünlerinin konsantrasyonunun artabileceği bildirilmektedir (Shi vd., 2022).

Bir diğer taraftan ise, laktozu hidrolize edilmiş ve proteinle zenginleştirilmiş süt örneklerinin furozin düzeylerinin diğer süt örneklerine göre nispeten daha yüksek olduğu görülmüştür. Sütteki laktozun hidrolize edilmesi ile laktozun, glikoz ve galaktoza dönüşmesi ve süte protein ilavesi ile lizin konsantrasyonunun artması Maillard reaksiyonu için uygun koşullar oluşturmaktadır (Aktağ, vd., 2019). Bir çalışmada; laktozu hidrolize edilmiş sütlerde; glikoz, galaktoz, fruktoz, tagatoz ve furozin oluşumunun yüksek olduğu bildirilmiştir. (Mendoza vd., 2005). Laktozu hidrolize edilmiş sütte daha yüksek bir proteolitik aktivite olduğu belirtilmektedir (Jansson vd., 2014). Bi vd. (2023), laktozsuz sütlere farklı pastörizasyon teknikleri uygulayarak yaptıkları araştırmada; laktozsuz sütte Maillard reaksiyonunun etkisinin azaltılması için pastörizasyonun 70 °C/15 s’de gerçekleştirilmesi gerektiğini önermişlerdir. Mendoza vd. (2005) ise sütlere ısı işlem uygulandıktan sonra aseptik koşullarda laktozun hidrolize edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

5-Hidroksimetilfurfural, Maillard reaksiyonu veya karamelizasyon ile ısı işlem sırasında üretilen moleküldür. pH, basınç, sıcaklık ve gıda bileşimi gibi birçok faktör, 5-HMF’nin üretimini ve reaksiyon sürecini etkilemektedir (Xiang vd., 2021).

Isıl işleme göre sütlerin 5-HMF düzeyleri değerlendirildiğinde, çiğ ve ısı işlem görmüş sütlerin 5-HMF ( $p=0.16>0.05$ ) seviyeleri arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Başka bir çalışmada ise UHT sütteki 5-HMF içeriği anlamlı olarak pastörize süttten daha yüksek bulunmuştur (Li vd., 2021). Urgu vd. (2017) de, sütte ısı artışı ile HMF düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuç literatür ile uyum göstermemektedir. Sütlerin

depolanma süreleri ve koşulları HMF oluşumunu etkilediğinden sonuçlar arasında farklılık olabilmektedir.

Yağ içeriklerine göre standart UHT sütler analiz edildiğinde; UHT tam yağlı standart sütün HMF düzeyinin, UHT yağsız standart süttten anlamlı olarak daha yüksek olduğu ( $p=0.004<0.05$ ) tespit edilmiştir. Ülkemizde gerçekleştirilen başka bir çalışmada da UHT sütlerde yağ içeriğinin artması ile HMF düzeylerinde düşükte olsa bir artış olduğu belirlenmiştir ve çeşitli sütlerin HMF değeri pastörize tam yağlı, pastörize yağlı, UHT yağlı, UHT yarım yağlı, UHT yağsız ve UHT laktozsuz sütler için sırasıyla; 4,03  $\mu\text{mol/L}$ , 2,61  $\mu\text{mol/L}$ , 7,64  $\mu\text{mol/L}$ , 5,3  $\mu\text{mol/L}$ , 4,8  $\mu\text{mol/L}$  ve 31.5  $\mu\text{mol/L}$  olarak tespit edilmiştir (Urgu vd., 2017). Bir diğer çalışmada ise lipid bileşenlerinin ısıl işlem görmüş sütte 5-HMF konsantrasyonunu etkilemediği sonucuna varılmıştır (Czerwonka vd., 2020). Czerwonka vd.,'nin aksine başka bir çalışmada ise serbest HMF oluşumunun sütteki yağ miktarındaki artışa bağlı olarak arttığı ve süt yağının pastörize, UHT ve sterilize edilmiş sütte serbest ve toplam HMF oluşumunu etkilediği bildirilmiştir (Morales ve Jiménez-Pérez, 1999).

Çalışmamızda UHT aromalı şekerli yarım yağlı sütün HMF düzeyi, standart yarım yağlı süttten anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksek bulunmuştur. Sükrozun HMF oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir (Locas vd., 2008), sonuçlara sükrozun etki etmiş olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada, laktozsuz yarım yağlı ve standart yarım yağlı sütlerin HMF düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Başka bir çalışmada ise laktozsuz süt örneklerinin, glikoz ve galaktozun yüksek reaktivitesi nedeniyle daha yüksek HMF değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir (Özdal vd., 2018).

UHT laktozsuz kakaolu yarım yağlı sütün HMF içeriği, UHT laktozsuz yarım yağlı süttten daha yüksek bulunmuştur. Kakao kavrulduğu zaman içerisindeki 5-HMF seviyesinin arttığı bilinmektedir (Taş ve Gökmen, 2016). Diğer taraftan, kakao melanoidinlerinin depolama sırasında süt ürünlerindeki glikasyonu azaltabildiği bildirilmiştir (Zhang vd., 2021) ancak kakao elde edilirken uygulanan işlemler ve sütlere ısıl işlem uygulanması ile kakaodaki çeşitli fenolik bileşenlerin etkisi azalmış olabilir (Maldonado-Mateus vd., 2021).

Bu çalışmada, UHT tam yağlı, yarım yağlı ve yağsız sütlerin 5-HMF içerikleri sırasıyla  $0,115\pm 0,004$  mg/100mL,  $0,084\pm 0,009$  mg/100 mL ve  $0,047\pm 0,006$  mg/100 mL olarak bulunmuştur. Aktağ vd. (2019) ise, konvansiyonel tam yağlı, yarım yağlı ve yağsız UHT sütlerde, 5-HMF tespit edememişlerdir (Aktağ vd., 2019). Gana'da yapılan başka bir araştırma, süt ürünlerindeki 5-HMF seviyelerinin 1,165 ila 2,638 g/L arasında değiştiğini ve uluslararası kabul edilebilir sınırlar içinde kaldığını belirtmiştir (Adu vd., 2022). Bizim çalışmamızda ise farklı süt gruplarının 5-HMF ortalama değerleri 0,035 mg/100 mL ila 0,262 mg/100 mL aralığında tespit edilmiştir. Sütlerde genel olarak 5-HMF düzeyinin yüksek olmadığı belirlenmiştir. Bazı süt örneklerinin HMF düzeylerinin diğerlerine kıyasla daha yüksek olması ürünlerin son kullanma tarihleri ile ilgili olabilmektedir. Son kullanma tarihi yaklaşan örneklerde HMF düzeyinin daha yüksek olabileceği belirtilmiştir (Demirhan vd., 2015). Bir çalışmada, UHT sütleri oda sıcaklığında depolamanın, HMF oluşumunu iki kat arttırdığı bildirilmiştir (Cais-Sokolińska vd., 2004).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), süt ürünlerinde 5-HMF'nin maksimum kullanım sınırını 15 mg/kg olarak bildirmiştir (Hou vd., 2022). Türk Gıda Kodeksi'nde ise sütlerdeki 5-HMF veya furfural bileşiklerinin düzeyleri için bir limit belirlenmemiştir (Demirhan vd., 2015).

Isıl işleme göre sütler analiz edildiğinde; çiğ, kaynatılmış, YS pastörize ve UHT sütler arasında lizin düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Literatürde, farklı pastörizasyon ve sterilizasyon yöntemleri uygulanan sütlerde lizin içeriğinin farklılık gösterebileceği belirtilmektedir. Çalışmamızdan farklı olarak, Li ve arkadaşları çiğ süte farklı türde ısıl işlem uygulamışlar ve pastörize sütteki total lizin içeriğini sterilize sütteki total lizin içeriğinden daha yüksek bulmuşlardır (Li vd., 2021). Erbersdobler ve Somaza'nın (2007) bildirdiği üzere standart aminoasit analizi ile Amadori yapısına katılan yani aktif olmayan lizin düzeyi belirlenmeyebilmektedir. Bu nedenle bizim çalışmamızda, farklı ısıl işlemler uygulanan sütlerin lizin düzeylerinde anlamlı bir farklılık elde edilememiş olabileceği düşünülmektedir (Erbersdobler ve Somaza, 2007).

Süt proteinlerinin glikasyonu genel protein sindirilebilirliğini bozabilmektedir. Süt proteini glikasyonu insanlarda lizin erişilebilirliğini azaltmakta ve postprandiyal plazma lizin bulunabilirliğini düşürmektedir ve bu durum bir protein kaynağının

anabolik özelliklerini olumsuz etkileyebilmektedir (Jansson vd., 2014; Zenker vd., 2020).

Bu çalışmada pastörize sütlerin yapısı gereği üretim tarihleri ve analizler arasındaki geçen süre UHT sütlerden daha kısadır. UHT sütler arasında ise 5 örnek hariç diğer örneklerde üretim tarihi bulunmamakta sadece son kullanma tarihi yer almaktadır. Çalışmada son kullanma tarihi birbirine yakın olan sütler tercih edilmiştir. Ancak sütlerin depolama süreleri farklı olduğu için Maillard reaksiyonu depolama boyunca farklı düzeylerde gerçekleşmiş olabilir. Bu husus çalışmanın kısıtlılıkları arasındadır. Bu nedenle ileriki çalışmalarda kullanılacak örneklerin aynı günde bir üretim tesisinde hazırlanmış olanlar ile yürütülmesi çalışmanın sınırlılığının azaltılmasında önemli olabilir.

Çalışmalar arasındaki farklılıklara pek çok faktör katkıda bulunabilir. Pastörize ve UHT sütlerine uygulanan farklı zaman-sıcaklık parametreleri; üretim hattının türü Maillard reaksiyon ürünlerinin nihai içeriğini etkileyebilmektedir (Czerwonka vd., 2020).

Özetle, uygulanan ısıl işlemin türüne ve sütlerin çeşitli özelliklere bağlı olarak, sütler, farklı düzeylerde glikasyon ürünleri içermektedir ve bu glikasyon ürünlerinin lizin kullanılabilirliğini azalttığı bilinmektedir bu nedenle Maillard reaksiyonu ara ürünlerini azaltacak teknolojilerin geliştirilmesi, sütlerin üretim, transfer ve depolama süreçlerinde kalite kontrol aşamalarının iyileştirilmesi ve özellikle doğal koruyucu prezervantların araştırılması önemli olabilir.

## SONUÇ

Bu araştırma, farklı ısıt işlemlerden geçmiş ve içerik açısından birbirlerinden bazı farklılıklar gösteren ticari sütlerdeki başlangıç ve orta aşamalarda glikasyon ürünlerinden furozin ve 5-HMF ile bu iki hedef yan ürünün ana reaktifi olan lizin amino asidinin durumunu HPLC yöntemi ile geniş kapsamlı ortaya koyarak literatüre güncel veriler sağlamıştır. Çiğ ve ısıt işlem görmüş çeşitli sütlerin furozin, 5-HMF ve lizin içerikleri araştırılmıştır. Çiğ sütün furozin içeriği ( $3,0\pm 3,2$ ) diğer ısıt işlem görmüş sütlerden düşük; UHT laktozsuz yarım yağlı sütün furozin içeriği, UHT yarım yağlı süte kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Sütlere uygulanan ısıt işlemin ve laktozun hidrolize edilmesinin erken Maillard reaksiyon ürünü olan furozin oluşumunda etkili olabileceği anlaşılmıştır. UHT aromalı şekerli yarım yağlı sütlerin HMF düzeyleri, standart yarım yağlı sütlere göre daha yüksek tespit edilmiştir. Sonuç olarak, sütlerin, özelliklerine ve uygulanan ısıt işleme göre furozin, 5-HMF ve lizin düzeylerinin değişebildiği gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre, aşağıdaki maddeler önerilebilir:

- Isıt işlem uygulanmış, şeker ilave edilmiş ve laktozu hidrolize edilmiş sütlerde üretim ve depolama süreçlerinde glikasyon ürünlerinin oluşumu takip edilmelidir. Glikasyon ürünlerinin oluşum mekanizmaları detaylı çalışılmalı ve önleyici tedbirler geliştirebilmek için disiplinler arası çalışmalar yürütülmelidir.
- Süt ürünlerinde glikasyon ürünlerinin oluşumunu azaltacak proseslerin ve doğal koruyucu katkıların araştırılması önerilmektedir.
- Glikasyon ürünlerinin sağlık üzerinde olumsuz etkileri olabileceği bilinmektedir. Bu nedenle sütlerde ve süt ürünlerinde üst limitlerin, tolere edilebilir alım düzeylerinin belirlenmesi için çalışmaların yürütülmesi önemlidir.
- Bu konuda *in siliko*, *in vitro* ve moleküler tabanlı teknikler kullanılarak araştırmaların kapsamı ve veri kalitesi yükseltilmelidir.

## KAYNAKÇA

- Aalaei, K., Sjöholm, I., Rayner, M., Teixeira, C., & Tareke, E. (2019). Early and advanced stages of Maillard reaction in infant formulas: Analysis of available lysine and carboxymethyl-lysine. *PLoS ONE*, *14*(7): e0220138.
- Adu, J. K., Orman, E., Amengor, C. D., Peprah, P., Danso, N., & Azumah, J. A. (2022). Assessment of 5-hydroxymethylfurfural levels in carbonated soft drinks and milk products on the markets in the Kumasi Metropolis of Ghana. *Scientific African*, *17*: e01346.
- Akillioğlu, H. G., Chatterton, D. E. W., & Lund, M. N. (2022). Maillard reaction products and amino acid cross-links in liquid infant formula: Effects of UHT treatment and storage. *Food Chemistry*, *396*: e133687.
- Aktağ, I. G., Hamzalıoğlu, A. & Gökmen, V. (2019). Lactose hydrolysis and protein fortification pose an increased risk for the formation of Maillard reaction products in UHT treated milk products. *Journal of Food Composition and Analysis*, *84*: 103308.
- Aljahdali, N. & Carbonero, F. (2019). Impact of Maillard reaction products on nutrition and health: Current knowledge and need to understand their fate in the human digestive system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *59*(3): 474-487.
- Al-Abbasy, O. Y., Younus, S. A., Rshan, A. I., & Ahmad, O. a. S. (2024). Maillard reaction: formation, advantage, disadvantage and control. A review. *Food Science and Applied Biotechnology*, *7*(1): 145.
- Barbano, D. M. (2017). A 100-Year Review: The production of fluid (market) milk. *Journal of Dairy Science*, *100*(12): 9894-9902.
- Bi, H., Wang, Y., Guo, Y., Liao, Z. & Na, Z. (2023). Influence of Pasteurization on Maillard Reaction in Lactose-Free Milk. *Molecules*, *28*(20): 7105.
- Cais-Sokolińska, D., Pikul, J., & Danków, R. (2004). Measurement of colour parameters as index of the hidroxyethylfurfural content in the UHT sterilised milk during its storage. *Electron. J. Pol. Agric. Univ*, *7*(2):3.

- Cepas, V., Collino, M., Mayo, J. C., & Sainz, R. M. (2020). Redox signaling and advanced glycation endproducts (AGEs) in diet-related diseases. *Antioxidants*, 9(2): 142.
- Chiang, G. H. (1983). A simple and rapid high-performance liquid chromatographic procedure for determination of furosine, a lysine-reducing sugar derivative. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(6): 1373-1374.
- Czerwonka, M., Pietrzak-Sajjad, R. & Bobrowska-Korczak, B. (2020). Evaluation of 5-hydroxymethylfurfural content in market milk products. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 37(7): 1135-1144.
- Demirhan, B. E., Demirhan, B., Sönmez, C., Torul, H., Tamer, U., & Yentür, G. (2015). Short communication: Determination of potential 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde and 2-furaldehyde compounds in follow-on milks and infant formulas using the high-performance liquid chromatography method. *Journal of Dairy Science*, 98(2): 818–822.
- Dong, L., Li, Y., Chen, Q., Liu, Y., Qiao, Z., Sang, S., Zhang, J., Zhan, S., Wu, Z., & Liu, L. (2023). Research advances of advanced glycation end products in milk and dairy products: Formation, determination, control strategy and immunometabolism via gut microbiota. *Food chemistry*, 417: 135861.
- Erbersdobler, H. F. & Somoza, V. (2007). Forty years of furosine – Forty years of using Maillard reaction products as indicators of the nutritional quality of foods. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(4): 423-430.
- Feng, N., Shen, Y., Hu, C., Tan, J., Huang, Z., Wang, C., ... & Xiao, J. (2021). Inhibition of advanced glycation end products in yogurt by lotus seedpod oligomeric procyanidin. *Frontiers in Nutrition*, 8: e781998.
- Gazi, I., Franc, V., Tamara, S., Van Gool, M. P., Huppertz, T., & Heck, A. J. (2022). Identifying glycation hot-spots in bovine milk proteins during production and storage of skim milk powder. *International Dairy Journal*, 129: e105340.

- Goulding, D., Fox, P., & O'Mahony, J. (2020). Milk proteins: An overview. In Elsevier eBooks: 21–98.
- Guan, M., Hu, C., Peng, Q., Zeng, Y., A, W., Wu, Z., . . . Zhong, H. (2023). Formation and migration of 5-hydroxymethylfurfural and furfural from food contact bamboo sticks during heating and their safety evaluation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 117: 105146.
- Guo, Y., Li, H., Zhao, X., Zhang, Y., Pang, X., Xie, N., . . . Zhang, S. (2023). Changes in Maillard reaction products, volatile substances and active proteins of goat milk under different heat treatments. *International Dairy Journal*, 146: 105714.
- Han, Z., Zhu, M., Wan, X., Zhai, X., Ho, C. T., & Zhang, L. (2024). Food polyphenols and Maillard reaction: regulation effect and chemical mechanism. *Critical reviews in food science and nutrition*, 64(15): 4904–4920.
- He, J., Sun, R., Hao, X., Battulga, A., Juramt, N., Yi, L., Ming, L., & Rimutu, J. (2020). The gut microbiota and its metabolites in mice are affected by high heat treatment of Bactrian camel milk. *Journal of Dairy Science*, 103(12): 11178–11189.
- Hou, Y., Zhang, X., Liu, X., Wu, Q., Hou, J., Su, P., & Guo, Q. (2022). Comparison of the effects of 5-Hydroxymethylfurfural in milk powder matrix and standard water on oxidative stress system of zebrafish. *Foods*, 11(12): 1814.
- Huan, W., Du, H., Pan, R., Li, J., & Feng, L. (2024). Theoretical study on glucose and methylamine Maillard reaction: formation of the Amadori rearrangement products. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 38(2): 539–545.
- Høie, A. H., Svendsen, C., Brunborg, G., Glatt, H., Alexander, J., Meinl, W. & Husøy, T. (2015). Genotoxicity of three food processing contaminants in transgenic mice expressing human sulfotransferases 1A1 and 1A2 as assessed by the in vivo alkaline single cell gel electrophoresis assay. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 56(8): 709-714.

- Jansson, T., Clausen, M. R., Sundekilde, U. K., Eggers, N., Nyegaard, S., Larsen, L. B., ... Bertram, H. C. (2014). Lactose-Hydrolyzed Milk Is More Prone to Chemical Changes during Storage than Conventional Ultra-High-Temperature (UHT) Milk, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(31): 7886-7896.
- Jiang, Y., Geng, N., Wang, M., Wu, W., Feng, N., & Zhang, X. (2022). 5-HMF affects cardiovascular development in zebrafish larvae via reactive oxygen species and Wnt signaling pathways. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP*, 262: 109452.
- Karimova, S. F., & Ismailova, G. O. (2023). Chemical Composition of Human and Mammalian Milk (A Review). *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 49(6): 1263–1278.
- Khan, M. I., Ashfaq, F., Alsayegh, A. A., Hamouda, A., Khatoon, F., Altamimi, T. N., Alhodieb, F. S., & Beg, M. M. A. (2023). Advanced glycation end product signaling and metabolic complications: Dietary approach. *World journal of diabetes*, 14(7): 995–1012.
- Krishna, T. C., Najda, A., Bains, A., Tosif, M. M., Papliński, R., Kapłan, M. & Chawla, P. (2021). Influence of Ultra-Heat Treatment on Properties of Milk Proteins. *Polymers*, 13(18): 3164.
- Li, H. Y., Xing, L., Wang, J. Q., & Zheng, N. (2018). Toxicology studies of furosine in vitro/in vivo and exploration of the related mechanism. *Toxicology Letters*, 291: 101-111.
- Li, H., Wang, Y., Yang, H., Zhang, Y., Xing, L., Wang, J. & Zheng, N. (2019). Furosine, a Maillard Reaction Product, Triggers Necroptosis in Hepatocytes by Regulating the RIPK1/RIPK3/MLKL Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10): 2388.
- Li, Y., Wu, Y., Quan, W., Jia, X., He, Z., Wang, Z., ... Zeng, M. (2021). Quantitation of furosine, furfurals, and advanced glycation end products in milk treated with pasteurization and sterilization methods applicable in China. *Food Research International*, 140: 110088.

- Li, M., Shen, M., Lu, J., Yang, J., Huang, Y., Liu, L., ... Xie, M. (2022). Maillard reaction harmful products in dairy products: Formation, occurrence, analysis, and mitigation strategies. *Food Research International*, 151: 110839.
- Li, Y., Jia, X., Wang, Z., He, Z., Zeng, M., & Chen, J. (2022). Characterizing changes in Maillard reaction indicators in whole milk powder and reconstituted low-temperature pasteurized milk under different preheating conditions. *Journal of food science*, 87(1): 193–205.
- Locas, C. P., & Yaylayan, V. A. (2008). Isotope Labeling Studies on the Formation of 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) from Sucrose by Pyrolysis-GC/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15): 6717–6723.
- Liu, Q., Zhou, P., Luo, P., & Wu, P. (2023). Occurrence of furfural and its derivatives in coffee products in China and estimation of dietary intake. *Foods*, 12(1): 200.
- Liu, Y., Lu, L., Yuan, S., Guo, Y., Yao, W., Zhou, W., & Yu, H. (2023). Formation of advanced glycation end-products and  $\alpha$ -dicarbonyl compounds through Maillard reaction: Solutions from natural polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 120: 105350.
- Lund, M. N., & Ray, C. A. (2017). Control of Maillard Reactions in foods: Strategies and chemical mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(23): 4537–4552.
- Lv, J. L., Wei, Y. F., Sun, J. N., Shi, Y. C., Liu, F. H., Sun, M. H., Chang, Q., Wu, Q. J., & Zhao, Y. H. (2024). Ultra-processed food consumption and metabolic disease risk: an umbrella review of systematic reviews with meta-analyses of observational studies. *Frontiers in nutrition*, 11: 1306310.
- Maldonado-Mateus, L. Y., Perez-Burillo, S., Lerma-Aguilera, A., Hinojosa-Nogueira, D., Ruíz-Pérez, S., Gosalbes, M. J., Francino, M. P., Rufián-Henares, J. Á., & De La Cueva, S. P. (2021). Effect of roasting

- conditions on cocoa bioactivity and gut microbiota modulation. *Food & Function*, 12(20): 9680–9692.
- Marangoni, F., Pellegrino, L., Verduci, E., Ghiselli, A., Bernabei, R., Calvani, R., ... & Poli, A. (2019). Cow's milk consumption and health: a health professional's guide. *Journal of the American College of Nutrition*, 38(3): 197-208.
- Martins, F. C., Alcantara, G. M., Silva, A. F. S., Melchert, W. R., & Rocha, F. R. (2022). The role of 5-hydroxymethylfurfural in food and recent advances in analytical methods. *Food Chemistry*, 395: 133539.
- Martysiak-Zurowska, D., & Stolyhwo, A. (2007). Content of furosine in infant formulae and follow-on formulae. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 57(2): 185-190.
- Matthews D. E. (2020). Review of Lysine Metabolism with a Focus on Humans. *The Journal of nutrition*, 150(Suppl 1): 2548–2555.
- Mehta, B. M. & Deeth, H. C. (2016). Blocked Lysine in Dairy Products: Formation, Occurrence, Analysis, and Nutritional Implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1): 206-218.
- Mendoza, M. R., Olano, A., & Villamiel, M. (2005). Chemical indicators of heat treatment in fortified and special milks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8): 2995-2999.
- Morales, F., & Jiménez-Pérez, S. (1999). HMF Formation during Heat-treatment of Milk-type Products as Related to Milkfat Content. *Journal of Food Science*, 64(5): 855–859.
- Nielsen, S. D., Knudsen, L. J., Bækgaard, L. T., Rauh, V., & Larsen, L. B. (2022). Influence of Lactose on the Maillard Reaction and Dehydroalanine-Mediated Protein Cross-Linking in Casein and Whey. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(7): 897.
- Núñez-Delgado, A., Mizrachi-Chávez, V. M., Welti-Chanes, J., Macher-Quintana, S. T., & Chuck-Hernández, C. (2024). Breast milk preservation: thermal and non-thermal processes and their effect on

microorganism inactivation and the content of bioactive and nutritional compounds. *Frontiers in nutrition*, 10: e1325863.

Nyakayiru, J., Van Lieshout, G. A. A., Trommelen, J., Van Kranenburg, J., Verdijk, L. B., Bragt, M. C. E. & Van Loon, L. J. C. (2020). The glycation level of milk protein strongly modulates post-prandial lysine availability in humans. *British Journal of Nutrition*, 123(5): 545-552.

Özdal, H. R., Yıldız, B. & Arkun, G. (2018). Hydroxymethylfurfural (Hmf) Formation in Milk and Dairy Products. *International Journal of Food Engineering Research*, 4(1): 13-23.

Pastoriza De La Cueva, S., Álvarez, J., Végvári, Á., Montilla-Gómez, J., Cruz-López, O., Delgado-Andrade, C. & Rufián-Henares, J. A. (2017). Relationship between HMF intake and SMF formation in vivo: An animal and human study. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(3): e1600773.

Pehlivanoğlu, H., Bardakci, H. F. & Yaman, M. (2021). Protein quality assessment of commercial whey protein supplements commonly consumed in Turkey by in vitro protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS). *Food Science and Technology*, 42: e64720.

Pratelli, G., Tamburini, B., Badami, G. D., Lo Pizzo, M., De Blasio, A., Carlisi, D., & Di Liberto, D. (2024). Cow's Milk: A Benefit for Human Health? Omics Tools and Precision Nutrition for Lactose Intolerance Management. *Nutrients*, 16(2): 320.

Resmini, P., Pellegrino, L., & Battelli, G. (1990). Accurate quantification of furosine in milk and dairy products by a direct HPLC method. *Italian Journal of Food Science*, 2(3): 173-183.

Saeed, Y., Wang, J. Q., & Zheng, N. (2017). Furosine induces DNA damage and cell death in selected human cell lines: A strong toxicant to kidney Hek-293 cells. *Food Science and Biotechnology*, 26: 1093-1101.

Seo, C. W., Hong, S., Shin, Y. K., & Kang, S. H. (2018). Physicochemical properties of liquid infant formula stored at different temperatures. *Korean journal for food science of animal resources*, 38(5): 995.

- Schmidt, A., Boitz, L. I. & Mayer, H. K. (2017). A new UHPLC method for the quantitation of furosine as heat load indicator in commercial liquid milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 56: 104-109.
- Shapla, U. M., Solayman, M., Alam, N., Khalil, M. I., & Gan, S. H. (2018). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal*, 12(1): 1-18.
- Shi, X., Wu, Q., Ren, D., Wang, S., & Xie, Y. (2022). Research of the determination method of furfurals and furosine in milk and the application in the quality evaluation of milk. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 14(1), 12–23.
- Svendsen, C., Husøy, T., Glatt, H., Paulsen, J. E., & Alexander, J. (2009). 5-Hydroxymethylfurfural and 5-sulfooxymethylfurfural increase adenoma and flat ACF number in the intestine of Min/+ mice. *Anticancer research*, 29(6): 1921–1926.
- Tan, Y., Chrysopoulou, M., & Rinschen, M. M. (2023). Integrative physiology of lysine metabolites. *Physiological genomics*, 55(12): 579–586.
- Taş, N. G., & Gökmen, V. (2016). Effect of alkalization on the Maillard reaction products formed in cocoa during roasting. *Food Research International*, 89: 930-936.
- Türkiye Beslenme Rehberi, (2022). T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1031, Ankara 2022.
- Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi, (2004). T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara 2004.
- Türk Gıda Kodeksi İçme Sütleri Tebliği, T.C. Resmi Gazete, 30699, 27 Şubat 2019a.
- Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği, T.C. Resmi Gazete, 30699, 27 Şubat 2019b.

- Türkomp: Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Türkomp | Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı, [Online] [www.turkomp.gov.tr/about](http://www.turkomp.gov.tr/about) [Erişim tarihi: 20.04.2024].
- Urgu, M., Saatli, T. E., Türk, A. & Koca, N. (2017). Isıl işlem görmüş içme sütlerinde (Pastörize, UHT ve Laktozsuz UHT Süt) hidroksimetilfurfural içeriğinin belirlenmesi. *Akademik Gıda*, 15(3): 249-255.
- Xiang, J., Liu, F., Wang, B., Chen, L., Liu, W., & Tan, S. (2021). A Literature Review on Maillard Reaction Based on Milk Proteins and Carbohydrates in Food and Pharmaceutical Products: Advantages, Disadvantages, and Avoidance Strategies. *Foods* (Basel, Switzerland), 10(9): 1998.
- Xing, Q., Fu, X., Liu, Z., Cao, Q., & You, C. (2021). Contents and evolution of potential furfural compounds in milk-based formula, ultra-high temperature milk and pasteurised yoghurt. *International Dairy Journal*, 120: 105086.
- Yao, G. H., Ling, Y., Zhang, Y. J., Xing, S. G., Yao, M. Y., Guo, W., & Zhang, F. (2023). *Se pu = Chinese journal of chromatography*, 41(11): 1038–1043.
- Yu, H., Zhong, Q., Guo, Y., Xie, Y., Cheng, Y. & Yao, W. (2020). Potential of resveratrol in mitigating advanced glycation end-products formed in baked milk and baked yoğurt. *Food Research International*, 133: e109191.
- Yu, Y., Li, X., Zhang, J., Li, X., Wang, J., & Sun, B. (2023). Oat milk analogue tubeversus traditional milk: Comprehensive evaluation of scientific evidence for processing techniques and health effects. *Food chemistry*: X, 19: e100859.
- Zappalà, M., Fallico, B., Arena, E., & Verzera, A. (2005). Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. *Food Control*, 16(3): 273–277.

- Zhao, X., Guo, Y., Zhang, Y., Pang, X., Wang, Y., Lv, J., & Zhang, S. (2023). Effects of different heat treatments on Maillard reaction products and volatile substances of camel milk. *Frontiers in Nutrition*, *10*: e1072261.
- Zenker, H. E., Van Lieshout, G. a. A., Van Gool, M. P., Bragt, M. C. E., & Hettinga, K. A. (2020). Lysine blockage of milk proteins in infant formula impairs overall protein digestibility and peptide release. *Food & Function*, *11*(1): 358–369.
- Zhang, H., Troise, A. D., Zhang, H., & Fogliano, V. (2021). Cocoa melanoidins reduce the formation of dietary advanced glycation end-products in dairy mimicking system. *Food Chemistry*, *345*: 128827.
- Zhang, Jiaxin, Wang, L., Shen, Y., Wan, L., Zhuang, K., Yang, X., ... Jiang, Y. (2024). Effects of different reducing carbohydrate types on the physicochemical characteristics of infant formula food stored for special medical purposes. *Food Chemistry: X*, *21*: e101055.
- Zhang, Juanhua, Li, Y., Lv, M., Bai, Y., Liu, Z., Weng, X. & You, C. (2022). Determination of 5-Hydroxymethylfurfural (5-HMF) in milk products by surface-enhanced Raman spectroscopy and its simulation analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *279*: e121393.
- Zhang, L. L., Kong, Y., Yang, X., Zhang, Y. Y., Sun, B. G., Chen, H. T., & Sun, Y. (2019). Kinetics of 5-hydroxymethylfurfural formation in the sugar–amino acid model of Maillard reaction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(5): 2340-2347.
- Zhang, J., Li, Y., Lv, M., Bai, Y., Liu, Z., Weng, X., & You, C. (2022). Determination of 5-Hydroxymethylfurfural (5-HMF) in milk products by surface-enhanced Raman spectroscopy and its simulation analysis. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, *279*: 121393.
- Zhao, X., Guo, Y., Zhang, Y., Pang, X., Wang, Y., Lv, J., & Zhang, S. (2023). Effects of different heat treatments on Maillard reaction products and volatile substances of camel milk. *Frontiers in Nutrition*, *10*: 107261.

Ziarno, M., Hasalliu, R., & Cwalina, A. (2021). Effect of the addition of milk protein preparations on selected quality parameters and nutritional characteristics of kefir. *Applied Sciences*, 11(3): 966.



## ÖZGEÇMİŞ

**Adı ve Soyadı:** İrem KAYA

**Akademik Unvanı:** Araştırma Görevlisi

### Eğitim

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Beslenme ve Diyetetik	Ankara Üniversitesi	2020
Y. Lisans	Beslenme ve	İstanbul Sabahattin Zaim	2021-

### Görevler

Görev	Görev Yeri	Yıl
Ar. Gör.	Kapadokya Üniversitesi	2022-2024
Ar. Gör.	İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi	2024-

### Yayımlar

**Kaya, İ.** (2022). Çölyak Hastalığında Yulaf Tüketiminin Değerlendirilmesi. *3rd International Congress on Sports, Anthropology, Nutrition, Anatomy and Radiology* (SANAR 2022), 6-8 Ekim 2022, Ankara, Türkiye.