

E-ISSN 2602-2834

Vol. 5 Issue.3

2019

FOOD and HEALTH

Scientific WebJournals (SWJ)



FOOD and HEALTH

Chief Editor:

Prof.Dr. Nuray ERKAN

Turkey

nurerkan@istanbul.edu.tr

Subjects: Processing Technology, Food Sciences and Engineering

Institution: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences

Co Editor in Chief:

Prof.Dr. Özkan ÖZDEN

Turkey

ozden@istanbul.edu.tr

Subjects: Fisheries, Food Sciences and Engineering

Institution: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences

Cover Photo:

Prof. Dr. Özkan ÖZDEN

Turkey

ozden@istanbul.edu.tr

Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, Turkey

Editorial Board:

Prof.Dr. Bhesh BHANDARI

Australia

b.bhandari@uq.edu.au

Subjects: Food Sciences and Engineering

Institution: University of Queensland, Faculty of Science

Prof.Dr. İBRAHİM ÇAKIR

Turkey

icakir55@gmail.com

Subjects: Food Sciences and Engineering

Institution: University of Abant İzzet Baysal, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering

Prof.Dr. Stephan G. DRAGOEV

Bulgaria

logos2000lt@gmail.com

Subjects: Food Sciences and Engineering

Institution: University of Food Technologies

Prof.Dr. Carsten HARMS

Germany

charms@hs-bremerhaven.de

Subjects: Biology

Institution: Bremerhaven Institute for Applied Molecular Biology

Prof.Dr. Marcello IRITI

Italy

marcello.iriti@unimi.it

Subjects: Food Sciences and Engineering, Nutrition and Dietetics

Institution: Milan State University, Faculty of Agricultural and Food Sciences, Department of Agricultural and Environmental Sciences

Prof.Dr. Abdullah ÖKSÜZ

Turkey

aoksuz@konya.edu.tr

Subjects: Fisheries, Nutrition and Dietetics, Medicine

Institution: University of Necmettin Erbakan, Faculty of Nutrition and Health

Prof.Dr. Petras Rimantas VENSKUTONIS

Lithuania rimas.venskutonis@ktu.lt

Subjects: Food Sciences

Institution: Kaunas University of Technology

Prof.Dr. Peter RASPOR

Slovenia

Peter.Raspor@fvz.upr.si

Subjects: Food Sciences and Engineering, Mathematics and Science

Institution: University of Primorska, Faculty of Health Sciences, Institute for Food, Nutrition and Health

Prof.Dr. Aydın YAPAR

Turkey

ayapar@pau.edu.tr

Subjects: Food Technology

Institution: Pamukkale University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering

Assoc.Prof.Dr. Alaa El-Din Ahmed BEKHIT

New Zealand

aladin.bekhit@otago.ac.nz

Subjects: Food Sciences and Engineering

Institution: University of Otago, Department of Food Science



Publisher

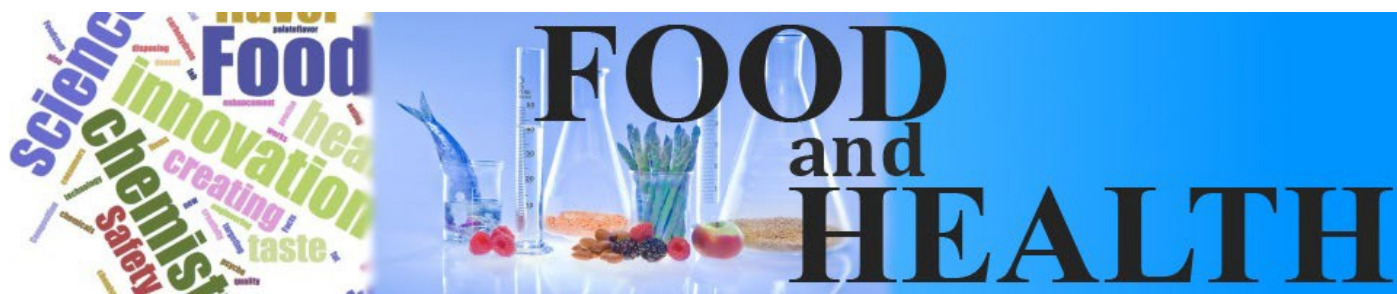
Copyright © 2019 ScientificWebJournals

Adress: AbdiBey Sok. No:24B D. 435 Kadıköy/İstanbul, Turkey

E-Mail: swj@scientificwebjournals.com

for submission instructions, subscription and all other information visit

<http://jfs.scientificwebjournals.com>



Aims and Scope

FOOD and HEALTH

Abbreviation: **FOOD HEALTH**

e-ISSN: 2602-2834

Journal published in one volume of four issues per year by ScientificWebJournals (www.ScientificWebJournals.com)

“Food and Health” journal will publish peer-reviewed (double blind) articles covering all aspects of **food science and their health effect** in the form of original research articles (full papers and short communications), and review articles. Their team of experts provides editorial excellence, fast publication processes and high visibility for your paper.

Food/Seafood/Food Technology/Food Chemistry/Food Microbiology/Food Quality/Food Safety/Food Contaminant/Food Allergen/Food Packaging/Modified Food/Functional Food/Dietary Supplements/Nutrition and their health effect is the general topics of journal.

Manuscripts submitted to “Food and Health” journal will go through a double-blind peer-review process. Each submission will be reviewed by at least two external, independent peer reviewers who are experts in their fields in order to ensure an unbiased evaluation process. The editorial board will invite an external and independent editor to manage the evaluation processes of manuscripts submitted by editors or by the editorial board members of the journal. Our journal will be published quarterly in English or Turkish language.

The target audience of the journal includes specialists and professionals working and interested in all disciplines of food and Nutrition Sciences.

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal is in conformity

with the Principles of

Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice).

“Food and Health” journal is indexed in TUBITAK ULAKBIM TR Index, FAO/AGRIS, ERIH PLUS, SciLit and Bielefeld Academic Search Engine (BASE).

Processing and publication are free of charge with the journal. No fees are requested from the authors at any point throughout the evaluation and publication process. All manuscripts must be submitted via the online submission system, which is available at

<http://dergipark.gov.tr/journal/1646/submission/start>.

The journal guidelines, technical information, and the required forms are available on the journal’s web page.

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in the journal reflect the views of the author(s) and not the opinions of the ScientificWebJournals, editors, editorial board, and/or publisher; the editors, editorial board, and publisher disclaim any responsibility or liability for such materials.

All published content is available online, free of charge at <http://ifhs.scientificwebjournals.com>.

ScientificWebJournals

(<http://scientificwebjournals.com>) holds the international copyright of all the content published in the journal.



Editor in Chief: Prof. Nuray ERKAN

Address: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, Department of Seafood Processing Technology, Ordu Cad. No: 8, 34134 Fatih/Istanbul, Turkey

E-mail: nurerkan@istanbul.edu.tr



Vol. 5 Issue 3 Page 139-204 (2019)

Contents/İçerik

RESEARCH ARTICLES/ARAŞTIRMA MAKALESİ

IDENTIFICATION OF Staphylococcus aureus CHEESE ISOLATES WITH RESPECT TO VIRULENCE PROPERTIES, GENETIC RELATEDNESS AND ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILES / 149-159

Pınar Kadiroğlu, Figen Korel, Çağatay Ceylan

COMPARISON OF SOME BIOACTIVE COMPONENTS OF EMMER WHEAT [*Triticum dicoccum* (SCHRANK) SCHÜBLER] CULTIVARS FROM TWO DIFFERENT ORIGINS GROWN UNDER THE SAME CONDITIONS / 160-167

Zhana Petkova, Magdalena Stoyanova, Stanko Stankov, Hafize Fidan, Mina Dzhivoderova, Aspasia Pahopoulou, Pavel Merdzhanov, Anna Koleva, Sezai Ercisli, Alben Stoyanova

MISIR UNU VE KEFİR KULLANILARAK ÜRETİLEN TARHANALARIN BAZI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ / 168-174

Ayşe Avcı, Fikriye Alev Akçay, Ceylan Can, Selin Demir

RHEOLOGY OF FILM-FORMING SOLUTIONS AND PHYSICAL PROPERTIES OF DIFFERENTLY DEACETYLATED SALEP GLUCOMANNAN FILM / 175-184

Abdullah Kurt

SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ ÖĞRENCİLERİNİN BESLENME ALIŞKANLIKLARININ BELİRLENMESİ / 185-196

Tuba Eda Arpa Zemzemoğlu, Sinem Erem, Elanur Uludağ, Sevda Uzun

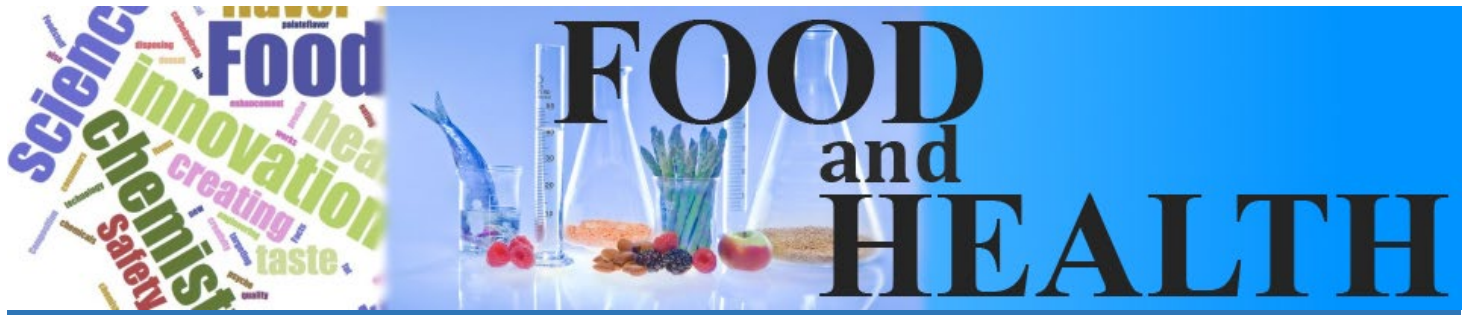
REVIEW/DERLEME

BESİN KARSİNOJENLERİNİN DETOKSİFİKASYONUNDA ALTERNATİF YÖNTEM: PROBİYOTİKLER / 139-148

Sümeyra Sevim, Mevlüde Kızıl

ÇİĞ SÜT ve PASTÖRİZE SÜT TÜKETİMİNİN HALK SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ / 197-204

Artun Yıbar, Sefa Can Küçük



Review Article

BESİN KARSİNOJENLERİNİN DETOKSİFİKASYONUNDA ALTERNATİF YÖNTEM: PROBİYOTİKLER

Sümevra Sevim , Mevlüde Kızıl 

Cite this article as:

Sevim, S., Kızıl, M. (2019). Besin karsinojenlerinin detoksifikasyonunda alternatif yöntem: probiyotikler . *Food and Health*, 5(3), 139-148. <https://doi.org/10.3153/FH19015>

Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü,
Bölümü Toplu Beslenme Sistemleri Ana
Bilim Dalı Ankara, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

S.S. 0000-0001-9724-2628

M.K. 0000-0003-1380-3243

Submitted: 15.11.2018

Accepted: 04.12.2018

Published online: 10.02.2019

Correspondence:

Mevlüde KIZIL

E-mail: mkizil@hacettepe.edu.tr

© Copyright 2019 by ScientificWebJournals

Available online at
<http://ifhs.scientificwebjournals.com>

ÖZ

Besin hazırlama ve pişirmede kullanılan geleneksel ısı işlemler (örneğin kızartma, fırınlama) besinin güvenilirliğini ve tüketilebilirliğini artırmak için yapılan uygulamalardır. Bununla birlikte, bu ısı işlemler protein denatürasyonu, karbonhidratların çözünürlüğünde değişiklikler, vitamin bozunması ve yağ oksidasyonu yoluyla son ürünün kalitesinde bozulmaya neden olabilmekte ve çeşitli potansiyel zararlı bileşikler oluşabilmektedir. Bunlar içerisinde heterosiklik aromatik aminler, akrilamid ve polisiklik aromatik hidrokarbonların birçok çalışmada karsinojenik ve genotoksik nitelikte oldukları ispatlanmıştır. Bu karsinojenik bileşikler ortadan kaldırmak için çeşitli fiziksel ya da kimyasal yöntemler olmasına rağmen bu yöntemlerin yeterince etkin kullanılmaması insan sağlığı için güvenilir ve başarılı alternatif yöntemlere ihtiyacı ortaya çıkarmıştır. Yararlı mikroorganizmalar olarak bilinen probiyotik bakterilerin antikarsinojenik etkileri ve hücre duvarı yapısından kaynaklı bağlanma yeteneklerinden yola çıkılarak diyet mutajenlerine bağlanabileceği ve bu şekilde detoksifiye (toksik etkileri yok etme) edebileceği üzerinde durulmaktadır. Bu derlemede de probiyotik bakterilerin besinlerde ısı işlem sonucu oluşan karsinojenik bileşikler üzerindeki detoksifiye edici etkisini inceleyen araştırmalar değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Heterosiklik aromatik aminler, Akrilamid, Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, Probiyotikler, Karsinojenler

ABSTRACT

AN ALTERNATIVE METHOD IN DETOXIFICATION OF FOOD CARCINOGENES: PROBIOTICS

Traditional heat treatments (eg frying, baking) used in food preparation and cooking are applications to improve the reliability and consumption of food. However, these thermal processes can lead to deterioration in the quality of the final product by protein denaturation, changes in the solubility of carbohydrates, vitamin degradation, and fat oxidation, and various potentially harmful compounds can occur unintentionally. Among them, heterocyclic aromatic amines, acrylamide and polycyclic aromatic hydrocarbons have proved to be carcinogenic and genotoxic in many studies. Although there are various physical or chemical methods to eliminate these carcinogenic compounds, the ineffective use of these methods has created the need for safe and successful alternative methods for human health. It is emphasized that probiotic bacteria, known as beneficial microorganisms, can bind to the diet mutagens based on their anticarcinogenic effects and binding ability from the cell wall structure and in this way it is thought to detoxify (eliminate toxic effects) them. In this review, the studies investigating the detoxification effect of probiotic bacteria on carcinogenic compounds resulting from heat treatment in foods are evaluated.

Keywords: Heterocyclic aromatic amines, Acrylamide, Polycyclic aromatic hydrocarbons, Probiotics, Carcinogens

Giriş

Ateşin bulunmasından bu yana insanlar besinlerinin lezzetinin artırmak ve mikrobiyolojik riskleri azaltmak için besinlerine ısı işlem uygulamaktadırlar. Besinlerin pişirilmesi, insan sağlığına zarar verebilecek biyolojik riskleri azaltarak güvenli hale gelmesini, protein denatürasyonu ve karbonhidratların çözünürlüklerini değiştirerek lezzet ve kokuyla ilişkili bileşiklerin ortaya çıkmasına ve sindirimin kolaylaşmasına yardımcı olmaktadır. Ancak bu esnada çeşitli vitamin kayıpları, yağ oksidasyonu ve insan sağlığı için potansiyel risk oluşturan bazı toksik maddeler de oluşabilmektedir. Heterosiklik aromatik aminler (HAA), akrilamid ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAHs) bu toksik maddelerden en önemlileridir (Meurillon ve Engel, 2016; Rivas-Jimenez vd., 2016). Yapılan birçok hayvan ve insan çalışmasında bu toksik maddelerle kolon, rektum, meme, prostat ve akciğer kanseri gibi çeşitli kanser riskleri ile arasında doz-yanıt ilişkisi olduğu görülmüştür (Brody vd., 2007; Delfino vd., 2000; Phillips, 1999; Sinha vd., 1999; Stacewicz-Sapuntzakos vd., 2008; Turesky, 2007; Zheng vd., 1998).

Karsinojenik bileşikler ortadan kaldırmak için çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler tasarlanmıştır. Ancak bu yöntemlerin birçoğu aşırı pahalı, karışık veya etkinliği azdır. Hatta bazı yöntemler zehirli ikincil metabolit oluşmasına neden olmaktadır (Balogh vd., 2000; Haritash ve Kausik, 2009; Mishra ve Das, 2003). Bu yöntemlerin çoğu kez yaygınlaştırılması ve büyük ölçekli uygulamaların yapılması oldukça zordur. Bu nedenle tüketicilerin sağlıklı ve kaliteli bir yaşam sürebilmeleri için söz konusu karsinojenik bileşiklerin ortadan kaldırılmasına yönelik etkin ve güvenilir yaklaşımların üretilmesi gerekmektedir (Lili vd., 2017).

Geçmiş yıllarda iyi bir probiyotik bakteri olarak bilinen laktik asit bakterilerinin (LAB) konakçı üzerinde sağlığı geliştirici yararlı etkileri olduğu, özellikle karsinojenik ve mutajenik bileşiklerin riskini azalttığı ve kolon kanserini önlediği düşünülmektedir (Clements ve Carding, 2018; Gibson vd., 2010; Sanders vd., 2014).

Bu bilgiler doğrultusunda bu derlemede LAB suşlarının, besinlerde ısı işlem sonucu oluşan yaygın karsinojenik bileşiklere (HAA, akrilamid, PAH) bağlanma yetenekleri ve bunun sonucunda da besinlerdeki miktarının azaltılması, diyetle maruziyetin azaltılması ve tüketiciler üzerinde karsinojenik etkilerinin azaltılmasına yönelik genel bir bakış sunmak amaçlanmıştır.

HAA Oluşumu ve Karsinojenik Özellikleri

HAA yaklaşık 40 yıl önce biyokimya profesörü Takashi Sugimura tarafından ızgara edilmiş et ve balıklardan oluşan duman ve yanık parçalarında keşfedilen ve pişmiş besinlerde ng/g düzeyinde bulunan mutajenik bir bileşiktir (Nagao vd., 1977). İnsanların HAA'ya maruziyetinin temel kaynağı pişmiş etler ve balıklardır, ayrıca pişirme tekniğine ve etin/balığın türüne göre de etkisi değişmektedir. Bu güne kadar proteinli besinlerde 25 HAA tanımlanmıştır. Bu türlerin oluşumu ve miktarı etin türüne, pişirme metoduna, sıcaklığına ve pişirme süresine bağlıdır (Meurillon ve Engel, 2016). Besinlerde en sık görülen HAA'lar ise 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-b]piridin (PhIP), 2-amino-3,4-dimetilimidazol[4,5-f]kuinoksalin (MeIOx), 2-amino-3,4,8-trimetilimidazol[4,5-f]kuinoksalin (DiMeIQx), 2-amino-3-metilimidazol[4,5-f]kuinolin (IQ) ve nadiren 2-amino-3,4-dimetilimidazol[4,5-f]kuinolin (MeIQ)dir (Tavan vd., 2002).

Temel olarak HAA, aminoimidazoazorenler (AIA ya da IQ tip) ve aminokarboniller (IQ tip olmayan ya da prolitik HAA) olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadırlar (Meurillon ve Engel, 2016). Prolitik HAA, yüksek sıcaklıkta (>300°C) amino asitlerin ve proteinlerin prolitik reaksiyonu ile oluşmaktadır. Aminoimidazoazorenler (AIA), 'termik HAA' olarak da adlandırılırlar ve geleneksel pişirme sıcaklığında (tavada kızartma, ızgarada pişirme vb. yöntemlerle, 150-300°C'de) enzimatik olmayan kahreverengileşme reaksiyonu olan Maillard reaksiyonuyla oluşmaktadır (Meurillon ve Engel, 2016). HAA, ısı işlem nedeniyle Maillard reaksiyonu sırasında azalan şeker, serbest amino asitler ve kreatin tarafından et ürünlerinin yüzeyinde oluşur. Çiğ materyalin içeriğindeki öncü madde (triptofan, fenilalanin, glutamik asit veya ornitin) seviyesi, ısı işlemin sıcaklık derecesi ve uygulama süresi, besinin pH'sı ve su aktivitesi gibi fiziksel faktörleri ve hazırlama metotları HAA'ların oluşumunu ve yapısını etkileyen önemli faktörlerdir (Gibis ve Weiss, 2017). Bununla birlikte besinde gerçekleşen ısı ve kütle transferi, yağ oksidasyonu ve antioksidanlar da HAA düzeyini etkileyen faktörlerdendir (Oz vd., 2007).

Farklı türlerdeki kanser insidanslarındaki artmış risk ile et tüketimi arasında ilişki olduğunu belirten birçok epidemiyolojik çalışma bulunmaktadır (Ferruci vd., 2009; Gibis, 2016; John vd., 2011; Lam vd., 2009; Nowell vd., 2002). Kırmızı ve özellikle işlem görmüş etlerin kolorektal kanser riskine sebebiyet verdiği Dünya Kanser Araştırma Fonu [World Cancer Research Fund (WCRF)] ve Amerika Kanser Araştırma Enstitüsü (AICR)'nün ikinci raporunda önemle ele

alınmıştır (WCRF/AICR, 2007). Pankreas kanseri ve et tüketimi [özellikle yüksek sıcaklıkta (>225°C) pişmiş etler] arasında da ilişki olduğu ve HAA alımının bu durum üzerinde etkin olduğu belirtilmektedir (Skog ve Solyakov, 2002; Stolzenberg-Solomon vd., 2007). Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü (IARC) de bu sonuçları değerlendirmiş ve kırmızı et tüketimini muhtemel karsinogenik (sınıf 2); işlenmiş et ürünlerini de insanlar için karsinogenik (sınıf 1) olarak sınıflandırarak HAA maruziyetinin azaltılmasını önermektedir (Bouvard vd., 2015). HAA kaynaklı kanser riskini azaltmak için düşük pişirme sıcaklığı uygulamak, etleri uzun süre pişirmek ve direk ateşe maruziyetten kaçınmak HAA oluşumunu azaltıcı faydalı uygulamalardandır. Diğer azaltıcı yöntemler ise besinlerde mutajen oluşumunu azaltıcı bileşen eklenmesi ya da biyolojik sistemlerde bu bileşiklerin aktivitelerini inhibe veya yok etmeye dayalıdır (Cheng vd., 2006).

HAA Detoksifikasyonu

Bağırsakta bulunan bazı bakteriler karsinogen, ko-karsinogen ya da pro-karsinogen bileşikler üretimiyle HAA tarafından indüklenen kolon hücrelerindeki DNA'ya olan hasarı kuvvetle artırırken, diğer bağırsak bakterileri (LAB) de bu bileşikler detoksifiye edebilmekte ve ortadan kaldırmaktadır (Wollowski, Rechkemmer, Pool-Zobel, 2001). *Bacteroides* ve *Clostridium* bakteri türlerinin hayvanlarda kolon tümörlerinin büyümesini ve insidansını artırırken, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi diğer faydalı bakteri türlerin tümör oluşumunu engellediği belirtilmektedir (Faridnia vd., 2010).

Reddy ve Rivenson (1993) ratlarda IQ kaynaklı kolon tümörünü inhibe etmek için *Bifidobacterium longum* türünün etkin bir yeteneğe (%100 inhibisyon) sahip olduğunu ve karaciğer tümörünü de %80 oranında inhibe ettiğini göstermiştir (Reddy ve Rivenson, 1993). Probiyotik bakterilerin bu toksik madde ya da maddelere direk bağlanarak toksinin muhtemel olumsuz etkilerini ortadan kaldırdığı ve/veya inhibe ettiği düşünülmektedir (Hernandez-Mendoza ve Malcata, 2014).

1990'lı yıllarda yapılan çalışmalarda *L. acidophilus*, *B. bifidum*, *L. fermentum*, *B. longum*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* bakterilerinin ve bunların çeşitli alt türlerinin HAA'lara etkin bir şekilde bağlandığı gösterilmiştir. Bu bağlanmanın bakteri hücre duvarındaki polisakarit yapıyla sağlandığı düşünülmektedir. Ayrıca bağlanma kapasitesinin bakteri türü ve hücre konsantrasyonu, pH, inkübasyon süresi ve mutajen konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir (Orrhage vd., 1994; Sreekumar ve Hosono, 1998; Terahara vd., 1998; Zhang ve

Ohta, 1991). Bakterilerin HAA'lara bağlanma mekanizmasını inceleyen bir araştırmacı liyofilize hücre duvarı bileşenlerinin, ısı-ışıl işlem (120°C'de 15 dk) görmüş hücrelerin ve stoplazmik içeriğin *in vitro* ortamda HAA'lara bağlanma kapasitesini araştırmıştır. Çalışma sonunda saf hücre duvarı ve peptidoglikan bileşeninin bakteri hücrelerine göre daha iyi bağlanma (%60-100) sağlamışken stoplazmik içeriğin etkin bir bağlanma (%8-10) sağlamadığını tespit etmiş ve bu sonuçların da bağlanma reaksiyonunun, mutajenlerin amino grubu ve peptidoglikan arasında gerçekleştiğinin göstergesi olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca canlı hücrelere göre hücrelerin ısıyla muamelesinin bağlanmayı %10-15 oranında azaltmasına rağmen iyi bir bağlanma sağladığı gösterilmiştir. Bunun sonucunda hücrelerin öldürülmesinin aminlere olan bağlanma bölgelerine ciddi bir etkide bulunmadığı ve söz konusu bağlanma mekanizmasının mutajenlerin hücre tarafından emilmesi olmadığı sonucuna varılmıştır (Rajendran ve Ohta, 1998).

Faridnia (2010) yaptığı bir çalışmada *Bifidobacterium* türlerinden *B. pseudocatenulatum* G4, *B. longum* BB536 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 suşlarının mutajen HAA'lara (IQ, MeIQx, 7,8 DiMeIQx, Trp-p-2 ve PhIP) bakteri türü ve hücre konsantrasyonu ile pH değerine bağlı olarak %19-64 oranında bağlandığını tespit etmiştir. En iyi bağlanma ve dolayısıyla HAA seviyesindeki en iyi azalmayı *B. pseudocatenulatum* G4'ün gösterdiği, bunu *B. longum* ve *E. coli*'nin izlediği belirtilmiştir. Çalışmanın sonunda probiyotik bakterilerin HAA konsantrasyonunu mutajenleri bağlayarak ya da absorbe ederek düşürebileceği sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte bakteri konsantrasyonu düştükçe bağlanmanın azaldığı ve en yüksek bağlanmanın bakteri konsantrasyonu 10¹⁰ kob/mL olduğunda gerçekleştiği tespit edilmiştir. Ayrıca gram-pozitif bakterilerin gram-negatif bakterilere göre daha etkin olduğu ve bu durumun bakterilerin hücre duvarı yapılarıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Faridnia, 2010). Duangjitcharoen, Kantachote, Prasitpuripreecha, Peerajan, Chaiyasut (2014) da benzer şekilde LAB'nin soğutulmuş muhafaza edilmiş hücrelerinin aktif hücrelerle benzer oranda bağlanma göstermesi nedeniyle bağlanmanın bakteri hücre duvarında fiziksel bir oluşumla gerçekleştiği üzerinde durmaktadır.

Probiyotik bakterilerin HAA bağlama kapasitesinin MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) agarda araştırıldığı bir çalışmada *L. casei* DN 114001 türü tarafından 24 saatlik inkübasyon sonrasında IQ ve PhIP miktarlarının %98-99 oranında; MeIQx miktarının da %27 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Nowak ve Libudzisz, 2009). Bir başka çalışmada da 8 farklı probiyotik bakteri türünün (*L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *L. kefir*, *B. longum*) fosfat tamponunda HAA (AaC,

PhIP, IQ, MeIQx, DiMeIQx) bağlama kapasitesi incelenmiş, en yüksek bağlanma *L. helveticus* (%78) ve *S. thermophilus* (%50) grubunda görülmüştür. Ayrıca AaC ve PhIP'in LAB'ye bağlanması mutajenik aktivitelerinin de azaltılması ile korele bulunmuş ve araştırmacılar HAA'nın zararlı etkilerinden korunmak için LAB türlerinin kullanılmasının etkili bir çözüm olduğunu belirtmişlerdir (Stidl vd., 2008). Benzeri bir çalışmada *L. plantarum* CM4 türünün fosfat tamponunda IQ'ya % 62.47-85.34 oranında en etkin bağlanmayı gösterdiği, çalışma sonunda (144 saat sonra) tüm bakterilerin PhIP'e göre IQ'ya daha iyi bağlanma (%44.23-85.34) gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmacı bu bağlanmayı liyofilize bakteriler ile de sağlayarak bağlanmanın bakteri hücre duvarında fiziksel bir oluşumla gerçekleştiğini ispattır. Bakteri hücre duvarının HAA bağlanmasında veya uzaklaştırılmasında sorumlu hücre yapısı olduğu ve katyon değişimi, hücre duvarının hidrofobik yapısı ve bakteri hücrelerinin karbonhidrat parçalarının bağlanma kapasitesini etkilediği belirtilmiştir (Duangjitcharoen vd., 2014).

Yapılan bir hayvan çalışmasında *L. bulgaricus* 291, *S. thermophilus* F4, *S. thermophilus* V3 ve *B. longum* BB536 suşlarının erkek ratlarda HAA'nın DNA'ya zarar verici etkileri üzerindeki etkisi incelenmiş, ratlara HAA (genellikle kızarmış sığır eti ve tavukta bulunan türler) verilmeden bir süre (4-12 saat) önce her bir hayvana 2 mL serum fizyolojik içinde 10^{10} canlı bakteri suşlarının düzenli bir şekilde verilmesiyle et kaynaklı oluşan DNA hasarını önlediği, ancak tavukta bulunan türler için önemli bir etki göstermediği belirtilmiştir. HAA kaynaklı DNA hasarının önlenmesinin HAA'ların test bakterileri tarafından bağlanmasıyla sağlandığı ve bu bakterilerin HAA'ların genotoksik etkisine karşı güçlü bir koruyucu olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla da pişmiş ve kızarmış et tüketiminden önce probiyotik süt ürünlerinin tüketiminin DNA hasarını azaltmada faydalı olabileceği belirtilmektedir (Zsivkovits vd., 2003). Bir başka çalışmada *L. rhamnosus* IMC501 probiyotik bakteri türünün diyetle eklenmesi ile kolonda PhIP kaynaklı DNA hasarının önlenmesi tespit edilmiş ve araştırmacı *L. rhamnosus* IMC501 türünün diyet takviyesi olarak kullanılmasının bireyi besin mutajenlerinin zararlı etkilerinden korunmasında yardımcı olacağını belirtmiştir (Dominici vd., 2014).

Sonuç olarak probiyotik bakterilerin besinlerde HAA detoksifikasyonu için ve/veya vücutta oluşabilecek hasarları önlemek için etkin bir biyolojik ajan olarak kullanılabilmesine yönelik ilgi ve bilimsel veriler giderek artmaktadır. Bu detoksifikasyon seviyesinin iyileştirilmesi ve antimutajenik aktivitenin daha iyi ortaya çıkması için daha fazla probiyotik bakteri türü araştırılmalı, en uygun pH, bakteri konsantrasyonu, inkübasyon süresi ve sıcaklığını belirlemeye yönelik ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Akrilamid Oluşumu ve Karsinojenik Özellikleri

Akrilamid insanlar ve hayvanlar üzerinde nörotoksik etki; kemirgenlerde genotoksik etki ve *in vitro* ve *in vivo* somatik hücrelerde mutajenik etki oluşturmasının ispatlanmasıyla son yıllarda oldukça ilgi kazanmıştır. Ayrıca IARC akrilamid insan için muhtemel karsinojen sınıfına almaktadır (Rivas-Jimenez vd., 2016). Akrilamid elektrofil bir moleküldür ve amin, karboksilat gibi nükleofilik gruplara tepki göstermektedir. Bu nükleofilik grupların genellikle DNA gibi biyolojik moleküllerde bulunması, akrilamid maruziyetinin DNA hasarına yol açmasına neden olmaktadır (Khorsidian, Asli, Hosseini, Shadnough, Mortazavian, 2016). Nişastalı besinlerin pişirme, kavurma veya ızgara süreçleri esnasında 120°C nin üzerindeki sıcaklıklara maruz kaldığında oluşmaktadır (Serrano-Niño vd., 2014). Besinlerde akrilamid oluşumuna öncülük eden temel yolak Maillard reaksiyonudur. Maillard reaksiyonu çoğunlukla asparajin amino asiti ile indirgen şeker arasında gerçekleşir. Bunun dışında akrilamid asparajinin dekarboksilasyonu ve deaminasyonu yoluyla, organik asitlerin dekarboksilasyonu veya dehidrasyonu, lipid degradasyonu, protein ve amino asitlerin termal bozunumuyla ortaya çıkan amonyaktan da oluşabilmektedir (Wang vd., 2017).

İsveç Ulusal Gıda Ajansı (NFA) ve Stockholm Üniversitesi'nin 2002 yılında yayınladığı bir rapora göre akrilamid en fazla ısıtılmış işlem görmüş besinlerde, esas olarak patates bazlı besinler, kahve ve kahvaltılık gevreklerde bulunmaktadır (Rivas-Jimenez vd., 2016). Ayrıca kavrulmuş ürünler (çay, badem, arpa), yağlar, beyaz ve tatlı patates ürünleri (patates kızartması ve cips) de akrilamid içeriği yüksek besinler arasındadır (Friedman, 2015). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'ne (FAO/WHO, 2002) göre gelişmiş ülkelerde insanların diyetle ortalama akrilamid alımı tahmini 0.3-0.8 µg/AA/kg/gün dür. Ancak gerçek tüketimin bu değerin üzerinde olabileceği ileri sürülmektedir (Rivas-Jimenez vd., 2016). Katz vd. (2012) adolesan dönem çocuklarının (13-19 yaş) batı diyetinden toplam akrilamid alımının neredeyse %56'sını patates kızartması ve patates cipsinin oluşturduğunu belirtmişlerdir (Katz, Winter, Buttrey, Fadel, 2012).

Akrilamid Detoksifikasyonu

Akrilamidin diyetle maruziyeti potansiyel bir sağlık sorunu olarak tanımlanmasından dolayı besinlerde akrilamid içeriğini düşürmek veya minimize etmek için çeşitli stratejiler araştırılmıştır. Bunlar, tarımsal uygulamaların modifiyesi (düşük glikoz, früktoz ve/veya asparajinaz içeren ekim çeşitlerinin seçilmesi gibi), asparajinaz enzimi ve mono-divalent katyonlar gibi eklemelerle Maillard reaksiyonunun

kontrolü, işleme koşullarının modifiye edilmesi (örn. Sıcaklık derecesi, azalmış ısıtma süresi) ve akrilamid oluşumundan sonra azaltılmasıdır (Rivas-Jimenez vd., 2016). Daha önceki yıllarda da besinin asparajin içeriği ile oluşan akrilamid miktarı arasında pozitif ilişki saptanmasıyla, asparajin ya da indirgen şeker içeriğinin azaltılmasıyla akrilamid oluşumunu inhibe edilebileceği belirtilmiştir (Capuano vd., 2009).

Son yıllarda besin kaynaklı mutajenlerin ortadan kaldırılmasında üzerinde durulan bir yöntem de LAB kullanımınıdır. Çeşitli çalışmalarda mikotoksinlerin, ağır metallerin ve HAA'ların azaltılmasında LAB kullanımının etkin olduğu gösterilmiştir (Orrhage vd., 1994; Serrano-Niño vd., 2013; Terahara vd., 1998). Dahası bazı LAB türlerinin ve fermente gıdaların *in vitro* ve *in vivo* olarak anti-mutajenik etki gösterdiği gösterilmiştir (Hernandez-Mendoza vd., 2009; Hernandez-Mendoza vd., 2011). Serrano-Niño vd. (2014) *in vitro* yaptığı bir çalışmada akrilamidin azaltılması için 14 farklı LAB türünün etkisini araştırmış ve bakteri konsantrasyonu ve türüne göre, 5 µg/mL'lik akrilamid konsantrasyonunda % 11.89-29.12 oranında azalma tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre test edilen bakterilerin PBS'de hızlı ve etkin bir şekilde akrilamide bağlanma gösterdiği, dolayısıyla bu bakterilerin gastrointestinal sistem (GİS) boyunca besin kaynaklı akrilamid için etkin bir dekontaminasyon sağlayabileceği belirtilmiştir. Dekontaminasyonun bakteri hücre duvarına toksinin fiziksel bağlanmasıyla gerçekleştiği düşünülmektedir (Serrano-Niño vd., 2014). Başka bir çalışmada ticari patates cipslerinin önce akrilamid içeriği tespit edilmiş, ardından *L. reuteri* NRRL 14171 ve *L. casei* Shirota bakterilerinin yapay GIS koşulları altında diyet akrilamidinin azaltıcı etkisi araştırılmış ve akrilamid konsantrasyonu ve bakteri hücre konsantrasyonuna göre toksin bağlanması farklılık göstermekle birlikte %32-73 oranında akrilamid seviyesinde azalma tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada en etkin bakteri olarak *L. casei* Shirota'nın bulunmasının bu bakteri türünün GIS boyunca en yüksek miktarda canlı kalmasına (>10⁶ kob/mL) bağlı olduğu gösterilmiştir (Rivas-Jimenez vd., 2016). Daha önceki çalışmalarda da benzer şekilde bakteri konsantrasyonu diyet mutajenlerinin (AFB1 ve AFM1 gibi) azaltılmasında ya da detoksifikasyonunda önemli bir etken olarak bulunmuştur (Abbès vd., 2013; Kabak ve Var, 2008; Pizzolitto vd., 2011).

Bu bulgular bakterilerin toksine bağlanmak için spesifik sınırlı bölgelerinin olduğu düşüncesini desteklemektedir. Bakteri hücre duvarına yönelik yapılan analize göre, teikoik asitin bazı bileşenleri akrilamidin bağlanmasındaki spesifik bölge olabileceği düşünülmüştür (Hernandez-Mendoza vd., 2009). Bunun nedeni olarak hücre duvarındaki teikoik asitin yapısı ve içeriğinin genellikle çok değişken olması (genetik

olarak yakından ilişkili türlerde bile) ve temel sarmal yapının kontrolünde, bağlanmasında ve korunmasında anahtar rol oynamasıyla ilişki olduğu düşünülmektedir. Ayrıca inflamasyon, konak hücre bağlanması ve immün aktivasyon üzerinde de rolleri bulunmaktadır (Weidenmaier ve Peschel, 2008).

Serrano-Niño vd. (2015) yaptıkları çalışmada 14 farklı laktik asit bakterisinin akrilamid ve aflatoksin B1 (AFB1)'e bağlanma yeteneğini ve toksinle bakterinin muhtemel etkileşimi olduğu düşünülen teikoik asitin bakterilerin hücre duvarlarına göre farklılığını araştırmışlardır. Çalışma sonunda akrilamid bağlanmasının bakteri türüne bağlı olduğu tespit edilmiştir. Bakterilerin AFB1'e bağlanmasında hücre duvarının glikoz içeriği ile; akrilamide bağlanmasında da hücre duvarının teikoik asit içeriği ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca akrilamid için D-alanin ve glikozun da afinite gösterdiği belirtilmiştir (Serrano-Niño vd., 2015).

Bu veriler ışığında tüketiciler için diyetle akrilamid maruziyetinin en aza indirilebilmesi amacıyla probiyotik türlerinin kullanılabilmesi düşünülmektedir. Ancak daha fazla probiyotik türü ve ideal bakteri konsantrasyonu araştırılarak detoksifikasyon seviyesi ve antimutajenik etki iyileştirilmelidir.

Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) Oluşumu ve Karsinojenik Özellikleri

Polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH), iki ya da daha fazla benzen halkası (karbon ve hidrojen atomundan oluşan) içeren organik bileşenler grubudur ve fosil yakıtların tamamlanmamış yanması sonucunda oluşurlar. Bunlar hava kirlenmeleri oldukları için toprak ve suyu kontamine edebilir; böylece de besin zincirine girebilirler. PAH'lar renksiz, suda az çözünen, yüksek erime ve kaynama noktasına ve düşük buhar basıncı sahip lipofilik maddelerdir. 100'den fazla PAH türü tanımlanmış olmasına karşın Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Birimi (EPA) besin kaynaklı temel bulaşan olarak 16 PAH türü belirtmiştir. Bunlar, naftalin, asenaften, asenaften, flüorin, antrasen, fenantren, flüoranten, piren, krisen, Benz[a]antrasen, Benzo[b]floranten, B[a]P, Benzo[k]floranten, Indeno[1,2,3-cd]piren, Benzo[g, h, i]perilen, Dibenz[a, h]antrasenden' dir (Khorshidian vd., 2016).

PAH'lar besinlerde atmosferde biriken kömür ve petrol gibi yakıtların yanması sonucu oluşan dumanlardan ya da besinlerin pişirilmesi ve işlenmesi sırasında uygulanan yüksek sıcaklığa maruziyetle oluşmaktadır. Özellikle barbekü, kavurma, kızartma, kurutma ve tütsüleme gibi işlemler besinlerde PAH oluşumuna neden olmaktadır ve dolayısıyla çiğ

ya da işlem görmemiş besinlerde çevreden bir kontaminasyon olmadığı sürece PAH düzeyi oldukça düşüktür. Besinlerde PAH oluşumunu etkileyen en önemli etmenler besine uygulanan pişirme yöntemi ve ısıl işlemin kaynağı, besinin kürlenme ajanları ile muamelesi ve besinin yağ içeriğidir (Ayaz, 2014).

Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Detoksifikasyonu

PAH seviyelerini azaltmak için etanol gibi solvent ekstraktları ya da aktive karbon gibi adsorban maddeler etkili olmaktadır. Bunun dışında probiyotiklerin antimutajenik aktivitesinin PAH'lar için de etkili olabileceği düşünülmektedir (Khorshidian vd., 2016).

Pei-Ren, Cheng-Chun, Ya-Hui (2002) yaptıkları çalışmada altı bifidobakteri türünün (*B. adolescentis* CCRC 14606, *B. bifidum* CCRC 146 15, *B. breve* CCRC 11846, *B. infantis* CCRC 14633, *B. longum* CCRC 14634 ve *B. lactis* Bb-12) *in vitro* ortamda benzo[a]-pyrene (BaP)'ne karşı antimutajenik aktivitesini tespit etmişler, sonunda da *B. lactis* ve *B. longum* türlerinin daha yüksek aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir (Pei-Ren, Cheng-Chun, Ya-Hui, 2002). Başka bir çalışmada üç laktik asit bakterisinin (*B. bifidum*, *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*) inkübasyon süresine göre değişmekle birlikte toplam PAH düzeyinde (4 µg/mL) %46.6-94.9 oranında azalma sağladığı gösterilmiştir (Abou-Arab vd., 2010). Benzeri çalışmalarda da BaP üzerinde birçok farklı laktik asit bakterisinin etkin bağlanma sağlayarak *in vitro* ve besin modelinde BaP seviyesini önemli düzeylerde azalttığı gösterilmiştir (Bartkiene vd., 2017; Zhao vd, 2013). Ayrıca bu bağlanmanın fiziksel bir tutunma olduğu ve bakteri hücre duvarı bileşeni peptidoglikan ve yapısal bütünlüğünün BaP bağlanmasında oldukça önemli bir rol oynadığı düşüncesine varılmıştır (Pei-Ren vd., 2002; Zhao vd., 2013).

Sonuç

Probiyotik bakterilerin ispatlanmış antimutajenik etkileri ve insan sağlığı üzerindeki diğer faydalı etkileriyle birlikte, HAA, akrilamid ve PAH gibi besin karsinojenlerinin detoksifikasyonuna yönelik yapılan *in vitro* çalışmalardan elde edilen olumlu sonuçlar umut vadetmektedir. Bu detoksifikasyonun yüksek oranda fiziksel bağlanmayla gerçekleştiği ve bu fiziksel bağlanmanın da hücre duvarı bileşenlerinin (özellikle peptidoglikan) etkisiyle oluştuğu üzerinde durulmaktadır. Bu nedenle de bağlanma düzeyinin her bakteriye özgü olduğu, ayrıca da bakteri miktarı, ortam koşulları, toksin türü vb. etkenlere göre değiştiği düşünülmektedir. Birçok mutajen için biyolojik detoksifikasyon amacıyla kullanılan probiyotik bakterilerle ilgili en iyi detoksifikasyon dü-

zeyinin sağlanabilmesi için daha farklı türde probiyotik bakterilerin araştırılması, besin ve sindirim sistemi (*in vitro* digestion) modellenmiş çalışmaların artırılması ve bu çalışmaların prebiyotikler, antioksidan moleküller gibi biyoaktif bileşenlerle birlikte kullanımlarının bağlama kapasiteleri üzerine etkilerine yönelik kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Etik Standart ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Kaynaklar

- Abbès, S., Salah-Abbès, J.B., Sharafi, H., Jebali, R., Noghabi, K.A., Oueslati, R. (2013). Ability of *Lactobacillus rhamnosus* GAF01 to remove AFM1 *in vitro* and to counteract AFM1 immunotoxicity *in vivo*. *Journal of Immunotoxicology*, 10(3), 279-286.
- Abou-Arab, A., Salim, A.-B., Maher, R., El-Hendawy, H., Awad, A. (2010). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons as affected by some lactic acid bacteria. *Journal of American Science*, 6(10), 1237-1246.
- Ayaz, A. (2014). *Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar: Sağlık Riskleri Ve Önleme Stratejileri* Paper presented at the IX. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi, Ankara.
- Balogh, Z., Gray, J.I., Gomaa, E.A., Booren, A.M. (2000). Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food Chem Toxicol*, 38(5):395-401.
- Bartkiene, E., Bartkevics, V., Mozuriene, E., Krungleviciute, V., Novoslavskij, A., Santini, A., Rozentale, I., Juodeikiene, G., Cizeikiene, D. (2017). The impact of lactic acid bacteria with antimicrobial properties on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and biogenic amines in cold smoked pork sausages. *Food Control*, 71, 285-292.
- Brody, J.G., Moysich, K.B., Humblet, O., Attfield, K.R., Beehler, G.P., Rudel, R.A. (2007). Environmental pollutants and breast cancer: epidemiologic studies. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 109, 2667-2711.
- Capuano, E., Ferrigno, A., Acampa, I., Serpen, A., Açar, Ö. Ç., Gökmen, V., Fogliano, V. (2009). Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation

- during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies. *Food Research International*, 42(9), 1295-1302.
- Cheng, K.W., Chen, F., Wang, M. (2006). Heterocyclic amines: chemistry and health. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(12), 1150-1170.
- Clements, S.J.R., Carding, S. (2018). Diet, the intestinal microbiota, and immune health in aging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(4), 651-661.
- Delfino, R.J., Sinha, R., Smith, C., West, J., White, E., Lin, H.J., Liao, S.Y., Gim, J.S.Y., Ma, H.L., Butler, J. (2000). Breast cancer, heterocyclic aromatic amines from meat and N-acetyltransferase 2 genotype. *Carcinogenesis*, 21(4), 607-615.
- Dominici, L., Villarini, M., Trotta, F., Federici, E., Cenci, G., Moretti, M. (2014). Protective effects of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* IMC501 in mice treated with PhIP. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 24(3), 371-378.
- Duangjitcharoen, Y., Kantachote, D., Prasitpuripreecha, C., Peerajan, S., Chaiyasut, C. (2014). Selection and characterization of probiotic lactic acid bacteria with heterocyclic amine binding and nitrosamine degradation properties. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(7), 14-23.
- Faridnia, F. (2010). *The Binding Of Bifidobacterium Pseudocatenulatum G4 Tomutagenic/Carcinogenic Heterocyclic Aromatic Amines In An In Vitro Study*. Universiti Putra Malaysia.
- Faridnia, F., Hussin, A., Saari, N., Mustafa, S., Yee, L., Manap, M. (2010). In vitro binding of mutagenic heterocyclic aromatic amines by *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4. *Beneficial Microbes*, 1(2), 149-154.
- Ferrucci, L.M., Sinha, R., Graubard, B.I., Mayne, S.T., Ma, X., Schatzkin, A., Schoenfeld, P.S., Cash, B.D., Flood, A., Cross, A.J. (2009). Dietary meat intake in relation to colorectal adenoma in asymptomatic women. *The American Journal of Gastroenterology*, 104, 1231-1240.
- Friedman, M. (2015). Acrylamide: inhibition of formation in processed food and mitigation of toxicity in cells, animals, and humans. *Food & Function*, 6(6), 1752-1772.
- Gibis, M. (2016). Heterocyclic aromatic amines in cooked meat products: causes, formation, occurrence, and risk assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(2), 269-302.
- Gibis, M., Weiss, J. (2017). Inhibitory effect of cellulose fibers on the formation of heterocyclic aromatic amines in grilled beef patties. *Food Chemistry*, 229, 828-836.
- Gibson, G.R., Scott, K.P., Rastall, R.A., Tuohy, K.M., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A., Gareau, M., Murphy, E.F., Saulnier, D., Loh, G., Macfarlane, S., Delzenne, N., Ringel, Y., Kozianowski, G., Dickmann, R., Lenoir-Wijnkoop, I., Walker, C., Buddington, R. (2010). Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Science & Technology Bulletin: Functional Foods*, 7(1), 1-19.
- Haritash, A.K., Kaushik, C.P. (2009). Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*, 169, 1-15.
- Hernandez-Mendoza, A., Garcia, H., Steele, J. (2009). Screening of *Lactobacillus casei* strains for their ability to bind aflatoxin B 1. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1064-1068.
- Hernandez-Mendoza, A., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., Garcia, H. S. (2011). Effect of oral supplementation of *Lactobacillus reuteri* in reduction of intestinal absorption of Aflatoxin B1 in rats. *Journal of Basic Microbiology*, 51(3), 263-268.
- Hernandez-Mendoza, A., Malcata, F.X. (2014). Probiotics: Potential Role in Protection against Cancer Driven by Dietary Xenobiotics. In V.R. Rai & J.A. Bai (Eds.), *Beneficial Microbes in Fermented Foods* (p.489-506). Florida, FL: CRC Press, ISBN 978-1-4822-0663-0
- John, E.M., Stern, M.C., Sinha, R., Koo, J. (2011). Meat consumption, cooking practices, meat mutagens, and risk of prostate cancer. *Nutrition and Cancer*, 63, 525-37.
- Kabak, B., Var, I. (2008). Factors affecting the removal of aflatoxin M1 from food model by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 43(7), 617-624.

- Katz, J. M., Winter, C. K., Buttrey, S. E., Fadel, J. G. (2012). Comparison of acrylamide intake from Western and guideline based diets using probabilistic techniques and linear programming. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3), 877-883.
- Khorshidian, N., Asli, M.Y., Hosseini, H., Shadnoush, M., Mortazavian, A.M. (2016). Potential anticarcinogenic effects of lactic acid bacteria and probiotics in detoxification of process-induced food toxicants. *Iranian Journal of Cancer Prevention*, 9(5), 1-13.
- Lam, T.K., Cross, A.J., Consonni, D., Randi, G., Bagnardi, V., Bertazzi, P.A., Caporaso, N.E., Sinha, R., Subar, A.F., Landi, M.T. (2009). Intakes of red meat, processed meat, and meat mutagens increase lung cancer risk. *Cancer Research*, 69, 932-939.
- Lili, Z., Junyan, W., Hongfei, Z., Baoqing, Z., Bolin, Z. (2017). Detoxification of cancerogenic compounds by lactic acid bacteria strains. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-16.
- World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. (2007). Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Retrieved from http://www.aicr.org/assets/docs/pdf/reports/Second_Expert_Report.pdf (accessed 12.11.2018).
- Meurillon, M., Engel, E. (2016). Mitigation strategies to reduce the impact of heterocyclic aromatic amines in proteinaceous foods. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 70-84.
- Mishra, H. N. and Das, C. (2003). A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 245-264.
- Nagao, M., Honda, M., Seino, Y., Yahagi, T., Sugimura, T. (1977). Mutagenicities of smoked condensates and the charred surface of fish and meat. *Cancer Letters*, 2, 221-226.
- Nowak, A., Libudzisz, Z. (2009). Ability of probiotic *Lactobacillus casei* DN 114001 to bind or/and metabolise heterocyclic aromatic amines in vitro. *European Journal of Nutrition*, 48(7), 419-427.
- Nowell, S., Coles, B., Sinha, R., MacLeod, S., Luke Ratnasinghe, D., Stotts, C., Kadlubar, F.F., Ambrosone, C.B., Lang, N.P. (2002). Analysis of total meat intake and exposure to individual heterocyclic amines in a case-control study of colorectal cancer: contribution of metabolic variation to risk. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 506-507, 175-185.
- Orrhage, K., Sillerström, E., Gustafsson, J.-Å., Nord, C., Raftar, J. (1994). Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic acid bacteria. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 311(2), 239-248.
- Oz, F., Kaban, G., Kaya, M. (2007). Effects of cooking methods on the formation of heterocyclic aromatic amines of two different species trout. *Food Chemistry*, 104(1), 67-72.
- Pei-Ren, L., Cheng-Chun, C., Ya-Hui, T. (2002). Antimutagenic activity of several probiotic bifidobacteria against benzo [a] pyrene. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94(2), 148-153.
- Phillips, D.H. (1999). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 443(1), 139-147.
- Pizzolitto, R.P., Dalcerro, A.M., Bueno, D.J., Cavaglieri, L., Armando, M.R., Salvano, M.A. (2011). *Binding of aflatoxin B1 to lactic acid bacteria and Saccharomyces cerevisiae in vitro: a useful model to determine the most efficient microorganism*: INTECH Open Access Publisher.
- Rajendran, R., Ohta, Y. (1998). Binding of heterocyclic amines by lactic acid bacteria from miso, a fermented Japanese food. *Canadian Journal of Microbiology*, 44(2), 109-115.
- Reddy, B.S., Rivenson, A. (1993). Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* on colon, mammary, and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo [4, 5-f] quinoline, a food mutagen. *Cancer Research*, 53(17), 3914-3918.
- Rivas-Jimenez, L., Ramírez-Ortiz, K., González-Córdova, A., Vallejo-Cordoba, B., Garcia, H., Hernandez-Mendoza, A. (2016). Evaluation of acrylamide-removing properties of two *Lactobacillus* strains under simulated gastrointestinal conditions using a dynamic system. *Microbiological Research*, 190, 19-26.

- Sanders, M. E., Lenoir-Wijnkoop, I., Salminen, S., Merenstein, D. J., Gibson, G. R., Petschow, B. W., Nieuwdorp, M., Tancredi, D.J., Cifelli, C.J., Jacques, P., Pot, B. (2014). Probiotics and prebiotics: prospects for public health and nutritional recommendations. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1309(1), 19-29.
- Serrano-Niño, J., Cavazos-Garduño, A., Cantú-Cornelio, F., Gonzalez-Cordova, A., Vallejo-Cordoba, B., Hernández-Mendoza, A., García, H. (2015). In vitro reduced availability of aflatoxin B 1 and acrylamide by bonding interactions with teichoic acids from lactobacillus strains. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1334-1341.
- Serrano-Niño, J., Cavazos-Garduño, A., Hernandez-Mendoza, A., Applegate, B., Ferruzzi, M., San Martín-González, M., García, H. (2013). Assessment of probiotic strains ability to reduce the bioaccessibility of aflatoxin M 1 in artificially contaminated milk using an in vitro digestive model. *Food Control*, 31(1), 202-207.
- Serrano-Niño, J., Cavazos-Garduño, A., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., Hernández-Mendoza, A., García, H. (2014). In vitro study of the potential protective role of Lactobacillus strains by acrylamide binding. *Journal of Food Safety*, 34(1), 62-68.
- Sinha, R., Chow, W. H., Kulldorff, M., Denobile, J., Butler, J., Garcia-Closas, M., Weil, R., Hoover, R.N., Rothman, N. (1999). Well-done, grilled red meat increases the risk of colorectal adenomas. *Cancer Research*, 59(17), 4320-4324.
- Skog, K., Solyakov, A. (2002). Heterocyclic amines in poultry products: a literature review. *Food and Chemical Toxicology*, 40(8), 1213-1221.
- Sreekumar, O., Hosono, A. (1998). Antimutagenicity and the influence of physical factors in binding Lactobacillus gasseri and Bifidobacterium longum cells to amino acid pyrolysates. *Journal of Dairy Science*, 81(6), 1508-1516.
- Stacewicz-Sapuntzakis, M., Borthakur, G., Burns, J.L., Bowen, P.E. (2008). Correlations of dietary patterns with prostate health. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(1), 114-130.
- Stidl, R., Sontag, G., Koller, V., Knasmüller, S. (2008). Binding of heterocyclic aromatic amines by lactic acid bacteria: results of a comprehensive screening trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(3), 322-329.
- Stolzenberg-Solomon, R.Z., Cross, A.J., Silverman, D.T., Schairer, C., Thompson, F.E., Kipnis, V., Subar, A.F., Hollenbeck, A., Schatzkin, A., Sinha, R. (2007). Meat and meat-mutagen intake and pancreatic cancer risk in the NIH-AARP cohort. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 16, 2664-2675.
- Tavan, E., Cayuela, C., Antoine, J.-M., Trugnan, G., Chaugier, C., Cassand, P. (2002). Effects of dairy products on heterocyclic aromatic amine-induced rat colon carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 23(3), 477-483.
- Terahara, M., Meguro, S., Kaneko, T. (1998). Effects of lactic acid bacteria on binding and absorption of mutagenic heterocyclic amines. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62(2), 197-200.
- Turesky, R. J. (2007). Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats. *Toxicology Letters*, 168(3), 219-227.
- Wang, S., Yu, J., Xin, Q., Wang, S., Copeland, L. (2017). Effects of starch damage and yeast fermentation on acrylamide formation in bread. *Food Control*, 73, 230-236.
- Weidenmaier, C., Peschel, A. (2008). Teichoic acids and related cell-wall glycopolymers in Gram-positive physiology and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 6(4), 276-287.
- Wollowski, I., Rechkemmer, G., Pool-Zobel, B. L. (2001). Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 451-455.
- Bouvard, V., Loomis, D., Guyton, K.Z., Grosse, Y., Ghissassi, F.E., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Mattock, H., Straif, K. (2015). Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol*, 16(16), 1599-600.
- Zhang, X.B., Ohta, Y. (1991). Binding of mutagens by fractions of the cell wall skeleton of lactic acid bacteria on mutagens. *Journal of Dairy Science*, 74(5), 1477-1481.

Zhao, H., Zhou, F., Qi, Y., Dziugan, P., Bai, F., Walczak, P., Zhang, B. (2013). Screening of *Lactobacillus* strains for their ability to bind benzo (a) pyrene and the mechanism of the process. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 67-71.

Zheng, W., Gustafson, D.R., Moore, D., Hong, C.-P., Anderson, K.E., Kushi, L.H., Sellers, T.A., Folsom,

A.R. (1998). Well-done meat intake and the risk of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 90(22), 1724-1729.

Zsivkovits, M., Fekadu, K., Sontag, G., Nabinger, U., Huber, W.W., Kundi, M., Chakraborty, A., Foissy, H., Knasmüller, S. (2003). Prevention of heterocyclic amine-induced DNA damage in colon and liver of rats by different *Lactobacillus* strains. *Carcinogenesis*, 24(12), 1913-1918.



FOOD and HEALTH

Food and Health, 5(3), 149-159 (2019) • <https://doi.org/10.3153/FH19016>

E-ISSN: 2602-2834

Research Article

IDENTIFICATION OF *Staphylococcus aureus* CHEESE ISOLATES WITH RESPECT TO VIRULENCE PROPERTIES, GENETIC RELATEDNESS AND ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILES

Pınar Kadiroğlu¹ , Figen Korel² , Çağatay Ceylan² 

Cite this article as:

Kadiroğlu, P., Korel, F., Ceylan, Ç. (2019). Identification of *Staphylococcus aureus* cheese isolates with respect to virulence properties, genetic relatedness and antibiotic resistance profiles. *Food and Health*, 5(3), 149-159. <https://doi.org/10.3153/FH19016>

¹ Adana Science and Technology University, Food Engineering Department, 01250, Sarıçam, Adana, Turkey

² İzmir Institute of Technology, Food Engineering Department, Urla, 35430, İzmir, Turkey

ORCID IDs of the authors:

P.K. 0000-0002-9730-8655

F.K. 0000-0001-8202-6797

Ç.C. 0000-0001-5254-5983

Submitted: 12.10.2018

Accepted: 29.11.2018

Published online: 14.02.2019

Correspondence:

Pınar KADIROĞLU

E-mail: pkadiroglu@adanabtu.edu.tr

© Copyright 2019 by ScientificWebJournals

Available online at
<http://jfh.scientificwebjournals.com>

ABSTRACT

The problems on identification of *Staphylococcus aureus* isolates from cheese samples were investigated by phenotypic and genotypic tests in this study. Among 207 *Staphylococcus* spp. isolated from 31 cheese samples, 23 isolates that were Gram positive, catalase and slide coagulase positive, with 1 isolate that was latex agglutination test negative showed different phenotypic properties. Polymerase chain reaction (PCR) and quantitative PCR (qPCR) analyses showed that DNase test and target genes (*nuc*, *coa*) regarded as gold standard regions for *S. aureus* were not found to be unique for identification of *S. aureus*. The toxin genes (SEA-SEE) were not detected by PCR. Antibiotic resistance profiles of *S. aureus* isolates demonstrated that two isolates were resistant to penicillin G. This study showed that the unique phenotypic and genotypic test was not adequate for identification of *S. aureus* isolates. There was no correlation between the presence of the *nuc* gene and toxin genes. The presence of *nuc* gene which was used for detection of *S. aureus* was also found to be present in other *Staphylococcus* isolates. As a conclusion, the results revealed that biochemical tests could lead to false positive results for identification of *S. aureus*. The presence of *nuc* gene is not correlated with the presence of *toxin* genes.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, PCR, Identification, Antibiotic resistance

Introduction

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is one of the most significant bacterial pathogens for human health and commonly involved in bacterial infections and food poisoning outbreaks worldwide (Chapaval et al., 2008; Ertas et al., 2010). Heat stable enterotoxins produced by specific strains of *S. aureus* are significant agents in staphylococcal food poisoning cases (Güven et al., 2010). The pathogenesis of *S. aureus* infection could be related to secretion of extracellular toxins and enzymes such as coagulase, DNase, thermonuclease etc (Kong et al., 2016). Milk and dairy products are pasteurized to eliminate high contamination levels of *S. aureus*; however, toxins produced by the bacterium are not inactivated in this process (Peles et al., 2007; Akineden et al., 2008). Several antibiotics are used to eliminate the diseases in animals and the bacterial intoxication cases. The common antibiotic use for treatment of animals and preservation of milk has caused development of antibiotic resistance (Alian et al., 2012).

Molecular methods can distinguish differences among closely related species as demonstrated by many researchers (Gičová et al., 2014; Villarreal et al., 2013; Kabadjova et al., 2002). Molecular methods can be used for identification of *S. aureus* to control the invasiveness of this bacterium among human, animal, and food (André et al., 2008). Surface proteins, invasions, toxins, biochemical properties, and inherent and acquired resistance to antimicrobial agents are the main virulence factors of *S. aureus* (Franklin and Lowy 1998; Stutz et al., 2011). Staphylococcal enterotoxins are the important virulence factors involved in pathogenicity of *S. aureus* (Huong et al., 2010). Staphylococcal food poisoning is caused by ingestion of foods contaminated with *S. aureus* that include one or more enterotoxins (Vasconcelos and Cunha 2010). Therefore, it is significant to detect and identify *S. aureus* in food samples. The presence of the *nuc* gene coding thermostable nuclease enzyme was used as an indication of *S. aureus* contamination in several studies (Alarcón et al., 2006; Aprodu et al., 2011; Hein et al., 2001; Lem et al., 2001). The *nuc* gene was used together with *coa* gene for identification of enterotoxigenic *S. aureus* strains by analyzing with PCR method (Cremonesi et al., 2007). PCR amplification of *coa* gene was regarded as a gold standard when compared to tube coagulase test (Tiwari et al., 2008). The genes encoding 23S rRNA, 16S to 23S rRNA spacer region, and 16S rRNA were used to confirm the biochemical test results for identification of *S. aureus* (Akineden et al., 2008; Gomez et al., 2007; Phuektes et al., 2003).

The identification of *S. aureus* can be carried out inaccurately based on unique phenotypic or genotypic tests. Studies on *S. aureus* showed that there were some contradictory results on identification of *S. aureus*. The phenotypic and genotypic tests can lead to misidentification by the impact of environmental factors on gene expression (Gandra et al., 2005).

Although several studies have been reported on the isolation and identification of the isolated *S. aureus* strains from Turkey, there have been only limited numbers of studies on the investigation of this bacterium from western part of the country. Another distinguishing point in our study is the comprehensive evaluation of latex agglutination test, tube coagulase and DNase activity tests with the presence of *nuc* and *coa* genes. The main objective of this study is to carry out the molecular and biochemical identification of *S. aureus* strains isolated from white cheese samples from three different locations in western part of Turkey. In addition, antibiotic sensitivities and toxin production properties were also characterized. Genetic relatedness of the isolates was determined by sequencing of the 16S rDNA region. Antibiotic resistance profiles of the isolates were obtained by performing the antibiotic susceptibility tests of the isolates to the 31 antibiotics and by searching the presence of *mecA* gene by PCR analysis.

Materials and Methods

Isolation and Identification of Strains

A total of 207 strains were purified from 31 unpackaged cheese samples purchased from local markets in western Turkey (cities of İzmir, Manisa, and Aydın). Twenty five gram cheese samples were homogenized in 225 mL of sterile 0.1% buffered peptone water (Merck, Darmstadt, Germany). Serial dilutions were prepared up to 10^{-3} and 0.1 mL aliquots were plated on Baird-Parker agar (BD-Difco, Sparks, Maryland) supplemented with egg yolk tellurite (BD-BBL, Sparks, Maryland) and incubated at 37°C for 24–48 h. The typical and atypical bacterial colonies isolated from the incubated plates were transferred into tryptic soy broth medium for enrichment. The enriched bacteria were subcultured using streak plate technique. Gram staining, catalase, latex agglutination and tube coagulase, DNase activity and mannitol fermentation tests were performed. DNase activity test was performed by inoculating the culture to the DNase test agar and grown for 24h at 37°C. 37 % HCl solution was poured onto the colonies for 5 minutes and observed for the clear zone around the colonies. Coagulase test was performed in two ways as tube coagulase test and latex

agglutination test. Latex agglutination test was carried out by using latex agglutination test kit. Tube coagulase test was performed for the determination of free coagulase production of the isolates, for this, coagulase plasma (0.5 mL) in the clean test tube was mixed with the tested isolate. The test tube was incubated at 37°C and observed every 30 minutes for clotting by gently shaking the tube (Sperber and Tatini, 1975; Kateete et al., 2010). All purified isolates were stored at -80°C for further analysis. *S. aureus* RSKK 1009 was used as positive control in the study.

Bacterial DNA Extraction

Overnight tryptic soy broth culture (0.2 mL) of each isolate was transferred to eppendorf tubes and centrifuged at 15,000 x g for 5 min. The pellet was homogenized with 45 µL of sterile deionized water. The cells were treated with lyso-staphin (100 µg mL⁻¹) and incubated at 37°C for 1 h. Following this, 15 µL of proteinase K (100 µg mL⁻¹) and 150 µL of Tris-HCl (0.1 M, pH 7.5) were added. Cell suspensions were incubated at 37°C for 1 h and subsequently held in boiling water for 5 min. These cell lysates were stored at -20°C (Sudagidan et al., 2008).

Quantitative PCR Analysis

The primers and probe targeting *nuc* gene were used as reported by Alarcón et al. (2006). The TaqMan probe was la-

beled with 6-carboxy-fluorescein (FAM) and with 6-carboxy-tetramethyl-rhodamine (TAMRA) in 5' and 3' ends, respectively. The size of the amplified *nuc* gene product was expected to be 124 bp in length. Amplification assay of TaqMan based qPCR included in a total volume of 20 µL. This mixture composed of 10X probes master, 500 nM of each primer, 200 nM probe and 5 µL of template DNA. The thermal cycling programme started with 95°C for 10 min of incubation. 50 cycles of amplification included 95°C for 15 s denaturation step, annealing at 60°C for TaqMan probe. The reaction ended with extension step at 72°C for 1 s. The data analyses were carried out using LightCycler[®] 480 Instrument software version 1.5 (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).

PCR Amplification of the Targeted Genomic Loci

S. aureus strains were genotyped by PCR amplification targeting 23S rDNA (Straub et al., 1999), the spacer region between 16S-23S (Forsman et al., 1997), clumping factor (*clfA*), X and IgG binding regions of the protein A and coagulase (*coa*) using the PCR as described previously (Akineden et al., 2008). *femA* and *sau* regions were used as internal amplification controls in PCR analyses (Mehrotra et al., 2000; Holochová et al., 2010). PCR programme of amplification was given in Table 1.

Table 1. PCR amplification conditions

Target gene	Amplification Program
23S rDNA	Pre-denaturation 5 min at 94°C, 37 cycles of denaturation at 94°C for 40 s, annealing at 64°C for 60 s, extension at 72°C for 75 s and a final extension of 3.5 min at 72°C.
16 S- 23 S rDNA	Pre-denaturation 5 min at 94°C, 30 cycles of denaturation at 94°C for 30 s, annealing at 55°C for 30 s, extension at 72°C for 30 s and a final extension of 3.5 min at 72°C.
<i>ClfA</i>	Pre-denaturation 5 min at 94°C, 35 cycles of denaturation at 94°C for 60 s, annealing at 57°C for 60 s, extension at 72°C for 60 s and a final extension of 3.5 min at 72°C.
<i>Nuc</i>	Pre-denaturation 5 min at 94°C, 37 cycles of denaturation at 94°C for 1 min, annealing at 55°C for 30 s, extension at 72°C for 30 sec and a final extension of 3.5 min at 72°C.
<i>Coa, Spa Igg</i>	Pre-denaturation 5 min at 94°C, 30 cycles of denaturation at 94°C for 60 s, annealing at 58°C for 60 s, extension at 72°C for 60 s and a final extension of 3.5 min at 72°C.
<i>Spa X</i>	Pre-denaturation 5 min at 94°C, 30 cycles of denaturation at 94°C for 60 s, annealing at 60°C for 60 s, extension at 72°C for 60 s and a final extension of 3.5 min at 72°C.
<i>femA</i>	Pre-denaturation 5 min at 94°C, 35 cycles of denaturation at 94°C for 2 min, annealing at 57°C for 2 min, extension at 72°C for 60 s and a final extension of 7 min at 72°C.
<i>Sau</i>	Pre-denaturation 3 min at 94°C, 30 cycles of denaturation at 94°C for 45 s, annealing at 56°C for 60 s, extension at 72°C for 90 s and a final extension of 7 min at 72°C.

Detection of Toxin Production and Toxin Genes in *S. aureus* Strains

Enterotoxin production was investigated for all *S. aureus* strains isolated using SET-RPLA Toxin kit (Oxoid, Hampshire, UK) according to manufacturer's instructions. The enterotoxin genes (SEA-SEE) were amplified using the primers reported previously (Akineden et al., 2008). *S. aureus* reference strains with SEA (619/93), SEB (62/92), SEC (1229/93), SED (1644/93), SEE (FRI 918) were used as toxin positive controls. The PCR program was performed following 30 cycles of 94°C for 5 min, 94°C for 120 sec, 55°C annealing temperature for toxins A, B and E, 50°C annealing temperature for toxins C and D, 72 °C for 60 and final extension of 72°C for 3.5 min. The amplification was carried out with thermal cycler (Bio-Rad, California, USA).

Antimicrobial Disc Susceptibility Test and Detection of *mecA* Gene

The isolates were tested for antibiotic susceptibility using agar disc diffusion method using Mueller Hinton agar according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2006). The antibiotics included were amoxicillin/clavulanate, ampicillin/sublactam, cefoxitin, cephalosporin, clindamycin, chloramphenicol, ciprofloxacin, clarithromycin, fusidic acid, gentamycin, imipenem, kanamycin, levofloxacin, linezolid, moxifloxacin, neomycin, norfloxacin, ofloxacin, oxacillin, penicillin G, piperacillin/tazobactam, quinupristin/dalfopristin, rifampicin, teicoplanin, tetracycline, ticarcillin/clavulanate, tigecycline, tobramycin, trimethoprim-sulfamethazole, vancomycin, enrofloxacin (Oxoid, Hampshire, United Kingdom). Twenty of the antibiotics were in the critically important, 7 were selected from highly important, 4 antibiotics were selected from important class of antibiotics. The inhibition zone diameters were classified susceptible, intermediate or resistant according to CLSI (2006) and Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (for fusidic acid) (2001). The primers and PCR method given by Lem et al. (2001) were used for the detection of methicillin resistance gene (*mecA*). PCR consisted of 40 cycles starting with an initial incubation of 95°C for 5 min followed by 95°C for 20 sec, 63°C for 45 sec annealing, 72°C for 45 sec extension and final incubation of 72°C for 5 min.

Sequence Analysis

The bacterial strains were identified by using the primers amplifying 350 bp fragment of 16S ribosomal DNA gene. The primers were: Forward primer: 5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' Reverse primer: 5'-CCCACTGCTGCCTCCCGTAG-3'

The reaction conditions and primers were used as described by Riyaz-Ul-Hassan et al. (2008). The amplified products were purified and sequenced with Genetic Analyzer 3130 XL (Applied Biosystems, California, USA). One forward primer was used for sequencing. The sequences obtained were compared with the sequences in the NCBI database with BLAST Analysis. The sequences were aligned with ClustalW program adapted to Mega 5.2 program (Tamura et al. 2011). Phylogenetic distance tree was constructed with Maximum Likelihood method with phylogeny test of Bootstrap method with 1000 replications to investigate the similarity between different isolates.

Results and Discussion

Identification of the Isolates

Due to the importance of the *S. aureus* as an important food-borne pathogen, it is necessary to characterize *S. aureus* strains isolated from white cheese samples and to investigate these strains by toxin typing. For this purpose 207 strains were obtained from 31 different cheese samples. Twenty four (24) isolates that were Gram positive and catalase positive and gave at least one positive reaction to DNase activity, mannitol fermentation and latex agglutination tests were further investigated for the presence of *coa* and *nuc* genes and sequence analyses. The presence of *nuc* gene was examined with qPCR analysis. A total of 3 of the isolates were identified as *S. aureus* according to all biochemical test, PCR, qPCR and sequence analysis results with higher than 93% sequence identity. The test results of the isolates to these analyses are given in Table 2.

Previously, it was reported that there is no single test that can definitely identify *S. aureus* (Kateete et al., 2010). Biochemical tests are not enough for reliable identification of *S. aureus* strains. For this reason both biochemical and genetic tests were carried out for correct identification of the isolated strains. Comparative analyses such as latex agglutination test, tube coagulase test, and *coa* and *nuc* gene presence were examined to choose the gold standard method for identification of *S. aureus*. Tube coagulase test has been used for differentiation of *S. aureus* in most of the studies (Malathi et al., 2009; Akineden et al., 2011). In one of these studies; latex agglutination test, Slidex Staph plus test and tube coagulase test were compared. Analysing the presence of *coa* gene by PCR was used as a gold standard for detection of *S. aureus* and tube coagulase test was recommended as routine test to correctly differentiate *S. aureus* from coagulase negative staphylococci (Tiwari et al., 2008). However, it is important that coagulase negative strains of *S. aureus* have also been reported. In these studies, the isolates gave negative reaction to tube coagulase test, but they all carried *coa* gene

when amplified with PCR (Vandenesch et al., 1994; Akineden et al., 2011).

qPCR amplification of *nuc* gene has been used as a gold standard for the detection of *S. aureus* in many studies (Hein et al., 2001, Alarcón et al., 2006, Esan et al., 2009). The *nuc* gene was reported to have *S. aureus* species specific sequences (Asfour and Darwish, 2011). In this study, the results showed that 3 isolates (16, 20, 21) identified as *Staphylococcus* spp. that tested negative in tube coagulase test were positive for the *coa* gene. Also 2 of the isolates (15, 20) that were tube coagulase negative had the *nuc* gene. These isolates gave positive reaction to latex agglutination test.

The isolates harbouring the *nuc* gene could not be identified as *S. aureus* by sequence analyses. The common property of these isolates was that they did not show DNase activity. The sequence analyses were performed to investigate the genetic similarity of the isolates using 16S rDNA gene sequences. The distance tree showing the genetic relatedness of the isolates is given in Figure 1. But there were no definite clusters among the *S. aureus* isolates and other isolates. The

isolates 1, 3, 4, 5 and *S. aureus* RSKK 1009 which was used as positive control (PC) were found closer to each other under the same branch of the tree. The isolate 18 which was sequenced as *S. carnosus* was grouped with *S. hyicus* and *S. intermedius* apart from the other isolates.

Virulence Properties of the Isolates

The virulence properties of *S. aureus* isolates were investigated by PCR analysis. Several target regions including the 23S rDNA, the spacer region between 16S-23S rDNA, *coa*, *clf*, *spaX*, and *spaIgG* were amplified in the bacterial genome using PCR method. *Sau* and *femA* regions were used as internal controls in several studies for confirmation of the presence of *S. aureus* (Mehrotra et al., 2000; Holochová et al., 2010). The results of the PCR experiments are given in Table 3. As the results indicated, except for 16S-23S region, all of the target regions tested positive to the isolated strains. Also, in correlation to our study, 5 of the 64 isolates which were confirmed as *S. aureus* tested negative for the 16S-23S rDNA intergenic spacer region in a previous study (Akineden et al., 2008).

Table 2. Biochemical test results, PCR, qPCR and sequence analyses results of the isolates.

Sample code	Gram staining	Catalase test	Latex agglutination test	DNase activity	Mannitol ferm.	Tube coagulase test	<i>coa</i>	<i>nuc</i>	Sequence
PC	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>S. aureus</i> (97%)
1	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>S. aureus</i> (94%)
2	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>S. aureus</i> (98%)
3	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>S. aureus</i> (90%)
4	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>S. pasteurii</i> (85%)
5	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>S. saprophyticus</i> (83%)
6	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Staphylococcus</i> spp. (97%)
7	+	+	-	-	+	-	-	-	<i>S. epidermidis</i> (99%)
8	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Macrocooccus</i> spp. (92%)
9	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Staphylococcus</i> spp. (87%)
10	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Staphylococcus</i> spp. (93%)
11	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>S. carnosus</i> (86%)
12	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>S. carnosus</i> (99%)
13	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>S. aureus</i> (83%)
14	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>S. carnosus</i> (85%)
15	+	+	+	-	+	-	-	+	<i>S. xylosus</i> (88%)
16	+	+	+	-	-	-	+	-	Uncultured bacterium (91%)
17	+	+	+	+	+	-	-	-	<i>S. sciuri</i> (83%)
18	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>S. carnosus</i> (81%)
19	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>S. saprophyticus</i> (86%)
20	+	+	+	-	+	-	+	+	<i>S. equorum</i> (81%)
21	+	+	+	-	-	-	+	-	<i>S. carnosus</i> (99%)
22	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>S. xylosus</i> (98%)
23	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>S. saprophyticus</i> (88%)
24	+	+	+	+	+	-	-	-	<i>Staphylococcus</i> spp. (84%)

PC: Positive control (*S. aureus* RSKK 1009)

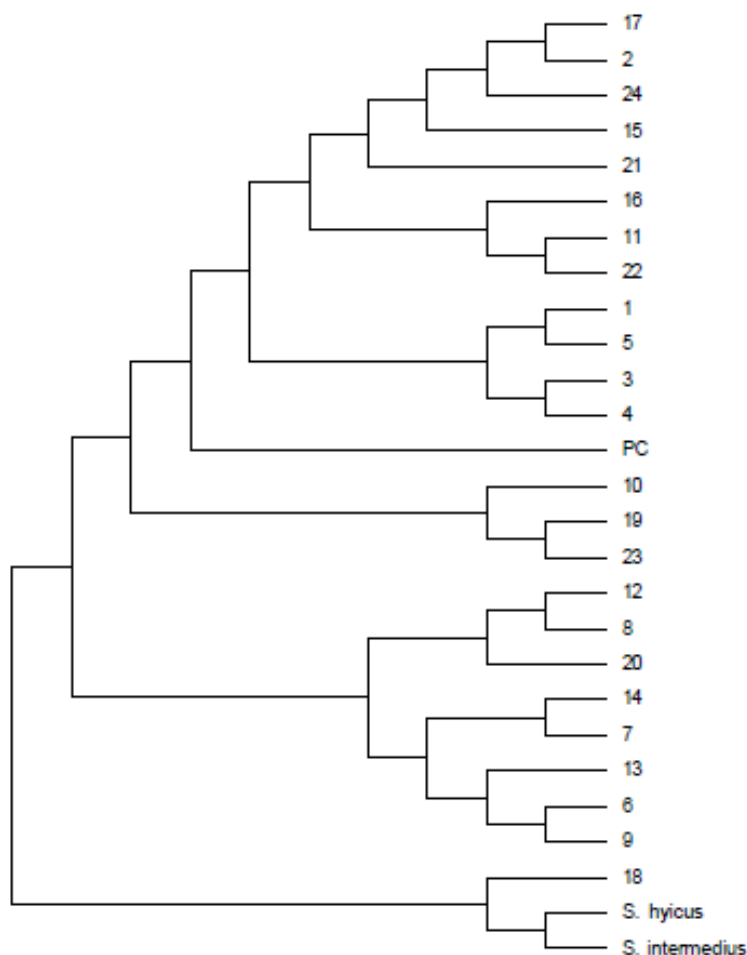


Figure 1. Genetic relatedness of *Staphylococcus* isolates

Toxin Production Ability of the Isolates

The presence of the enterotoxin genes were also investigated by application of PCR targeting SEA, SEB, SEC, SED and SEE, but none of the strains were found to contain these toxin genes in their genomes. This result was in accordance with the results obtained using the toxin detection kit.

Staphylococcus strains produce thermonuclease that degrades both DNA and RNA. The *nuc* gene encoding thermonuclease protein has species-specific sequences (Brakstad et al., 1992). Detection of toxin genes does not necessarily indicate that the organism produces biologically active molecules or toxins. In a food system, PCR detection of toxin genes coupled with the specific detection of the producing species (*nuc*-PCR) represents the potential of toxin formation in food and hazardous food products due to the level of contamination (Ercolini et al., 2004). In this study, the correlation between the presence of *nuc* gene and toxin

genes was not found. The production of toxins was also tested by toxin test kit, but the results were in accordance with the PCR analyses of toxin genes.

Antibiotic Resistance Profiles of the Isolates

Antibiotic resistance is an important issue for transmission of *S. aureus* isolates to humans and the use of antibiotics as therapeutic purposes or growth promoters in animal husbandry (Alian et al., 2012). In this study, susceptibilities of the 3 isolates to 31 different antibiotics were investigated by agar disc diffusion method. Antibiotic resistance profiles of these isolates are shown in Table 4. All of the isolates were found to be susceptible to amoxycillin, ampicillin, cephalosporin, chloramphenicol, ciprofloxacin, clindamycin, gentamycin, imipenem, kanamycin, levofloxacin, linezolid, ofloxacin, oxacillin, rifampicin, teicoplanin, tetracycline, tobramycin, trimethoprim-sulfamethazole, vancomycin, en-

rofloxacın. In our study, it was found that 2 (2, 3) of the isolates were found to be resistant to Penicillin G. This can be related to the common use of penicillin for treatment of infections in humans and animals (Yucel et al., 2011). One isolate (1) showed intermediate resistance to fusidic acid. Similarly Sudagidan et al. (2010) investigated the antibiotic susceptibilities of *S. aureus* strains isolated from 1070 food

samples and found that most of the strains were resistant to penicillin G from the samples collected from Marmara region of Turkey. In another study, antibiotic resistance tests of 138 *S. aureus* strains isolated from 413 food samples obtained from Eskisehir and Kütahya provinces in Turkey illustrated that many of the strains showed high resistance to penicillin G (Güven et al., 2010).

Table 3. PCR analysis results of *S. aureus* isolates.

Sample code no	23S rDNA	16S-23S	coa	clf	spa X	spa Igg	femA	sau
1	+	-	+	+	+	+	+	+
2	+	-	+	+	+	+	+	+
3	+	-	+	+	+	+	+	+
PC	+	+	+	+	+	+	+	+

PC: Positive control (*S. aureus* RSKK 1009)

Table 4. Antibiotic resistance profiles of *S. aureus* isolates.

Antibiotics Name	Code	Isolates			Zone diameters		
		1	2	3	R	I	S
Amoxicillin/clavulanate	AMC30	43	29	30	≤19		≥20
Ampicillin/sublactam	SAM20	40	20	25	≤11	12-14	≥15
Cefoxitin	FOX30	33	33	33	≤21		≥22
Cephazolin	KZ30	38	35	27	≤14	15-17	≥18
Chloramphenicol	C30	31	25	29	≤12	13-16	≥17
Ciprofloxacin	CIP5	33	32	31	≤15	16-18	≥19
Clarithromycin	CLR15	34	28	29	≤13	14-17	≥18
Clindamycin	DA2	35	29	28	≤14	15-20	≥21
Fusidic acid	FD10	20	32	34	≤15	16-21	
Gentamycin	CN120	40	31	31	≤12	13-14	
İmipenem	IPM10	51	50	52	≤13	14-15	
Kanamycin	K30	33	24	25	≤13	14-17	
Levofloxacin	LEV5	31	33	33	≤15	16-18	
Linezolid	LZD30	36	31	33			≥21
Moxifloxacin	MXF5	33	34	35	≤20	21-23	≥24
Neomycin	N30	30	23	24			
Norfloxacin	NOR10	29	30	30	≤12	13-16	≥17
Ofloxacin	OFX5	28	31	30			
Oxacillin	OX1	13	24	26	≤10	11-12	≥13
Penicillin G	P10	33	21	22	≤28		≥29
Piperacillin/tazobactam	TZP110	38	27	27	≤17		≥18
Quinupristin/dalfopristin	QD15	33	27	28	≤15	16-18	≥19
Rifampicin	RD5	40	33	35	≤10	17-19	≥20
Teicoplanin	TEC30	21	19	20	≤10	11-13	≥14
Tetracycline	TE30	43	34	35	≤14	15-18	≥19
Ticarcillin/clavulanate	TIM85	35	34	33	≤22		≥23
Tigecycline	TGC15	36	28	30			≥20
Tobramycin	TOB10	34	24	25	≤12	13-14	≥15
Trimethoprim-sulfamethazole	SXT25	37	33	34	≤10	11-15	≥16
Vancomycin	VA30	23	20	21			≥15
Enrofloxacin	ENR5	31	33	33	≤13	14-22	

R: Resistant I: Intermediate Resistance S: Susceptible zone diameter standards reported by Clinical and Laboratory Standards Institute.

As reported by Alian et al. (2012), *S. aureus* strains isolated from milk samples were most commonly resistant to ampicillin (54.3%), followed by oxacillin (28.3%), tetracycline (26.1%), penicillin G (23.9%), erythromycin (23.9%), trimethoprim-sulfamethoxazole (17.4%) and cephalotin (2.2%). It was evident that the isolates were resistant to β -lactams which were in accordance with our findings. Miranda et al. (2009) investigated the antibiotic resistance profiles of *S. aureus* isolated from conventional and organic cheeses and concluded that raw and pasteurized milk conventional cheese samples showed higher levels than pasteurized milk organic cheese samples for ciprofloxacin, penicillin, oxacillin and rifampicin. *MecA* gene that is highly conserved in methicillin resistant *S. aureus* strains provides resistance to methicillin and all other β -lactam antibiotics (Chambers, 1997). The susceptibility results to oxacillin, vancomycin, and erythromycin in the disc diffusion test were supported by PCR analysis of *mecA* gene which reveals that none of the isolates were resistant to methicillin.

Conclusions

The results indicated that the target genes (*coa*, *nuc*) that were regarded as gold standard regions for *S. aureus* were not found to be unique for the identification of *S. aureus*. The DNase activity which was used as a discriminatory test for *S. aureus* was not unique to *S. aureus* isolates. In addition, this study revealed that the presence of *nuc* gene did not correlate with the DNase activity. No correlation was observed between the *nuc* gene and enterotoxigenicity. Three isolates were confirmed as *S. aureus* by using phenotypic tests, genotypic tests, and sequencing. These isolates were found to be resistant to Penicillin G only with slight resistance to fusidic acid. In conclusion, sequencing of the ribosomal DNA solely and only using phenotypic tests in the identification of *S. aureus* was not enough for correct identification of the isolates. In order to identify correctly all the genetic and phenotypic markers should be evaluated together.

Compliance with Ethical Standard

Conflict of interests: The authors declare that for this article they have no actual, potential or perceived the conflict of interests.

Financial disclosure: This research was supported by the Research Funds of Izmir Institute of Technology (Projects no 2012-IYTE-10 and 2012-IYTE-12).

Acknowledgements: We acknowledge Izmir Institute of Technology, Biotechnology and Bioengineering Research and Application Center for their assistance during PCR analyses. We also acknowledge Dr. Ömer Akineden (Justus-Liebig-Universität Gießen) for providing toxin positive control strains.

References

- Akineden, Ö., Hassan, A.A., Schneider, E., Usleber, E. (2008). Enterotoxigenic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from goats' milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 211-216.
- Akineden, Ö., Hassan, A.A., Schneider, E., Usleber, E. (2011). A *coagulase*-negative variant of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis milk. *Journal of Dairy Research*, 78, 38-42.
- Alarcón, B., Vicedo, B., Aznar, R. (2006). PCR-based procedures for detection and quantification of *Staphylococcus aureus* and their application in food. *The Society of Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology*, 100, 352-364.
- Alian, F., Rahimi, E., Shakerian, A., Momtaz, H., Riahi, M., Momeni, M. (2012). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine, sheep and goat raw milk. *Global Veterinaria*, 8, 111-114.
- André, C.M.D.P.B., Campos, M.R.H., Borges, L.J., Kipnis, A., Pimenta, F.C., Serafini, A.B. (2008). Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following *SmaI* digestion. *Food Control*, 19, 200-207.
- Aprodu, I., Walcher, G., Schelin, J., Hein, I., Norling, B., Rådström, P., Nicolau, A., Wagner, M. (2011). Advanced sample preparation for the molecular quantification of *Staphylococcus aureus* in artificially and naturally contaminated milk. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 61-65.
- Asfour, H.A.E., Darwish, S. H. (2011). Phenotypic and genotypic detection of both *mecA* and *blaZ* genes mediated β -lactam resistance in *Staphylococcus* strains isolated from bovine mastitis. *Global Veterinaria*, 6, 39-50.
- Brakstad, O.G, Aasbakk, K., Maeland, J.A. (1992). Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 1654-1660.
- Chapaval, L., Moon, D.H., Gomes, J.E., Duarte, F.R., Tsai, S.M. (2008). An alternative method for *Staphylococcus aureus* DNA isolation. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60, 299-306.

- Chambers H.F. (1997). Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4), 781-791.
- CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute). (2006). *Performance Standards for Antimicrobial disc susceptibility testing*, sixth ed. Pennsylvania, USA, p 188.
- Comite de'Antibiogramm de la Societe Francaise de Microbiologie Report (2000–2001). (2001). *MIC and zone diameter interpretive standards and interpretive reading rules for Staphylococcus spp.*, Paris.
- Cremonesi, P., Perez, G., Pisoni, G., Moroni, P., Morandi, S., Luzzana, M., Brasca, M., Castiglioni, B. (2007). Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates in raw milk cheese. *The Society of Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology*, 45, 586–591.
- Ercolini, D., Blaiotta, G., Fusco, V., Coppola, S. (2004). PCR-based detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in the early stages of raw milk cheese making. *Journal of Applied Microbiology*, 96, 1090-1096.
- Ertas, N., Gonulalan, Z., Yildirim, Y., Kum, E. (2010). Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins in sheep cheese and dairy desserts by multiplex PCR technique *International Journal of Food Microbiology*, 142, 74-77.
- Esan, C.O., Famurewa, O., Lin, J., Shittu, A.O. (2009). Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates obtained from health care institutions in Ekiti and Ondo States, South-Western Nigeria. *African Journal of Microbiology Research*, 3, 962-968.
- Forsman, P., Tissala-Timisjärvi, A., Alatossava, T. (1997). Identification of staphylococcal and streptococcal causes of bovine mastitis using 16S–23S rRNA spacer regions. *Microbiology*, 143, 3491-3500.
- Franklin, D., Lowy, M.D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *The New England Journal of Medicine*, 339, 520-532.
- Gandra, E.Á., Silva, J.A., Macedo, M.R.P., Araújo M.R., Mata, M.M., Silva, W.P. (2005). Differentiation between *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius* and *S. hyicus* using phenotypical tests and PCR. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 16, 99-103.
- Gičová, A., Orišková, M., Oslanecová, L., Drahovská, H., Kaclíková, E. (2014). Identification and characterization of *Cronobacter* strains isolated from powdered infant foods. *Letters in Applied Microbiology*, 58, 242-247.
- Gomez, C., Pinal, L., Franco, J., Carrillo, J.M., Ramírez, J. (2007). Identification of *Staphylococcus aureus* strains negative for enterotoxins A, B and C isolated from bovine mastitis in México. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 117, 249-253.
- Güven, K., Mutlu, M.B., Gülbandır, A., Cakır, P. (2010). Occurrence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products consumed in Turkey. *Journal of Food Safety*, 30, 196-212.
- Hein, I., Lehner, A., Rieck, P., Klein, K., Brandl, E., Wagner, M. (2001). Comparison of different approaches to quantify *Staphylococcus aureus* cells by real-time quantitative PCR and application of this technique for examination of cheeses. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 3122-3126.
- Holochová, P., Růžičková, V., Dostálová, L., Pantůček, R., Petráš, P., Doškař, J. (2010). Rapid detection and differentiation of the exfoliative toxin A-producing *Staphylococcus aureus* strains based on ϕ ETA prophage polymorphisms. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 66, 248-252.
- Huong, B.T.M., Mahmud, Z.H., Neogi, S.B., Kassu, A., Nhien, N.V., Mohammad, A., Yamato, M., Ota, F., Dao, N.T.L.H.T.A. and Khan, N.C. (2010). Toxigenicity and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from Vietnamese ready-to-eat foods. *Food Control*, 21, 166-171.
- Kabadjova, P., Dousset, X., Le Cam, V., Prevost, H. (2002). Differentiation of closely related *Carnobacterium* food isolates based on 16S–23S ribosomal DNA intergenic spacer region polymorphism. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 5358-5366.
- Kateete, D.P., Kimani, C.N., Katabazi, F.A., Okeng, A., Okee, M.S., Nanteza, A., Joloba, M.L., Najjuka, F.C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*:

- DNase and mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9, 23-29.
- Kong, C., Neoh H., Nathan S. (2016). Targeting *Staphylococcus aureus* toxins: a potential form of anti-virulence therapy. *Toxins (Basel)*, 8(3), 72.
- Lem, P., Spiegelman, J., Toye, B. and Ramotar K. (2001). Direct detection of *mecA*, *nuc* and 16S rRNA genes in BacT/Alert blood culture bottles. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 41, 165-168.
- Malathi, J., Sowmiya, M., Margarita, S., Madhavan, H.N., Lily Therese, K. (2009). Application of PCR based-RFLP for species identification of ocular isolates of methicillin resistant Staphylococci (MRS). *Indian Journal of Medical Research*, 130, 78-84.
- Mehrotra, M., Wang, G., Johnson, W.M. (2000). Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 1032-1035.
- Miranda, J.M., Mondragón, A., Vázquez, B.I., Fentea, C.A., Cepedaa, A., Francoa, C.M. (2009). Microbiological quality and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from conventional and organic “Arzúa-Ulloa” cheese. *CyTA – Journal of Food*, 7, 103-110.
- Peles, F., Wagner, M., Varga, L., Hein, I., Rieck, P., Gutser, K., Keresztúri, P., Kardos, G., Turcsányi, I., Béri, B., Szabó, A. (2007). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *International Journal of Food Microbiology*, 118, 186-193.
- Phuektes, P., Browning, G.F., Anderson, G., Mansel, P.D. (2003). Multiplex polymerase chain reaction as a mastitis screening test for *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, and *Streptococcus uberis* in bulk milk samples. *Journal of Dairy Research*, 70, 149-155.
- Riyaz-Ul-Hassan, S., Verma, V., Qazi, G.N. (2008). Evaluation of three different molecular markers for the detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction. *Food Microbiology*, 25, 452-459.
- Sperber W.H., Tatini S.R. (1975). Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Applied Microbiology*, 29(4), 502-505.
- Straub, J.A., Hertel, C., Hammes, W.P. (1999). A 23S rRNA targeted polymerase chain reaction-based system for detection of *Staphylococcus aureus* in meat starter cultures and dairy products. *Journal of Food Protection*, 62, 1150–1156.
- Stutz, K., Stephan, R., Tasara, T. (2011). *SpA*, *ClfA*, and *FnbA* Genetic variations lead to staphaurex test-negative phenotypes in bovine mastitis *Staphylococcus aureus* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 49, 638-646.
- Sudagidan, M., Çavuşoğlu, C., Bacakoğlu, F. (2008). Investigation of the virulence genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bio-material surfaces. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 42, 29-39.
- Sudagidan, M., Aydın, A. (2010). Virulence properties of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* food isolates encoding Pantón–Valentine Leukocidin gene. *International Journal of Food Microbiology*, 138, 287-291.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 2731-2739.
- Tiwari, H.K., Sapkota, D., Sen, M.R. (2008). Evaluation of different tests for detection of *Staphylococcus aureus* using coagulase (*coa*) gene PCR as the gold standard. *Nepal Medical College Journal*, 10, 129-131.
- Vandenesch, F., Lebeau, C., Bes, M., Mcdevitt, D., Greenland, T., Novickj, R.P., Etienne, J. (1994). Coagulase deficiency in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* involves both transcriptional and post-transcriptional defects. *Journal of Medical Microbiology*, 40, 344-349.
- Vasconcelos, N.G., Cunha, M.L.R.S. (2010). Staphylococcal enterotoxins: Molecular aspects and detection methods. *Journal of Public Health and Epidemiology*, 2, 29-42.

- Villarreal, M.L.M., Padilha, M., Vieira, A.D.S., Franco, B.D.G.M., Martinez, R.C.R., Saad, S.M.I. (2013). Advantageous direct quantification of viable closely related probiotics in petit-suisse cheeses under in vitro gastrointestinal conditions by propidium monoazide-qPCR. *PloS One*, 8, 1-11.
- Yucel, N. Citak, S., Bayhun, S. (2011). Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples and foods of animal origin. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8, 427-431.













FOOD and HEALTH

Food and Health, 5(3), 160-167 (2019) • <https://doi.org/10.3153/FH19017>

E-ISSN: 2602-2834

Research Article

COMPARISON OF SOME BIOACTIVE COMPONENTS OF EMMER WHEAT [*Triticum dicoccum* (SCHRANK) SCHÜBLER] CULTIVARS FROM TWO DIFFERENT ORIGINS GROWN UNDER THE SAME CONDITIONS

Zhana Petkova¹ , Magdalena Stoyanova² , Stanko Stankov² , Hafize Fidan² ,
Mina Dzhivoderova² , Aspasia Pahopoulou² , Pavel Merdzhanov² , Anna Koleva² ,
Sezai Ercişli³ , Albena Stoyanova² 

Cite this article as:

Petkova, Z., Magdelana, S., Stankov, S., Fidan, H., Dzhivoderova, M., Pahopoulou, A., Merdzhanov, P., Koleva, A., Ercişli, S., Stoyanova, A. (2019). Comparison of some bioactive components of emmer wheat [*Triticum dicoccum* (Schrank) Schübler] cultivars from two different origins grown under the same conditions. *Food and Health*, 5(3), 160-167. <https://doi.org/10.3153/FH19017>

¹ Paisii Hilendarski University of Plovdiv, 24 Tsar Asen St., 4000 Plovdiv, Bulgaria

² University of Food Technologies, 26 Maritza Blvd., 4003 Plovdiv, Bulgaria

³ Ataturk University Agricultural Faculty, Erzurum, Turkey

ORCID IDs of the authors:

Z.P. 0000-0001-7798-9687
M.S. 0000-0003-4973-5991
S.S. 0000-0003-2332-1782
H.F. 0000-0002-3373-5949
M.D. 0000-0003-4990-7247
A.P. 0000-0002-4356-6990
P.M. 0000-0002-8396-7211
A.K. 0000-0002-3579-0079
S.E. 0000-0001-5006-5687
A.S. 0000-0003-0893-4660

Submitted: 20.09.2018

Accepted: 10.12.2018

Published online: 18.02.2019

Correspondence:

Hafize FİDAN

E-mail: hafizefidan@abv.bg

© Copyright 2019 by ScientificWebJournals

Available online at
<http://ifhs.scientificwebjournals.com>

ABSTRACT

The chemical composition (lipids, fatty acids, proteins, amino acids, starch, dietary fiber, sterols and tocopherols) of two Emmer wheat [*Triticum dicoccum* (Schrank) Schübler=*Triticum dicoccon* Schrank] cultivars grown under the same condition in Greece was analyzed. Starch accounted for the highest percentage of the detected substances (67.1-69.4%), followed by proteins (16.1-17.5%) and dietary fiber (ADF 2.1-2.5% and α NDF 5.7-12.0%). The main fatty acids in the lipid fractions (1.36-1.62%) were oleic (35.4-37.0%), palmitic (28.0-31.5%) and linoleic (23.3-28.9%) acids. γ -Tocotrienol (46.1-53.2%), α -tocopherol (28.6-34.4%) and β -tocopherol (15.9-17.8%) predominated in the tocopherol fraction, and β -sitosterol (61.3-67.0%) and campesterol (31.3-37.3%) in the sterol fraction. Arginine (10.8-13.2 g/100 g protein), proline (8.7-13.0 g/100 g protein) and tyrosine (8.3-9.2 g/100 g protein) dominated in the amino acids.

Keywords: Emmer wheat [*Triticum dicoccum* (Schrank) Schübler], Bioactive components, Dietary fiber, Sterols, Fatty acids, Amino acids

Introduction

Cultivated emmer wheat (*Triticum dicoccum* (Schrank) Schübler) from the Poaceae family is one of the oldest crops in the world and is cultivated by organic farmers in many countries in Central Europe (Arzani and Muhamad, 2017; Čurná and Lacko-Bartošova, 2017; Konvalina *et al.*, 2012; Koutis, 2015; Lacko-Bartošova *et al.*, 2015). Emmer is tetraploid wheat (AABB genome, $2n=4x=28$ chromosomes) characterized by specific properties owing to the starch, proteins and fiber contained in it, therefore it plays a role as a functional food ingredient.

Different studies on the chemical composition of emmer have determined the effect of the soil and climatic conditions, crop culture, its varieties and cultivars (Castagna *et al.*, 1996; Fares *et al.*, 2008; Hejtmankova *et al.*, 2010; Serpen *et al.*, 2008; Suchowilska *et al.*, 2012).

According to the study of Čurná and Lacko-Bartošova (2017), emmer wheat has higher levels of protein (13.5-19.05%), starch (55.4-73.3%), dietary fiber (10-12%), lipids (2.4-3.0%) and total tocopherols (19.7-69.85 mg/g). The primary fatty acid is linoleic (60% of the total fatty acids), followed by oleic (19% of the total fatty acids), and palmitic (16% of the total fatty acids).

A study by Konvalina *et al.* (2008) investigated the amino acid composition of six varieties of emmer from different geographical regions in the Czech Republic. The authors established that the emmer grains were characterized by high protein and amino acid content. No significant differences were observed in the lysine, threonine, leucine, tyrosine and phenylalanine content, which are the limiting amino acids among the tested varieties.

Lachman *et al.* (2011) established that the selenium content in emmer grains (58.9-68.4 µg/kg) was related to varieties. Total polyphenols (expressed in gallic acid equivalents) prevailed in emmer varieties (584-692 mg/kg).

Suchowilska *et al.* (2012) analyzed the concentrations of macro- and microelements in the whole emmer grain and observed that the main macroelements were P (5.12 g/kg) and K (4.39 g/kg), and the main microelements were Zn (54 mg/kg), Fe (49 mg/kg), and Mn (24 mg/kg).

Despite the studies carried out, there is different information about the chemical composition of emmer wheat cultivars. Therefore, the specific object of this study was to determine the chemical composition of two Emmer wheat cultivars (*T. dicoccum* (Schrank) Schübler) grown in Greece, as a potential source for the isolation of bioactive compounds due to their prospective utilization in *various* industries.

Materials and Methods

Plant Material

The emmer (*Triticum dicoccum* (Schrank) Schübler) cultivars Nari Nigrocyat (Greek origin) and Farro (Italian origin) were collected from the village of Kukos (North Greece) in October 2017.

The plant species were identified as *Triticum dicoccum* (Schrank) Schübler=*Triticum dicoccon* Schrank by the Botany Department of Paisii Hilendarski University of Plovdiv, Bulgaria.

The grain moisture was determined according to the method of Russian Pharmacopoeia (1990). The biologically active substances were analyzed in the samples, and the values were represented on the basis of absolute dry weight.

Dietary Fiber

Acid Detergent Fiber (ADF) was determined after acid hydrolysis at 100 °C with reflux condenser of the milled grain with 1.00 N H₂SO₄ in the presence of cetyltrimethylammonium bromide for 1 hour (Undersander *et al.*, 1993).

Neutral Detergent Fiber (aNDF) was determined after boiling milled grain in phosphate borate buffer with pH=6.95-7.05 in the presence of disodium EDTA and sodium lauryl sulfate, and after 10 min treatment with thermostable α -amylase (Termamyl®) was applied for 1 hour (Undersander *et al.*, 1993).

Starch

Starch content was subjected to polarimetric evaluation after partial hydrolysis in the presence of 1.124% H₂SO₄ and elimination of proteins with 5% water solution of phosphotungstic acid (BIS 13488, 1974).

Protein Content

Determination of the total protein content was carried out according to the Kjeldahl method described by AOAC (2016). A UDK 152 System (Velp Scientifica, Italy) was used for the analysis.

Amino Acids

For the hydrolysis of the protein to free amino acids was used the method of Nair *et al.* (1976). Subsequently, the chemical score was counted, based on the FAO (1985) pattern (threonine=3.4; valine=3.5; leucine=6.6; isoleucine=2.8; tyrosine + phenylalanine=6.3; lysine=5.8) (FAO/WHO, 1991).

Lipid Fraction Isolation

The grains were processed according to standard methods (ISO 659, 2014).

Fatty acids. The total fatty acid composition of the lipid fraction was determined using gas chromatography (GC) after transmethylation of the respective sample with 2% H₂SO₄ in absolute CH₃OH at 50°C (ISO 12966-2, 2011). The analysis was conducted as it was described in the method of ISO 12966-1 (2014). Determination of fatty acid methyl esters (FAMES) was performed on HP 5890 gas chromatograph equipped with a 75 m x 0.18 mm x 25 µm (film thickness) capillary Supelco column and a flame ionization detector. The column temperature was programmed from 140°C (hold 5 min), at 4°C/min to 240°C (hold 3 min); the injector and detector temperatures were set at 250°C. Identification was performed by comparison of the retention times with those of a standard mixture of FAME subjected to GC under identical experimental conditions.

Sterols. The unsaponifiable matter were determined by weight after saponification of the lipids and extraction with hexane (ISO 18609, 2000). The identification of sterols was carried out by standard method (ISO 12228-2, 2014).

Tocopherols. Tocopherols were determined directly in the lipids by HPLC using a Merck-Hitachi unit equipped with a 250 mm x 4 mm Nucleosil Si 50-5 column and a Merck-Hitachi F 1000 fluorescent detector. The operating conditions were as followed by the standart method (ISO 9936, 2016). The mobile phase was hexane: dioxane, 96:4 (v/v) and the flow rate was 1 mL/min. The oil was diluted with hexane (2% solution) and 20 µL were injected. Tocopherols were identified by comparing the retention times to those of authentic individual tocopherols standards.

Statistical Analysis

The measurements were performed in triplicate for the reliability and comparability of the data. The obtained values are presented as mean value ± standard deviation (SD). The Microsoft Exel 2003 software was used to summarize the data.

Results and Discussion

The chemical characteristics of Emmer wheat cultivars have been shown in Table 1. The obtained results showed that there were differences in the chemical composition of the cultivars, which could be explained by their plant origin. Both cultivars were characterized by higher starch (67.1-

69.4%) and protein (16.1-17.5%) content, and lower lipid (1.4-1.6%) content. The values are barely distinguishable from Lacko – Bartošová and Čurná (2017), who determined chemical composition in four varieties emmer wheat grown under conditions of organic farming system during 2011 and 2012. Although our results differ slightly from those of Giacintucci *et al.* (2014), it could nevertheless be argued that the variability could be explained by the method performed in the analyses, as well as the growing conditions with respect to geographical, soil, and climatic conditions and genetic background of the cultivars (Čurná and Lacko-Bartošova, 2017).

The extracted lipid fraction was observed to be a yellow liquid. The content of their biologically active components is presented in Table 2. The data showed that unsaponifiable matter were found to be 9.8 and 6.8% respectively in the oil from the Farro and Nari Nigrocyat cultivars. The sterol content in the investigated fractions (2.2-2.7%) was higher but still close to that of most plant oils, i.e. corn, sunflower, safflower, in which the respective quantities were 0.4-0.9% (Popov and Ilinov, 1986). The tocopherol quantity was found to be considerably higher than that of other common oils (Nosenko, 2017; CODEX STAN 210-1999). There were observed differences in the total tocopherol content of the oil from the two examined cultivars. Total tocopherols in the oil from Farro cultivar were 2676 mg/kg, while in the oil from Nari Nigrocyat cultivar were almost two times lower (1546 mg/kg).

The fatty acid composition of the lipid fraction is presented in Table 3. The data show that 15 fatty acids were determined in the lipid fraction from the samples, constituting 100% of the total oil content. In the Farro cultivar, the main fatty acids were oleic (37.0%), palmitic (31.5%) and linoleic (23.3%). The saturated:unsaturated fatty acid ratio was 35.9:64.1. The main fatty acids in the lipid fraction from the Nari Nigrocyat cultivar were oleic (35.4%), linoleic (28.9%) and palmitic (28.0%). The saturated:unsaturated fatty acids ratio was 32.1:67.9. The fatty acid composition of the oil from Farro and Nari Nigrocyat cultivars was slightly different. The only differences were observed in the content of palmitic and linoleic acid. The amount of the palmitic acid in the triacylglycerols from Farro cultivar was higher than in the lipids from Nari Nigrocyat, while the quantity of the linoleic acid in the first cultivar was lower. No considerable differences were observed in the content of the other fatty acids.

Table 1. Chemical composition of emmer grains

<i>Composition, %</i>	<i>Farro Cultivar</i>	<i>Nari Nigrocyat Cultivar</i>
Moisture	9.7 ± 0.12	10.1 ± 0.15
Lipids	1.6 ± 0.01	1.4 ± 0.01
Protein	17.5 ± 0.25	16.1 ± 0.21
Starch	67.1 ± 1.20	69.4 ± 1.30
Dietary fiber (ADF [*])	2.1 ± 0.02	2.5 ± 0.02
Dietary fiber (αNDF ^{**})	5.7 ± 0.06	11.9 ± 0.16

* Acid Detergent Fiber; ** Neutral Detergent Fiber

Table 2. Lipid fraction composition

<i>Compounds</i>	<i>Farro Cultivar</i>	<i>Nari Nigrocyat Cultivar</i>
Sterols (%)	2.2 ± 0.02	2.7 ± 0.02
Tocopherols, mg/kg	2676 ± 40.10	1546 ± 20.11
Unsaponifiable matter (%)	9.8 ± 0.09	6.8 ± 0.06

Table 3. Fatty acid composition of the lipid fraction

<i>Fatty acids, % (w/w)</i>	<i>Farro Cultivar</i>	<i>Nari Nigrocyat Cultivar</i>
C _{12:0} Lauric	0.2 ± 0.00	0.1 ± 0.00
C _{14:0} Myristic	0.4 ± 0.00	0.3 ± 0.00
C _{15:0} Pentadecanoic	0.3 ± 0.00	0.2 ± 0.00
C _{16:0} Palmitic	31.5 ± 0.28	28.0 ± 0.26
C _{16:1} Palmitoleic	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.00
C _{17:0} Margaric	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.00
C _{18:0} Stearic	2.2 ± 0.02	2.5 ± 0.02
C _{18:1} Oleic	37.0 ± 0.31	35.4 ± 0.30
C _{18:2} Linoleic (cis)	23.3 ± 0.20	28.9 ± 0.27
C _{18:2} Linoleic (trans)	0.8 ± 0.00	0.8 ± 0.00
C _{18:3} α-Linolenic	1.2 ± 0.01	1.1 ± 0.02
C _{20:0} Arachidic	0.4 ± 0.00	0.3 ± 0.00
C _{20:1} Gadoleic	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.00
C _{20:2} Eicosadienoic (cis)	1.4 ± 0.01	1.3 ± 0.01
C _{22:0} Behenic	0.7 ± 0.00	0.5 ± 0.00
Saturated fatty acids	35.9	32.1
Unsaturated fatty acids	64.1	67.9

The obtained results about the fatty acid composition are not in agreement with the data found in the literature (Čurná and Lacko-Bartošova, 2017).

The Emmer wheat lipid fraction was found to contain very high amounts of the saturated palmitic acid (28.0-31.5%), which was close to the levels in other oils (O'Brien *et al.*, 2004).

Tocopherols are a class of organic chemical compounds, many of which have vitamin E activity, where the main dietary sources are olive and sunflower oils, soybean and corn oil (Popov and Ilinov, 1986). The tocopherol composition of the lipid fraction has been presented in Table 4. The quantity of tocopherols in the examined oils was found to be considerably higher than that of other common oils (CODEX STAN 210-1999). γ-Tocotrienol (46.1-53.2%) and α-tocopherol (28.6-34.4%) predominated in the tocopherol fraction, followed by β-tocopherol (15.9-17.8%). Our results are

compatible to those reported by Konopka *et al.* (2012). Some of the genotypes were more sensitive to the effects of weather conditions in the growing cultivation year, whereas others were relatively stable. It is reported that temperature and moisture influenced the α -tocopherol content (Konopka *et al.*, 2012).

Sterols were present in the so-called non-saponificated part of the lipid fraction. The individual sterol composition of the lipid fraction has been presented in Table 5. β -Sitosterol (61.3-67.0%) and campesterol (31.3-37.3%) predominated in the sterol fraction. No significant differences were observed in the sterol composition of the lipids from the examined cultivars. The data demonstrated that regarding its sterol content and composition, emmer oil was similar to the findings for other seed oil (CODEX STAN 210-1999).

The amino acid composition of the protein fraction has been presented in Table 6. Leucine was the first limiting amino acid (the chemical score varied from 0.1 to 0.2) and lysine was the second limiting amino acid (the chemical score was 0.3 and 0.7). It was followed by valine (the chemical score was 1.1 and 1.6), tyrosine and phenylalanine (the chemical score was 1.6 and 1.7), threonine (the chemical score was 1.6 and 2.0), and isoleucine (the chemical score was 1.7 and 2.5). Obtained results were comparable to those reported in literature. Konvalina *et al.* (2008) reported no considerable differences in the content of the limiting amino acid lysine between the tested varieties (the chemical score varied from 0.37 to 0.44); the second limiting amino acid threonine (the chemical score varied from 0.66 to 0.73), leucine (the chemical score varied from 0.80 to 0.84), tyrosine and phenylalanine (the chemical score varied from 0.92 to 0.96).

Table 4. Tocopherol composition of the lipid fraction

Tocopherols % (w/w)	Farro Cultivar	Nari Nigrocya Cultivar
α -Tocopherol	28.6 \pm 0.25	34.4 \pm 0.31
β -Tocopherol	15.9 \pm 0.14	17.8 \pm 0.16
γ -Tocopherol	2.3 \pm 0.03	1.7 \pm 0.02
γ -Tocotrienol	53.2 \pm 0.30	46.1 \pm 0.22

Table 5. Sterol composition of the lipid fraction

Sterols % (w/w)	Farro Cultivar	Nari Nigrocya Cultivar
Cholesterol	0.4 \pm 0.00	0.3 \pm 0.00
Campesterol	37.3 \pm 0.35	31.3 \pm 0.30
Stigmasterol	0.4 \pm 0.00	0.5 \pm 0.00
β -Sitosterol	61.3 \pm 0.59	67.0 \pm 0.62
Δ^5 -Avenasterol	0.4 \pm 0.00	0.9 \pm 0.00
Δ^7 -Stigmasterol	0.2 \pm 0.00	-*

- * Not identified

The comparative analysis of both varieties shows that they are with close content of biologically active substances. Differences are found in the values of dietary fiber (α NDF), which is higher for Nari Nigrocya cultivar (11.9%) and tocopherols for Farro cultivar (2676 mg/kg). These differences can be explained in part by the variety features, although the plants are grown in the same region.

Conclusions

Consumers' concerns about the food quality, the nutritional value, methods of food production and the conditions under which food are grown have increased. We have presented the parameters such as fatty acids, proteins, amino acids, starch, dietary fiber, sterols and tocopherols which were determined in order to learn the nutritional value of the studied two Emmer wheat cultivars grown in Greece. According to the analyses conducted, the lipid extract contained unsaponifiable substances, sterols, and tocopherols. Fifteen fatty acids were identified, and the main ones were oleic (35.4-37.0%), palmitic (28.0-31.5%) and linoleic acid (23.3-28.9%). γ -Tocotrienol (46.1-53.2%), α -tocopherol (28.6-34.4%) and β -tocopherol (15.9-17.8%) predominated in the tocopherol fraction, and β -sitosterol (61.3-67.0%) and campesterol (31.3-37.3%) in the sterol fraction. Arginine (10.8-13.2 g/100 g protein), proline (8.7-13.0 g/100 g protein) and tyrosine (8.3-9.2 g/100 g protein), predominated in amino acids. The results show that cultivars are with close content of biologically active substances. Differences are found in the values of dietary fiber (α NDF), which is higher for Nari Nigrocya cultivar (11.9%) and tocopherols for Farro cultivar (2676 mg/kg). After suitable chemical treatment, Emmer wheat cultivars (*Triticum dicoccum* (Schrank) Schübler) grown in Greece could be used as an alternative source of starch and other biologically active substances such as proteins and fiber. Based on the results, the two Emmer wheat cultivars could be established as a potential source for the isolation of bioactive compounds with possibilities for application in food, cosmetics, pharmaceutical and other products, and their studying is a potential subject for future research.

Table 6. Amino acid composition of the protein fraction

Amino acids	<i>Farro Cultivar</i>		<i>Nari Nigrocyat Cultivar</i>	
	Content, g/100 g protein	Chemical score	Content, g/100 g protein	Chemical score
Asp	1.9 ± 0.01	-	0.3 ± 0.00	-
Ser	0.8 ± 0.00	-	2.9 ± 0.01	-
Glu	0.8 ± 0.02	-	1.5 ± 0.01	-
Gly	2.3 ± 0.01	-	6.7 ± 0.02	-
His	0.7 ± 0.00	-	0.6 ± 0.00	-
Arg	10.8 ± 0.20	-	13.2 ± 0.10	-
Thr	5.5 ± 0.04	1.6 ± 0.00	6.7 ± 0.01	2.0 ± 0.00
Ala	4.0 ± 0.02	-	7.3 ± 0.02	-
Pro	8.7 ± 0.07	-	13.0 ± 0.13	-
Cys	3.3 ± 0.00	-	3.3 ± 0.01	-
Tyr	8.3 ± 0.07	-	9.2 ± 0.12	-
Val	3.7 ± 0.02	1.1 ± 0.00	5.7 ± 0.00	1.6 ± 0.00
Met	0.8 ± 0.01	-	1.5 ± 0.00	-
Lys	1.8 ± 0.00	0.3 ± 0.01	4.2 ± 0.01	0.7 ± 0.00
Ile	4.8 ± 0.02	1.7 ± 0.00	7.0 ± 0.02	2.5 ± 0.01
Leu	0.8 ± 0.01	0.1 ± 0.00	1.3 ± 0.00	0.2 ± 0.00
Phe	1.5 ± 0.00	1.6* ± 0.01	1.5 ± 0.01	1.7* ± 0.01

* tyrosine + phenylalanine

Compliance with Ethical Standard

Conflict of interests: The authors declare that for this article they have no actual, potential or perceived the conflict of interests.

References

- AOAC. (2016). Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, 15th edn./20th edn., Arlington, VA. 1990/2016. Method 976.06.
- Arzani, A., Muhamad, A. (2017). Cultivated ancient wheats (*Triticum* spp.) and a Potential source of health-beneficial food products. *Food Science and Food Safety*, 16, 477-488.
- BIS (Bulgarian Institute for Standardization) 13488. (1974). Grain. Methods for determination of starch content.
- Castagna, R., Minoia, C., Porfiri, O., Rocchetti, G. (1996). Nitrogen level and seeding rate effects on the performance of hulled wheats (*Triticum monococcum* L., *Triticum dicoccum* Schubler and *Triticum spelta* L.) evaluated in contrasting agronomic environments. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 176, 173-181.
- CODEX STAN 210 (2001). Codex Standard For Named Vegetable Oils (CX-STAN 210 – 1999). Codex Alimentarius, 8, 11-25.
- Čurná, V., Lacko-Bartošova, M. (2017). Chemical composition and nutritional value of emmer wheat (*Triticum dicoccum* Schrank): A review. *Journal of Central European Agriculture*, 18, 117-134.
- FAO/WHO. (1991). Protein quality evaluation in human diets. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition paper 51. Food and Agriculture Organization Rome.
- Fares, C., Codianni, P., Nigro, F., Platani, C., Scazzina, F., Pellegrini, N. (2008). Processing and cooling effects on chemical and functional properties of pasta obtained from selected emmer genotypes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2435-2444.
- Giacintucci, V., Guardoño, L., Puig, A., Hernando, I., Sacchetti, G., Pittia, P. (2014). Composition, protein contents, and microstructural characterisation of grains and flours of Emmer wheats (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccum*) of the Central Italy type. *Czech Journal of Food Sciences*, 32, 115-121.

- Hejtmankova, K., Lachman, J., Hejtmankova, A., Pivec, V., Janovska, D. (2010). Tocols of selected spring wheat (*Triticum aestivum* L.), einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.) and wild emmer (*Triticum dicoccon* Schuebl [Schrank]) varieties. *Food Chemistry*, 123, 1267-1274.
- ISO 18609. (2000). Animal and vegetable fat and oils. Determination of unsaponifiable matter. Method using hexane extraction. International Organization for Standardization.
- ISO 12966-2. (2011). Animal and vegetable fats and oils. Gas chromatography of fatty acid methyl esters. Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids. International Organization for Standardization.
- ISO 659. (2014). Oilseeds. Determination of oil content (Reference method). International Organization for Standardization.
- ISO 12966-1. (2014). Animal and vegetable fats and oils. Gas chromatography of fatty acid methyl esters. Part 1: Guidelines on modern gas chromatography of fatty acid methyl esters. International Organization for Standardization.
- ISO 12228-1. (2014). Part 1: Animal and vegetable fats and oils. Determination of individual and total sterols contents. Gas chromatographic method. International Organization for Standardization.
- ISO 9936. (2016). Animal and vegetable fats and oils. Determination of tocopherol and tocotrienol contents by high-performance liquid chromatography. International Organization for Standardization.
- Konopka, I., Tańska, M., Faron, A., Sępień, A., Wojtkowiak, K. (2012). Comparison of the phenolic compounds, carotenoids and tocopherols content in wheat grain under organic and mineral fertilization regimes, *Molecules*, 17, 12341-12356.
- Konvalina, P., Jr. Moudrý, J., Stehno, Z., Moudrý, J. (2008). Amino acid composition of emmer landraces grain. *Lucrări Științifice*, 51, 241-249.
- Konvalina, P., Capauchova, I., Stehno, Z., Moudry, J. (2012). Differences in yield parameters of emmer in comparison with old and new varieties of bread wheat. *African Journal of Agricultural Research*, 7, 986-992.
- Koutis, K. (2015). Selection and evaluation of emmer, einkorn and spelta germplasm in Greece for organic farming adaptability and bakery-nutritional quality. *Acta Fytotechnn. Zootechn*, 18, 81-82.
- Lachman, J., Miholova, D., Pivec, V., Jiri, K., Janovska, D. (2011). Content of phenolic antioxidants and selenium in grain of einkorn (*Triticum monococcum*), emmer (*Triticum dicoccon*) and spring wheat (*Triticum aestivum*) varieties. *Plant, Soil and Environment*, 57, 235-243.
- Lacko-Bartošova, M., Čurná, V., Lacko-Bartošova, L. (2015). Emmer-ancient wheat suitable for ecological farming. *Research Journal of Agricultural Science*, 47, 3-10.
- Lacko - Bartošová, M., Čurná, V. (2015). Nutritional characteristics of emmer wheat varieties. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Science*, 4, 95-98.
- Nair, B.M., Oste, R., Asp, NG., Dahlgvist, A. (1976). Enzymatic hydrolysis of food protein for amino acid analysis. I. Solubilization of the protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 24, 386-389.
- Nosenko, T. (2017). Comparison of biological value and technological properties of oil seed proteins. *Ukrainian Food Journal*, 6, 226-238.
- O'Brien, R., Farr, W., Wan, P. (2004). Introduction to fats and oils technology (2nd Edition). AOCS Press Champaign IL. ISBN 978-1893997134
- Popov, A., Ilinov, P. (1986). Chemistry of lipids. "Nauka i Izkustvo", Sofia, Bulgaria.
- Russian Pharmacopoeia (1990). (11th Edition). Moscow, Russia.
- Serpen, A., Gökmen, V., Karagöz, A., Köksel, H. (2008). Phytochemical quantification and total antioxidant capacities of emmer (*Triticum dicoccon* Schrank) and einkorn (*Triticum monococcum* L.) wheat landraces. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 7285-7292.

Suchowilska, E., Wiwart, M., Kandler, W., Krska, R. (2012). A comparison of macro- and microelement concentrations in the whole grain of four *Triticum* species. *Plant, Soil and Environment*, 58, 141-147.

Undersander, D., Mertens, D., Thiex, N. (1993). Forage analyses procedures. Omaha USA National Forage Testing Association P.O. Box 371115 Omaha, NE 68137 (402) 333-7485.



FOOD and HEALTH

Food and Health, 5(3), 168-174 (2019) • <https://doi.org/10.3153/FH19018>

E-ISSN: 2602-2834

Research Article

MISIR UNU VE KEFİR KULLANILARAK ÜRETİLEN TARHANALARIN BAZI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ayşe Avcı , Fikriye Alev Akçay , Ceylan Can , Selin Demir 

Cite this article as:

Avcı, A., Akçay, F.A., Can, C., Demir, S. (2019). Mısır unu ve kefir kullanılarak üretilen tarhanaların bazı özelliklerinin belirlenmesi. *Food and Health*, 5(3), 168-174. <https://doi.org/10.3153/FH19018>

Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 54187, Sakarya, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

A.A. 0000-0001-7202-397X
F.A.A. 0000-0001-6623-1926
C.C. 0000-0003-4531-41885
S.D. 0000-0002-2666-41262

Submitted: 08.06.2018

Accepted: 06.02.2019

Published online: 23.03.2019

Correspondence:

Ayşe AVCI

E-mail: aysea@sakarya.edu.tr

© Copyright 2019 by ScientificWebJournals

Available online at
<http://jfh.sscientificwebjournals.com>

ÖZ

Yaygın olarak çorba şeklinde tüketilen tarhana Türk kültürüne özgü fermente bir gıdadır. Tarhana temel olarak buğday unu, su, tuz, yoğurt ve ekmeğin mayası ile üretilmektedir; soğan, domates ve baharat gibi bileşenlerin ilavesiyle fonksiyonel özellikleri ve aroması zenginleştirilmektedir. Bu çalışmada, çölyak rahatsızlığı olan kişilerin tüketimine alternatif olabilmesi amacıyla mısır unu ile tarhana üretimi gerçekleştirilmiş, eşit miktarda yoğurt ve kefir ilavesi ile 2 farklı çeşit hazırlanmıştır. Kontrol örneği için buğday unu+kefir ve buğday unu+yoğurt formülasyonu kullanılmıştır. Tarhanaların fermantasyonu üç farklı sürede (24, 48, 72 saat) gerçekleştirilmiş; elde edilen tarhanaların fizikokimyasal ve duyu özellikleri incelenmiştir. Analiz sonuçlarına göre mısır unu ve yoğurt/kefir kullanılarak üretilen tarhanaların nem, su aktivitesi, pH, toplam asitlik değerleri sırasıyla % 7-11; 0.39-0.53; 5.32-5.88 ve 8.43-14.33 arasındadır. Mısır unu ve yoğurt/kefir kullanılarak üretilen tarhanaların antioksidan aktiviteleri buğday unundan üretilenlere kıyasla oldukça yüksek olup DPPH giderimi % 83.30-87.43; toplam fenolik bileşik 422-457.4 mg GAE/100g'dır. Fermantasyon süresinin ve yoğurt yerine kefir kullanımının tarhanaların antioksidan özellikleri ve duyu beğenisi üzerinde anlamlı bir fark yaratmadığı belirlenmiştir. Duyusal olarak tüm örnekler birbirine yakın ve ortalamasının üzerinde olarak değerlendirilmiş, en beğenilen çeşit mısır unu-yoğurt bileşimine sahip ve 72 saat fermente edilerek üretilmiş tarhana olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Tarhana, Mısır unu, Kefir, Toplam fenolik madde, Antioksidan

ABSTRACT

DETERMINATION OF SOME PROPERTIES OF TARHANAS PRODUCED BY USING CORN FLOUR AND KEFIR

Tarhana, commonly consumed as soup, is a fermented food unique to Turkish culture. It is mainly produced using wheat flour, water, salt, yoghurt and baker's yeast and its flavor and functional properties are fortified by the addition of onion, tomato, and some spices. In the current study, tarhana from corn flour was produced in order to be an alternative to the consumption of celiac disease patients, and two different tarhanas were prepared with the addition of yoghurt and kefir in equal amounts. For the control sample, wheat flour + kefir and wheat flour + yogurt formulations were prepared. The fermentations of tarhanas were carried out in three different times (24, 48, 72 hours); the physicochemical and sensory properties of the tarhanas have been examined. According to the results, the moisture content, water activity, pH and total acidity of the tarhana samples obtained by using corn flour and yoghurt / kefir were 7-11%, 0.39-0.53, 5.32-5.88, and 8.43-14.33, respectively. The antioxidant activity determined as DPPH scavenging, was significantly higher than wheat flour and it was found between 83.30 and 87.43%. Total phenolic compounds were between 422 and 457 mg GAE/100 g. It was determined that fermentation time and use of kefir instead of yoghurt did not make a significant difference on antioxidant properties and sensory properties of tarhanas. All the samples were sensorially close to each other, the most favored tarhana was the one produced using corn flour-yogurt fermented for 72 hours.

Keywords: Tarhana, Corn flour, Kefir, Total phenolic compounds, Antioxidant

Giriş

Türk mutfağının geleneksel fermente ürünlerinden biri olan tarhana, genel olarak ½ veya 1 ölçü yoğurt ile 1 ölçü buğday ununun karıştırılmasıyla hazırlanan hamurun 1-7 gün süresince fermente edilmesiyle üretilmektedir. Hamurun hazırlanması sırasında karışıma ekme mayası da ilave edilmektedir. Elde edilen son ürün açık havada kurutulduktan sonra protein ve vitamince zengin yüksek besin içeriği ile çorba olarak tüketilmektedir. Aromanın zenginleştirilmesi amacıyla tuz, kırmızıbiber, domates ve soğan gibi bileşenler de eklenmektedir (İbanoglu ve ark.,1995). Türk Standartları Enstitüsü tarhanayı “buğday unu, kırması, irmik veya bunların karışımı ile yoğurt, biber, tuz, soğan, domates, tat ve koku verici, sağlığa zararsız bitkisel maddelerin karıştırılıp yoğrulduktan ve fermente edildikten sonra kurutulması, öğütülmesi ve elenmesiyle elde edilen bir gıda maddesi” olarak tanımlamaktadır (Anonim, 2004). Bölge ve yörelere göre farklı şekillerde üretimi bulunan tarhana ülkemizde Uşak ve Maraş çeşitleri için coğrafi tescil sahibidir (Çekal and Aslan, 2017). Tarhana üretiminde fermantasyon, mayalar ve laktik asit bakterileri (LAB) tarafından gerçekleştirilmektedir. LAB'nin oluşturduğu metabolitler tarhanaya özgü tat ve aromanın oluşumuna katkı sağlamakta, aynı zamanda ortamın asitliğini yükselterek ürünün dayanımını arttırmaktadır (Şimşek ve ark., 2017).

Tahıllar çözünebilir diyet lif içerikleri ile probiyotik laktik asit bakterileri ve bifidobakteriler için prebiyotik özellik gösteren fonksiyonel gıdalardır (Şimşekli and Doğan, 2015). Tahıl ürünleri ayrıca fenolik bileşiklerce de zengindir. Flavonoid, tanin ve izoflavonoid tahıllarda bulunan ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinen bazı fenolik bileşiklerdendir (Ertaş, 2018). Tahıl ürünlerinin diyetle alınmasına bağlı olarak kişilerde bazı rahatsızlıklar görülebilmektedir. Bu rahatsızlıklar içinde en yaygın görüleni çölyaktır (Ribotta ve ark., 2004; Demir ve ark., 2017). Çölyak, diğer adıyla gluten hassasiyeti, otoimmün bir hastalık olup ince bağırsak üzerinde etkilidir. Çölyak hastalığı tahıllarda bulunan ve spesifik bir aminoasit dizilimi içeren bir çeşit protein olan glutene hassasiyet gösteren kişilerde görülmektedir. Buğday, çavdar, arpa, yulaf ve bu tahılların çaprazlanması ile elde edilen hibritlerinde bulunan gluten, glutenin ve gliadin adı verilen iki farklı peptitten oluşmaktadır. Glutenin ve gliadin, oluşturdukları protein ağ yapısı ile gıdalara elastikiyet ve uzama kabiliyeti kazandırmanın yanı sıra tekstür ve lezzeti iyileştirmektedir. Bu peptidlerin sahip olduğu yüksek miktardaki prolin ve glutamin içeriği peptitlerin mide asidi ve pankreas enzimleri tarafından parçalanmasını

güçleştirmektedir. Peptitlerin bağırsak mukozasına uzun süreli temasının çölyak hastalığı olan bireylerde bağırsak hasarına neden olduğu bildirilmektedir. Buğday, çavdar, arpa, yulaf ve bu tahılların içerdiği prolamin, gliadin, hordein, sekalin ve avenin çölyak rahatsızlığını tetiklerken pirinç ve mısır çölyak üzerinde etkili değildir (Yalçın ve ark., 2008; Pearlman and Casey, 2018).

Bu çalışmanın amacı, mısır unu ve yoğurt/kefir ile glutensiz tarhana üretimi gerçekleştirerek bileşenlerin ve fermantasyon süresinin tarhanaların bazı fizikokimyasal, duyuşal ve antioksidan özellikleri üzerindeki etkisini belirlemektir.

Materyal ve Metot

Materyal

Çalışmada kullanılan mısır unu yerel halk pazarından temin edilmiştir. Buğday unu, ekme mayası, kefir ve yoğurt ise yerel marketlerden temin edilmiştir.

Tarhana Örneklerinin Hazırlanması

Tarhanalar laboratuvar koşullarında üretilmiş olup ekme mayası, sofralık tuz, su ve mısır unu ile hazırlanmıştır. Tüm bileşenler aynı tutularak yoğurt ve kefir ilavesi ile farklı çeşitte tarhanalar hazırlanmış, kontrol örneğinde mısır unu yerine buğday unu kullanılmıştır. Tarhanalar hazırlanışında kullanılan temel bileşenlere göre BK (buğday unu-kefir), BY (buğday unu-yoğurt), MK (mısır unu-kefir) ve MY (mısır unu-yoğurt) şeklinde kodlanmıştır. Hazırlanan dört farklı tarhana çeşidine ait formülasyonlar Tablo 1’de verilmiştir. Bileşenler mikser yardımıyla (KitchenAid Classic, ABD) homojen bir tekstür elde edilene kadar en yüksek hızda karıştırılmış ve elde edilen hamur streç film ile kapatılarak oda koşullarında fermantasyona bırakılmıştır. Yirmi dört, 48 ve 72. saatlerde alınan örnekler önce oda koşullarında ardından 40°C’deki fermantasyon kabininde (Şimşek Labor teknik, Türkiye) 24 saat kurutulmuştur. Kurutulan hamur blender yardımıyla (Waring, ABD) ince toz haline gelene kadar öğütülmüştür.

Nem ve Su Aktivitesi Tayini

Kurutulup öğütülen tarhana örneklerinin nem miktarı tayini TS 3190’a göre yapılmıştır (Anonim, 2010). Örneklerin su aktivitesi (a_w) su aktivitesi tayin cihazı (Aqualab Series 3TE, ABD) ile soğutulmuş ayna çiy noktası prensibine göre ölçülmüştür (Certel and Ertugay, 1996).

Tablo 1. Tarhana çeşit ve formülasyonları

Örnek	Bileşenler						
	Mısır unu (g)	Buğday unu (g)	Yoğurt (g)	Kefir (g)	Maya (g)	Tuz (g)	Su (mL)
BK	-	500	-	360	5	3	40
BY	-	500	360	-	5	3	40
MK	500	-	-	360	5	3	40
MY	500	-	360	-	5	3	40

Toplam Asitlik ve pH Tayini

Toplam asitlik değeri TSE Tarhana Standardına göre belirlenmiştir (Anonim, 2004). Tarhana örneğinin (10 g) üzerine 50 mL %67'lik nötrleştirilmiş etanol (Merck, Almanya) ilave edilmiş ve 5 dakika kuvvetlice çalkalanmıştır. Kaba filtre kağıdıyla süzme işleminin ardından süzüntüden 10 mL alınarak fenolfitaleyn (Merck, Almanya) indikatörlüğünde 0.1 N NaOH (Sigma-Aldrich, Almanya) çözeltisi ile titrasyon yapılmıştır. Titrasyonda harcanan NaOH miktarı 2 ile bölünerek örneklere ait asitlik derecesi hesaplanmıştır.

Tarhana örneklerinin pH değerleri pH-metre (Mettler Toledo pH-metre (İsviçre)) yardımı ile belirlenmiştir. Bu amaçla 5 g örnek tartılarak 20°C'de 45 mL distile su içinde homojenize edilmiş ve aynı sıcaklıktaki pH değerleri ölçülmüştür.

Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). Bunun için, 1 g tarhananın 5 mL aseton içerisinde el homojenizatörü (Wiggen Hauser D-130, Almanya) ile homojenize edilmesinin ardından elde edilen karışımdan 0.1 mL alınmış ve üzerine 0.2 mL Folin-Ciocalteu reaktifi (Merck, Almanya) ve 2 mL distile su ilave edilmiştir. Elde edilen karışıma 3 dakika sonra %20'lik Na₂CO₃ çözeltisinden (Sigma-Aldrich, Almanya) 1 mL ilave edilmiş ve oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 1 saat bekletilmiştir. Süre sonunda UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu UVmini-1240, Japonya) ile örneklere ait absorbans değerleri 765 nm dalga boyunda ölçülmüştür. 0-1200 ppm Gallik asitin 765 nm'de absorbans değerleri ölçülerek Gallik asit standart eğri denklemi elde edilmiş ve tarhana örneklerine ait absorbans değerleri standart eğri denklemi ve aşağıda belirtilen formül yardımıyla gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirlenmiştir.

$$GAE (mg \text{ gallik asit} / g \text{ örnek}) = c * V / m \quad (1)$$

c: Grafikten okunan değer

m: Analiz edilen ekstraktın içerdiği örnek miktarı (g)

V: Analizde kullanılan ekstrakt miktarı (mL)

DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesinin Tayini

DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) serbest radikali giderim aktivitesi Brand-Williams and Berset (1995) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Tarhananın aseton (Merck, Almanya) ile 200 mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan çözeltisinden 200 µL alınarak üzerine 3 mL DPPH (Sigma-Aldrich, Almanya) çözeltisi (5 mg/100 mL) eklenmiştir. Karışım vorteks (IKA MS 3 basic, ABD) ile 30 saniye karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığındaki karanlık ortamda 30 dakika bekletilmiştir. Kontrol örneği için 200 µL tarhana çözeltisi yerine aynı hacimde aseton (%70) kullanılmıştır. Süre sonunda örneklere ait absorbans değerleri UV-VIS spektrofotometre ile 517 nm dalga boyunda ölçülerek DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\% \text{ giderim} = [A_K - A_0] / A_K \times 100 \quad (2)$$

A_K: Kontrol örneğinin absorbansı

A₀: Tarhana örneğinin absorbansı

Duyusal Analizler

Farklı formülasyonlar ile 24, 48 ve 72 saat fermente edilerek üretilen tarhanaların organoleptik özellikleri duyu analizi ile belirlenmiştir. Bu amaçla tarhanalar (%5, ağırlık) su ilavesi ile 5 dakika süresince kaynatılarak pişirilmiştir. 70-75°C'ye soğutulduktan sonra beyaz renkli tadım kaplarına alınan örnekler 12 kişilik panelist grubu tarafından renk ve görünüş, tat, koku, kıvam, genel kabul edilebilirlik ve tüm izlenim kriterleri için 1'den (kabul edilemez) 9'a (mükemmel) kadar olan 9 noktalı hedonik skala kullanılarak değerlendirilmiştir (Erbaş ve ark., 2005).

İstatistiksel Analizler

Tarhana örneklerine ait analiz sonuçları ortalama değerler olarak verilmiştir. Sonuçların değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics (Versiyon 20.0) istatistik paket programı kullanılmıştır. Un çeşidi, kültür ortamı türü ve fermantasyon süresinin tarhanaların fizikokimyasal ve duyu özellikleri üzerine etkisi iki yönlü varyans analizi uygulanarak belirlenmiştir. Ortalamalar arasındaki fark Tukey'in Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak p<0.05 düzeyi için belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Mısır unu-yoğurt, mısır unu-kefir, buğday unu-yoğurt ve buğday unu-kefir kullanılarak oluşturulan tarhana hamurlarının 24, 48 ve 72 saat fermente edilip kurutulması sonucu elde edilen tarhana örneklerinin nem, su aktivitesi, pH ve asitlik değerleri Tablo 2’de verilmiştir. Tarhana örneklerinin nem içeriklerinin %7.14 ile %11.12 arasında değişmekte olduğu, en yüksek nem içeriğine sahip tarhananın ise mısır unu-yoğurt karışımı ile üretilen tarhana olduğu (%11.12) belirlenmiştir. Nem içerikleri genel olarak TSE’nin tarhana için belirlediği üst limit olan %10 nem oranının altında olmakla birlikte 12 örneğin 4’ü için nem içeriği bu değer biraz üzerinde bulunmuştur (Anonim, 2004). Oluşan farklılıkların kurutma sırasında hamurun kalınlığının etkisi ile yakından ilgili olduğu düşünülmektedir. Yapılan analizler sonucunda tarhanaların nem içerikleri üzerinde kullanılan un çeşidinin etkili olmadığı; fermantasyon süresi ve seçilen kültür ortamının ise etkili olduğu görülmüştür. Yoğurt içeren örneklerin nem içeriği genel olarak daha düşük olmakla birlikte yoğurt yerine kefir kullanımının nem içeriğine olan etkisi istatistik olarak önemli değildir ($p<0.05$). Su aktivitesi bulguları incelendiğinde, tüm örnekler için a_w değerlerinin 0.39 ile 0.53 arasında değişmekte olduğu belirlenmiş olup kullanılan un çeşidinin a_w üzerinde bir etkisi gözlenmemiştir. Fermantasyon süresinin a_w üzerinde etkisinin olduğu belirlenmiş ve a_w süreye bağlı olarak azalarak 72 saatlik fermentasyonlarda en düşük değerler elde edilmiştir. Seçilen kültür ortamının da a_w üzerinde etkili olduğu belirlenmiş olup yoğurt yerine kefir kullanımı a_w değerlerini anlamlı düzeyde düşürmüştür ($p<0.05$). Gıdalarda mikroorganizma gelişimi için alt sınır olan 0.50-0.60 a_w aralığının üzerinde örnek bulunmadığı için üretilen tarhanaların tümü mikrobiyal açıdan güvenlidir (Ayhan, 2000).

Farklı fermantasyon sürelerinde elde edilen buğday unu-yoğurt tarhanalarının pH değerleri 4.67-4.71; buğday unu-kefir tarhanalarının ise 4.83-4.94 olarak ölçülmüştür. Tarhanaların pH değerlerinde kullanılan un çeşidi ve kültür ortamı önemli düzeyde etkili olup mısır unu ve kefir kullanımı ayrı ayrı ve birlikte olarak tarhanaların pH değerlerini anlamlı düzeyde yükseltmiştir ($p<0.05$). Mısır unu-yoğurt formülasyonu ile üretilen tarhanalar 5.32-5.49; mısır unu-kefir ile üretilenler ise 5.71-5.85 pH değerlerine sahiptir. Fermantasyon süresi de pH değerleri üzerinde etkili olmuştur. Kırk sekizinci saate kadar artan pH değerleri 48. saatten sonra düşüş göstermiş; ancak 48 ve 72 saat fermente edilen örnekler ait pH değerleri arasındaki fark önemli bulunmamıştır ($p<0.05$). İbanoğlu ve arkadaşları (1995) yaptıkları çalışmada fermantasyon süresinin bazı tarhana formülasyonlarına etkisini belirlemişler ve buğday unu ile üretilen standart tarhanada 24. saatten sonra pH’da önemli bir değişikliğin olmadığını bildirmişlerdir. Erkan ve arkadaşları (2006) buğday ve arpa unu kullanarak 5 günlük fermantasyon sonunda ürettikleri tarhanaların pH değerlerini sırası ile 4.59 ve 4.69 olarak belirlemişlerdir. Tarhanalarda nem içeriği ve su aktivitesinin yanında pH’nın düşük olması da patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmaların gelişimine engel olduğu için önem arz etmektedir (Değirmencioğlu ve ark., 2016).

Toplam asitlik mısır unundan üretilen tarhanalarda buğday unu ile üretilenlere kıyasla daha yüksek olup 8.43-14.33 aralığındadır. Mısır unu ve kefir kullanımı toplam asitliği ayrı ayrı ve birlikte olarak anlamlı düzeyde arttırmıştır ($p<0.05$). Erinç ve Çiftçi (2018) tarafından yapılan bir çalışmada ise bu çalışmanın aksine tarhana üretiminde (buğday unundan) yoğurt yerine kefir kullanımının pH ve nem üzerinde etkili olmadığı ancak toplam asitliği önemli oranda azalttığı (yoğurtlu %11.23; kefirli %7.63) bildirilmiştir.

Tablo 2. Tarhanalara ait bazı fizikokimyasal özellikler

Örnek	Nem (%)	a_w	pH	Toplam asitlik
BK-24	9.44 ^{ab} ±0.11	0.49 ^c ±0.00	4.83 ^c ±0.01	7.28 ^a ±0.21
BK-48	10.27 ^{ab} ±0.16	0.50 ^{cd} ±0.00	4.93 ^d ±0.0	7.23 ^a ±0.07
BK-72	9.68 ^{ab} ±0.08	0.44 ^b ±0.00	4.94 ^d ±0.00	7.53 ^{ab} ±0.35
BY-24	9.85 ^{ab} ±0.30	0.51 ^{de} ±0.00	4.67 ^a ±0.00	7.65 ^{abc} ±0.14
BY-48	9.93 ^{ab} ±1.01	0.50 ^{cd} ±0.00	4.71 ^b ±0.00	7.80 ^{abc} ±0.00
BY-72	7.44 ^a ±2.61	0.44 ^b ±0.00	4.68 ^{ab} ±0.00	8.23 ^{bc} ±0.64
MK-24	10.99 ^b ±0.18	0.53 ^e ±0.00	5.85 ^b ±0.01	13.70 ^f ±0.57
MK-48	10.04 ^{ab} ±0.08	0.51 ^{de} ±0.02	5.88 ⁱ ±0.00	14.33 ^f ±0.49
MK-72	8.83 ^{ab} ±0.23	0.39 ^a ±0.00	5.71 ^e ±0.00	14.13 ^f ±0.92
MY-24	7.14 ^a ±0.75	0.52 ^{de} ±0.00	5.32 ^e ±0.01	8.43 ^{cd} ±0.35
MY-48	11.13 ^b ±0.28	0.52 ^{de} ±0.01	5.34 ^e ±0.00	10.00 ^e ±0.42
MY-72	9.09 ^{ab} ±0.49	0.41 ^a ±0.00	5.49 ^f ±0.01	9.18 ^{de} ±0.21

Aynı sütündeki ortalama değerlere ait üst simgedeki harfler Tukey’in Çoklu Karşılaştırma Testi’ne göre değerler arasındaki farkın önemli düzeyde olduğunu belirtmektedir. ($p<0.05$)

Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktivite

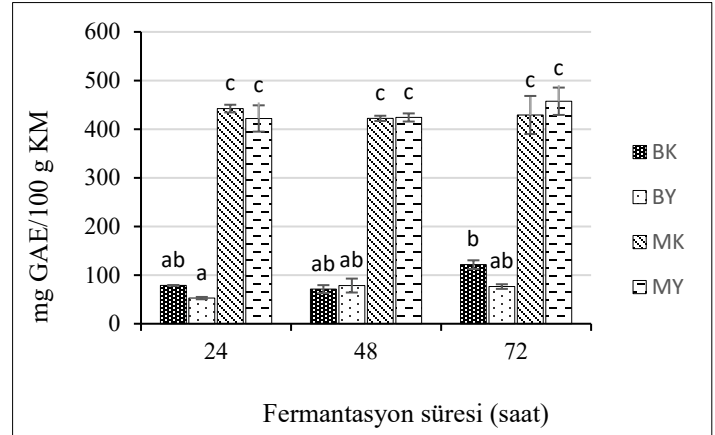
Çalışmada toplam fenolik madde miktarı Gallik asit kurvesi yardımıyla hesaplanarak GAE konsantrasyonu olarak Şekil 1’de verilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı buğday unundan üretilen tarhanalarda 52.7-121.5 mg GAE/100 g arasında değişirken; mısır unundan üretilen tarhanalarda önemli oranda bir artış olduğu (422-457.4 mg GAE/100 g) gözlenmiştir. Benzer şekilde DPPH serbest radikalinin giderim etkinliği olarak belirlenen antioksidan aktivite değerleri de mısır unu kullanılarak üretilen tarhanalarda (%83.30-87.43), buğday unu ile üretilen tarhanalardan (%8.11-14.4) oldukça yüksek bulunmuştur (Şekil 2.). Elde edilen bulgulara göre, buğday unu yerine mısır unu kullanımı bütün tarhana örneklerinde toplam fenolik bileşik miktarını ve antioksidan aktiviteyi önemli ölçüde arttırmıştır ($p<0.05$). Çalışmada kullanılan mısır unu ve buğday ununun da toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiş olup sırası ile, 214.4 ± 9.1 ve 64.4 ± 7.3 mg GAE/100 g olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, mısır unu ile üretilen tarhanalarda elde edilen yüksek fenolik madde içeriğinin undan kaynaklandığını göstermektedir. Bununla birlikte yoğurt yerine kefir kullanımı örneklerde anlamlı bir fark yaratmamıştır ($p<0.05$). Erinç ve Çifçi (2018) yaptıkları çalışmada buğday dövmesi kullanarak yoğurt ile kefirde Maraş tarhanası üretmişler ve bu çalışmaya benzer şekilde yoğurt yerine kefir kullanımının toplam fenolik madde miktarını değiştirmediklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar toplam fenolik madde miktarını 32 mg GAE/100 g olarak belirlemişlerdir.

Bu çalışmada, tarhana üretiminde hammadde kompozisyonu minimal düzeyde tutulmuş, geleneksel olarak isteğe bağlı formülasyona eklenen ve yüksek fenolik madde içeriğine sahip olan soğan, domates, biber ve çeşitli baharatlar gibi hammaddeler eklenmemiştir. Kilci ve Gocmen (2014) yulaf unu katkı, soğan, domates ve biber salçası da kullanarak ürettikleri tarhanalarda bu çalışmada elde edilen bulgulardan oldukça yüksek oranda (3112 mg GAE/100 g) fenolik madde belirlemişlerdir.

Duyusal Analiz

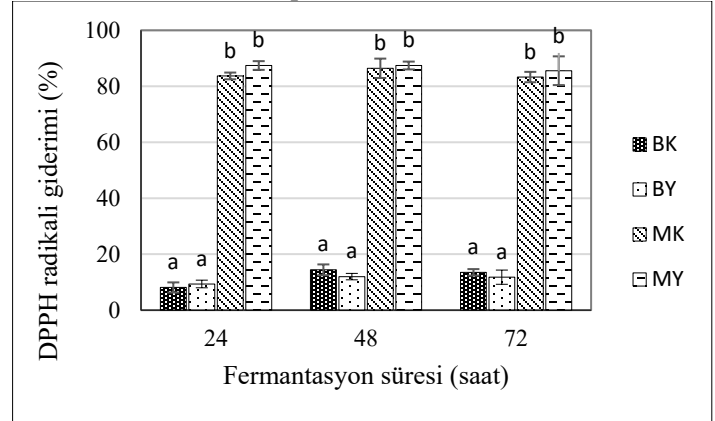
Tarhana örneklerine ait duyusal analiz değerlendirme sonuçları Tablo 3’te verilmiştir. Örnekler renk ve görünüş açısından değerlendirildiğinde kullanılan un çeşidinin renk beğenisinde etkili olduğu anlaşılmış; mısır unundan üretilen tarhanalar mısır kaynaklı sarımsı renkleri sebebiyle daha

çok beğenilmiştir. Değerlendirilen toplam 12 çeşit tarhana arasında tat, koku, kıvam, genel kabul edilebilirlik ve tüm izlenim kriterleri açısından belirgin bir fark tespit edilmemiş olup kültür ortamı çeşidi ve fermentasyon süresi de belirtilen duyusal özellikler üzerinde anlamlı bir etki yaratmamıştır ($p<0.05$). Tüm değerlendirme kriterleri göz önünde bulundurulduğunda tarhanalar ortalamasının üzerinde olarak değerlendirilmiştir.



Sütunlar üzerindeki farklı harfler Tukey’in Çoklu Karşılaştırma Testi’ne göre değerler arasındaki farkın önemli düzeyde olduğunu belirtmektedir. ($p<0.05$)

Şekil 1. Tarhanaların toplam fenolik bileşik miktarı



Sütunlar üzerindeki farklı harfler Tukey’in Çoklu Karşılaştırma Testi’ne göre değerler arasındaki farkın önemli düzeyde olduğunu belirtmektedir. ($p<0.05$)

Şekil 2. Tarhanaların DPPH serbest radikali giderim etkinliği

Tablo 3. Farklı sürelerde fermente edilmiş tarhana örneklerinin duyusal analiz sonuçları

Örnek	Renk ve görünüş	Tat*	Koku*	Kıvam*	Genel kabul edilebilirlik*	Tüm izlenim*
BK-24	5.58 ^{ab}	5.50	5.75	6.50	5.17	5.50
BK-48	5.42 ^{ab}	5.67	5.75	6.58	5.58	5.83
BK-72	5.08 ^a	5.92	5.75	6.75	5.50	5.83
BY-24	5.42 ^{ab}	5.42	5.67	6.33	5.33	5.50
BY-48	5.67 ^{ab}	4.42	5.58	6.50	4.75	5.00
BY-72	5.42 ^{ab}	5.75	5.75	6.67	5.42	5.75
MK-24	7.00 ^{ab}	5.58	6.17	6.83	6.00	6.25
MK-48	6.92 ^{ab}	6.08	6.33	6.42	6.17	6.25
MK-72	7.25 ^b	5.83	6.42	7.08	6.00	6.17
MY-24	7.33 ^b	5.08	6.83	7.00	5.83	6.00
MY-48	7.33 ^b	5.67	6.92	7.17	6.17	6.42
MY-72	7.25 ^b	6.42	6.50	7.08	6.33	5.92

Aynı sütündeki ortalama değerlere ait üst simgedeki harfler Tukey'in Çoklu Karşılaştırma Testi'ne göre değerler arasındaki farkın önemli düzeyde olduğunu belirtmektedir. (p<0.05)

*: Belirtilen duyusal özellikler için ortalamalar arasındaki fark önemli değildir. (p<0.05)

Sonuç

Mısır unundan üretilen tarhananın yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu, aynı zamanda fenolik bileşiklerce zengin olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte duyusal özellikleri açısından buğday unundan üretilen tarhana ile kıyaslandığında yapı ve aromasında herhangi bir farklılık hissedilmemiş olup, renk ve görünüş açısından daha çok beğenilmiştir. Kültür ortamı olarak yoğurt yerine kefir kullanımı tarhananın fonksiyonel ve duyusal özellikleri üzerinde anlamlı bir fark yaratmamıştır (p<0.05). Sonuç olarak buğday, çavdar ve arpaya alternatif olarak mısır bitkisinin unundan üretilen tarhananın isteğe bağlı olarak farklı çeşniler ile zenginleştirilerek glutene hassasiyet gösteren bireyler tarafından rahatlıkla tüketilebileceği belirlenmiştir.

Etik Standart ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Kaynaklar

Anonim (2004). Tarhana Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

Anonim (2010). Hazır Kuru Çorbalık Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

Ayhan, K. (2000). Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları. Gıdalarda bulunan mikroorganizmalar, (p. 66). Ankara, 2. Baskı. Sim Matbaacılık.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.

Certel, M., Ertugay, M. F. (1996). Gıdalarda Su Aktivitesinin Kontrol ve Belirleme Yöntemleri-II. *Gıda Dergisi*, 21(5).

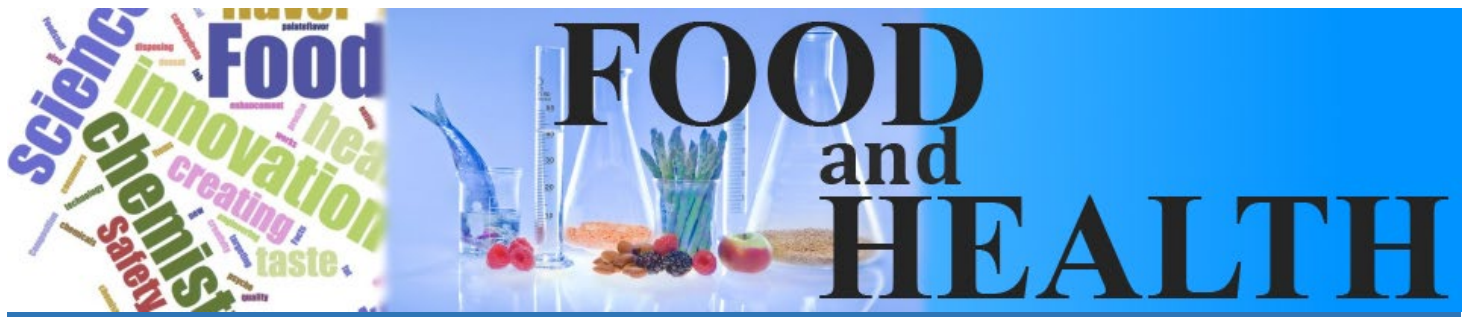
Çekal, N., Aslan, B. (2017). Gastronomik bir değer olarak tarhana ve coğrafi işaretlemeye tarhananın yeri ve önemi. *Güncel Turizm Araştırmaları Dergisi*, 1(2), 124-135.

Değirmencioglu, N., Gürbüz, O., Herken, E.N., Yıldız, A.Y. (2016). The impact of drying techniques on phenolic compound, total phenolic content and antioxidant capacity of oat flour tarhana. *Food Chemistry*, 194, 587-594.

Demir, M. K., Kutlu, G., Yılmaz, M. T. (2017). Steady, dynamic and structural deformation (three interval thixotropy test) characteristics of gluten-free Tarhana soup prepared with different concentrations of quinoa flour. *Journal of Texture Studies*, 48(2), 95-102.

Erbaş, M., Certel, M., Uslu, M. K. (2005). Microbiological and chemical properties of Tarhana during fermentation and storage as wet-sensorial properties of Tarhana soup. *LWT-Food Science and Technology*, 38(4), 409-416.

- Erinç, H., Çifçi, S. (2018). Maraş tarhanası üretiminde kefir kullanımının son ürün üzerine etkileri. *Gıda*, 43(1), 114-121.
- Erkan, H., Çelik, S., Bilgi, B., Köksel, H. (2006). A new approach for the utilization of barley in food products: Barley tarhana. *Food Chemistry*, 97(1), 12-18.
- Ertaş, N. (2018). Effects of baker's yeast addition on some properties and phytic acid content of tarhana prepared with different cereal and legume products. *Food and Health*, 4(1), 9-18.
- Ibanoglu, S., Ainsworth, P., Wilson, G., Hayes, G. D. (1995). The effect of fermentation conditions on the nutrients and acceptability of tarhana. *Food Chemistry*, 53(2), 143-147.
- Kilci, A., Gocmen, D. (2014). Phenolic acid composition, antioxidant activity and phenolic content of tarhana supplemented with oat flour. *Food Chemistry*, 151, 547-553.
- Pearlman, M., Casey, L. (2018). Who should be gluten-free? A review for the general practitioner. *Medical Clinics*, 103, 89-99.
- Ribotta, P.D., Ausar, S.F., Morcillo, M.H., Pérez, G.T., Beltramo, D.M., León, A.E. (2004). Production of gluten-free bread using soybean flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(14), 1969-1974.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Society for Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Şimşek, Ö., Özel, S., Çon, A.H. (2017). Comparison of lactic acid bacteria diversity during the fermentation of Tarhana produced at home and on a commercial scale. *Food Science and Biotechnology*, 26(1), 181-187.
- Şimşekli, N., Doğan, İ.S. (2015). Geleneksel ve fonksiyonel ürün olarak Maraş tarhanası. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(4), 33-40.
- Yalçın, E., Çelik, S., Köksel, H. (2008). Chemical and sensory properties of new gluten-free food products: Rice and corn tarhana. *Food Science and Biotechnology*, 17(4), 728-733.



Research Article

RHEOLOGY OF FILM-FORMING SOLUTIONS AND PHYSICAL PROPERTIES OF DIFFERENTLY DEACETYLATED SALEP GLUCOMANNAN FILM

Abdullah Kurt 

Cite this article as:

Kurt, A. (2019). Rheology of film-forming solutions and physical properties of differently deacetylated salep glucomannan film. *Food and Health*, 5(3), 175-184. <https://doi.org/10.3153/FH19019>

Bitlis Eren University, Engineering Architecture Faculty, Department of Food Engineering, 13000 Bitlis, Turkey

Submitted: 19.12.2018

Accepted: 07.03.2019

Published online: 23.03.2019

ORCID IDs of the authors:

A.K. 0000-0003-1452-3278

Correspondence:

Abdullah KURT

E-mail: akurt@beu.edu.tr

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the influence of deacetylation degrees (DD, 0-50-100%) and concentrations of glycerol (G, 0-5-10%) on the film solution rheology and physical properties of salep glucomannan film. Solution rheology experiments demonstrated that the deacetylation can be used as a tool to regulate film solution flow, its spread and also coating applications. Deacetylated salep films were produced with and without glycerol. The non-plasticized film was obtained with no cracks and bubbles. The deacetylation of purified glucomannan with the aid of glycerol significantly changed the physical properties of the film by increasing its density, opacity whereas light transmittance and moisture content were decreased due to the formation of associations between acetyl free regions of the glucomannan chains. Overall, 100% DD films with 10% glycerol demonstrated better physical characteristics. Findings suggest that deacetylation is promising chemically modification method for the production of food packaging materials.

Keywords: Biodegradable film, Salep glucomannan, Deacetylation, Rheology, Physical properties

Introduction

Deacetylation defines removing acetyl groups from glucomannan backbone by alkali treatment. Structural and functional characteristics of chemically modified glucomannan exhibits alterations such as, thermo-reversible gel formation with a higher water resistance and better mechanical properties due to the occurrence of hydrophobic interaction in addition to hydrogen bonding (Li et al., 2018). This process widely performed to konjac glucomannan based biodegradable film samples, in order to overcome high water-soluble, poor mechanical properties, brittleness, and sensitivity to water, (Chen et al., 2011; Du et al., 2012; Jin et al., 2015; Li et al., 2014). As compared with other modification methods which conducted to improve film properties, deacetylation can be evaluated as a facile method without using additional polymer or hydrophobic ingredients to produce the film with better characteristics.

Salep, as another important glucomannan source, had few reports on the film properties (Ekrami & Emam-Djomeh, 2014; Kurt and Kahyaoglu, 2014; Yilmaz and Vatansever, 2016), in addition, no research has been performed to cope with salep glucomannan film deficiencies. Salep glucomannan (SG) is produced from the tuber of the *Orchidaceae* family. Glucomannan is the main constituent present in the tubers. As a hydrocolloid, salep forms viscous solutions when dissolved in water due to the higher molecular weight. The structure of glucomannan consists of a linear backbone connected with β -(1 \rightarrow 4) glycosidic bonds, which are composed of glucose and mannose units. The powder of salep also contains starch (36.31%); protein (4.60%); and ash (2.07%) (Kurt and Kahyaoglu, 2015). We have conducted purification studies to isolate glucomannan and we obtained clearer and more stable solutions with better flow characteristics (Kurt and Kahyaoglu, 2017b, 2017c).

The rheological properties of the film-forming solutions is an crucial experiment because rheological parameters can affect spreadability, thickness and uniformity of liquid coating layer which applied to food products by dipping, brushing or spraying. The mechanical properties and the optimizing processing design during application were affected by flow behavior of film solutions. If the viscosity is high or gel type structure, casting of film solution in thin layers and the elimination of air bubbles will be difficult during high shear processing operations, such as pumping, filling and spraying application. It is also stated that, rheological parameters are useful for the evaluation of structure-function relationships of polysaccharide solutions systems (Chen, et al., 2009; Ma, et al., 2017a; Wu, et al., 2016). Therefore, to

provide a broad understanding on the physical characteristics of edible films it is necessary to study the rheological properties of the deacetylated glucomannan film solutions due to the variations in the molecular structure.

If the film property of salep is improved by modification methods, salep will have a potential to receive much interest due to their environmentally friendly material behavior. Therefore, the novelty and significance of this study on the advance of polysaccharide based food packaging field is stated as follow:

- i. The significance of deacetylation process with different degrees on the salep glucomannan film rheology and physical properties were evaluated for the first time.
- ii. Moreover, the application of the different degree of deacetylation at the presence of different glycerol concentrations is also first attempt leading to reveal plasticizer effect on modified glucomannan structure.
- iii. The purification process is needed so as to apply deacetylation to glucomannan. For this reason, the nine different edible films were produced from purified glucomannan. Therefore, this study also provided to observe the purification effect on the film properties of salep.

Materials and Methods

Materials

Purified glucomannan (GM) (M_w : 1.03×10^6 g/mol, PDI: 1.78) was used for differently deacetylated film production (Kurt and Kahyaoglu, 2017b, 2017c). All chemicals used in this study were of analytical grade. The ethanol, sodium hydroxide and glycerol were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

Film Preparation

The solution casting method was conducted for film formation as described earlier (Kurt et al., 2017). Before deacetylation process, 1 g GM (0.5%, w/v) was dissolved in 200 mL distilled water, including different glycerol ratios (0, 5 and 10 wt % of GM). The solution was heated up to 65°C and stirring of solution was maintained at this temperature for about 30 min to get a clear solution. Deacetylation (DD) (0, 50 and 100 DD) was applied to the solution for each plasticizer concentration, by adding determined amount of sodium hydroxide to the solutions with the following equation (Kurt and Kahyaoglu, 2017a; Liu et al., 2010):

$$DD (\%) = \frac{W_2 \times 43}{40 \times W_1 \times 0.022} \times 100 \quad 1$$

where W_1 and W_2 were the weight of GM and NaOH in g, respectively. This equation was acquired based on the degree of acetylation of the purified glucomannan backbone which was determined to be 2.2% in this study by using the reported back-titration method (Xiao et al., 2015). The solutions (200 mL) at 65 °C were then cast in petri plates (15 cm diameter) and dried at 40 °C for 24 h. The film characterization analyses were performed to all dried and peeled off films which also conditioned for at least 48 h at 24 °C in desiccators at 43% relative humidity (K_2CO_3 saturated solution). The differently deacetylated (DD; 0, 50 and 100%) GM film samples with different glycerol (G: 0, 5 and 10%) concentration were coded as 0DD-0G, 0DD-5G, 0DD-10G, 50DD-0G, 50DD-5G, 50DD-10G, 100DD-0G, 100DD-5G, 100DD-10G, respectively.

Rheological Properties of Film Solutions

The rheological properties of film solutions were determined by using a rheometer (HAAKE Mars III; Thermo Scientific, Germany) that was equipped with a Peltier heating system with a cone and plate configuration. Samples were sheared continuously at a rate ranging from 0 to 100 s^{-1} for 2 min at 65 °C to fit the data to the Ostwald-de Waele model:

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad 2$$

where τ is the shear stress (Pa), $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s^{-1}), K is the consistency coefficient (Pa.sⁿ), and n is the flow behaviour index (dimensionless).

Film Thickness

Film thickness was measured by a digital micrometer (Mitutoyo, Manufacturing Co. Ltd., Japan) at ten random locations of each film.

Film Density

The film density was determined from the ratio between the weight and volume (thickness × area). The density experiments were conducted in triplicate.

Film Moisture Content

To moisture content determination, the percentage of water removed from the initial mass sample was analyzed gravimetrically by drying the samples at 105 °C for 24 h (Kurt and Kahyaoglu, 2014).

Film Color

The color of the films was determined using a colorimeter (Colorflex, EZ, USA) in terms of lightness (L^*), redness/greenness (a^*), and yellowness/blueness (b^*) values.

The total color difference (ΔE^*) was calculated using the following equation:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad 3$$

where L^* , a^* , and b^* are the standard color parameter values (93.61, -0.78 and 2.23, respectively) and L , a , and b are the color parameter values of the sample. The measurements were repeated six times for each film.

Light Transmittance and Opacity of Film

The barrier properties of films against visible light were measured at wavelengths ranging between 300 and 800 nm, using Cary 60 UV-visible spectrophotometer (Agilent Technologies, Victoria, Australia). The samples were cut into rectangular pieces based on the lateral area of the spectrophotometer test cell and placed in the test cell. The reference value was determined from an empty test cell. The opacity value of the films was calculated by dividing the absorbance at 600 nm by the film thickness (mm) (Kurt and Kahyaoglu, 2014). All determinations were performed in triplicate.

Results and Discussion

Rheological Behavior of Film Solutions

The acceptable flow characteristic of the film-forming solution is being a moderate viscosity because high or low viscosity will lead to non-uniform film production (Wu, et al., 2013). Some authors have suggested a viscosity lower than 700 mPas for coating applications (Nair et al., 2011) and the appropriate viscosity is 1000–10,000 mPa s for other processing conditions of film solutions such as mixing, pumping and transfer to casting line and spreading the solution smoothly (Rossman, 2009). The apparent viscosity (AV) and parameters of Ostwald-de Waele model such as consistency coefficient (CC) and flow behavior index (FBI) of 9 different film solutions were presented in Fig.1. The parameters were found higher than the film solution produced by unpurified salep even at one third of concentration (Kurt and Kahyaoglu, 2014) as a results of interaction between glucomannan chains by means of removing impurities (Kurt and Kahyaoglu, 2015) which indicated the possibilities of lower usage of salep to obtained desired viscosity (Kurt and Kahyaoglu, 2017b).

Increasing glycerol concentration affected differently AV, CC and FBI values of deacetylated samples (Figure 1A). The addition of 5% glycerol decreased the values of AV and CC of samples. However, the decrease in these parameters proceeded for only 100DD samples at further glycerol addition (10 %). The n values ranged between 0.70-0.77, indicating pseudoplastic behavior of samples (Figure 1A)

(Saricaoglu et al., 2018) which associated with the destruction effect of shearing on polysaccharide macromolecules composed of a large number of hydroxyl groups in the network (Ma et al., 2017b). Only 100DD-10G (n=0.77) sample had lower pseudoplastic flow behavior, AV and CC values. Therefore, this solution flows and spreads more easily, reflecting that the intermolecular interaction between glucomannan polysaccharides is destroyed by glycerol. The inhibition effect of glycerol was more apparent for 100DD. At lower DD, glycerol increment may be provided forming new hydrogen bonds and preserved their characteristics.

Increasing DD at the same glycerol content caused to same decrement trend for the AV parameters (Figure 1B). The decrease in AV and CC with removing acetyl groups were reported for salep and konjac GM solutions and the results were associated with the decrease of the entanglement force between GM molecules (Kurt and Kahyaoglu, 2017a; Wang et al., 2014). Higher hydrogen bonds between GM and water occurred as results of higher acetyl contents which cause a higher excluded-volume force reducing hydrogen bonds between GM chains. When acetyl group contents changed to a lower degree by deacetylation, the volume of the polymeric network can be diminished (Kurt and Kahyaoglu, 2017a). The decrease in CC values with deacetylation from 0 to 50DD was more apparent at all glycerol concentration and the further increase in DD had no significant effect on the 0 and 5% glycerol included samples but proceeding in the decrement of CC was observed at 10% glycerol concentration. After deacetylation, the presence of glycerol had an additive effect on these decrements because in glycerol added polysaccharide system, there is competition for hydrogen bonds between polysaccharide chains and polysaccharide-plasticizer; and direct interaction between polysaccharide chains are partly reduced, resulting in lower viscosity (Peressini et al., 2003). As a result, pronounced lowering effect of deacetylation on consistency and pseudoplastic behavior could be stated for the higher glycerol ratios. Additionally, the revealing of decreasing effect of deacetylation process on film solution viscosity may eliminate the difficulties (high viscosity) of preparation of film solutions at higher glucomannan concentration, provided lower concentration dependency.

Overall Evaluation of Film Appearance

The production of glucomannan (GM) films with deacetylation was achieved without and with 5 and 10% glycerol additions. The films had visually continuous and homogeneous with no cracks, bubbles, or visible phase separation and

they were easily removed from the plates (Figure 2). The easily peeled off non-plasticized films were not brittle and hard indicated that GM was a good matrix-forming material. The possibilities of cohesive film formation of KGM without plasticizer but failure for galactomannan (locust bean and guar gum) were stated by Mikkonen (2009). The other critical point was that fully deacetylation of glucomannan (100DD) provided gel formation of film solutions as result of the aggregation of GM molecules (Kurt and Kahyaoglu, 2017a).

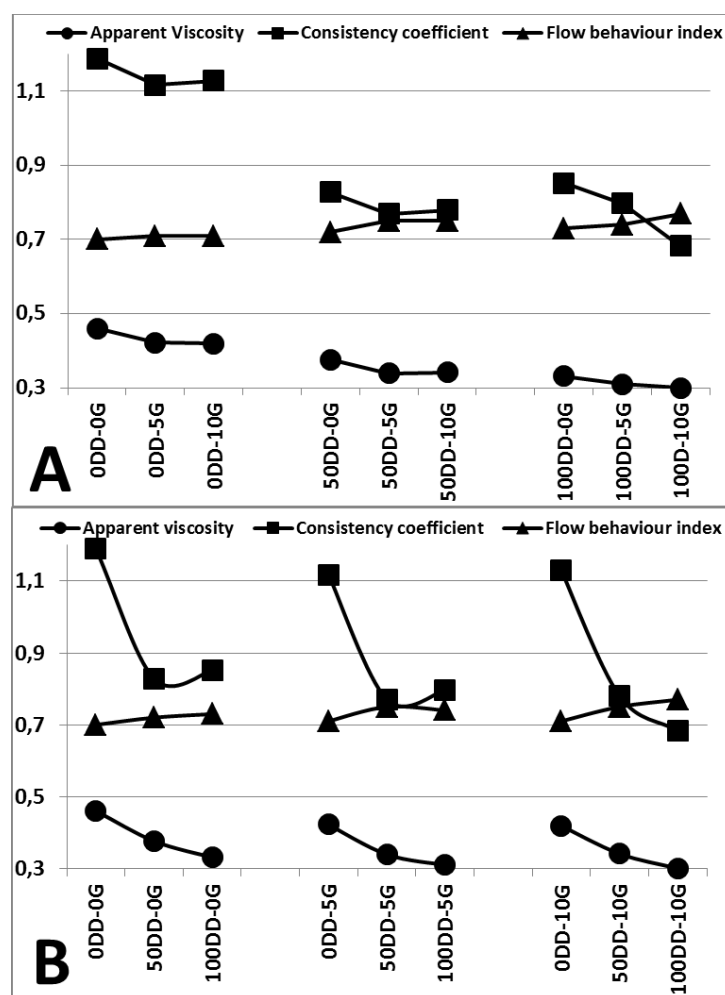


Figure 1. Apparent viscosity (30 s^{-1} , Pas), consistency coefficient (K , $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$) and flow behaviour index (n) of film solutions (A) at same deacetylation degree (DD, %) and (B) at the same glycerol concentration (G, %)



Figure 2. Physical appearance of salep glucomannan film samples as a function of deacetylation degree (DD, %) and glycerol content (G, %)

Film Thickness

The thickness values of the films varied between 33.85 and 50.66 μm (Figure 3). Thickness values of the unmodified films increased with the glycerol concentration but decreasing trend was observed for the deacetylated samples. According to the literature, increasing film thickness with the glycerol concentration was generally attributed to the more adsorbed water due to its hydrophilic character. This could be observed at very high glycerol content. However, in this study the water content of unmodified films decreased with glycerol. Therefore, increasing film thickness could be related to the extending the structure of film through increasing molecular volume of network due to the increasing the

presence of glycerol content between the macromolecular chains (Mikkonen, 2009; Thakhiew et al., 2010), further increase in glycerol (10%<) may be responsible for the higher water content and free volume of a system (Lai et al., 2006).

The lower viscosity values of deacetylated film solutions suggest thinner film production (Piermaria et al., 2009). In general, deacetylated samples had lower thickness values for the same glycerol contents as compared with control samples, possibly formation of associations between acetyl free regions of the GM backbone (Liu et al., 2010), thus restructuring the polymer organization to a less expanded structure with decreased volume, resulting in thinner polymer films (Razavi et al., 2015). The effect of removing ace-

tyl groups from the GM backbone on thickness was significant at higher glycerol content. The lowest thickness values observed for the fully deacetylated samples with the presence of 10% glycerol (gelled film solution). Deacetylation of GM allows acetyl-free regions of the backbone to associate, leading to the formation of junction zones and a three-dimensional network (Huang et al., 2015). Glycerol addition had improving effect on the mentioned formation by more hydrogen bonding during film forming process, providing further rigidity for the deacetylated film.

Film Density

The thinner films showed higher density values, due to the lower volume (Razavi et al., 2015). However, increased density of unmodified films (higher film volume) with glycerol increment could be attributed to the lower water content of that sample. Despite using same polymer concentration with no variations in molecular weight, higher density values of deacetylated films could be explained with increased interaction between the molecular chains of the glucomannan, resulted in different polymeric film structure production (Pelissari et al., 2013). This result is consistent with the water barrier properties of films due to the reduced interstitial spacing within the matrix of polymeric films and, consequently, producing lower water transmission. The higher density value (2.05 g/cm^3) than previously reported unpurified salep film density (1.27 g/cm^3) for the same glycerol content (10%) (Kurt and Kahyaoglu, 2014) indicated improving the effect of removing impurities on GM interactions.

Film Moisture Content

It is evident that the presence of glycerol and modification of GM backbone with alkali affected both the interaction of polymer matrix and its hydrophilic nature. Water contents of films shown in Fig. 3 decreased with increasing glycerol contents which could be attributed to the diminishing ability of the GM granules to absorb water due to the small molecular size of glycerol allowing more hydrogen bonding instead of allowing higher free volume for more water absorption at higher glycerol concentration than in this study (Lai et al., 2006). On the other hand, deacetylation slightly lowered water values of non-plasticized film while at the presence of glycerol removing acetyl groups in 50% ratio had no effect on this value. The ability of the lowest water susceptibility occurred when acetyl groups were completely removed from film included 10% glycerol. This modification with the presence of glycerol probably altered GM conformation, making the polymer network lower hydrophilic as was observed with the water absorption, solubility and improved water barrier properties in this study. The lower

moisture content (9.0%) of 10% glycerol included purified salep films than unpurified salep (19.13%) (Kurt and Kahyaoglu, 2014) could be explained with the decreasing hydrophilic character of salep by removing impurities (such as starch, protein and ash) and also hindering the formation of porous structure, which weakens water retention by capillarity (Pelissari et al., 2013). Moisture content decrement was also attributed to the diminishing the hydrophilic groups as a result of increased interaction between constituents of film mixture which in turn decreased the interaction between polymeric materials and water molecules (Liu et al., 2017).

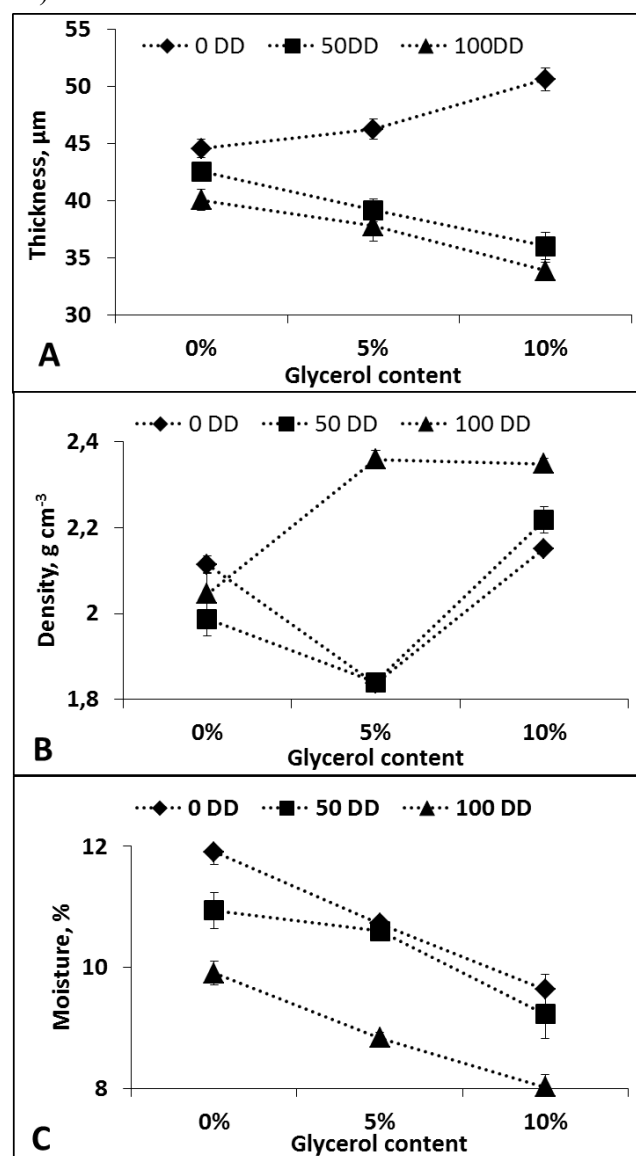


Figure 3. (A) Thickness, (B) density, and (C) moisture content of salep glucomannan film samples as a function of deacetylation degree (DD, %) and glycerol content (G, %)

Film Color

Optical properties such as color are crucial especially in the production of food packaging for the consumer preference and also crucial for the storage of food up to its sensitive character to the light. Visually, all films were almost clear and transparent and no significant differences in the color parameters and total color differences were determined. The mean values of parameters of 9 different films as follows: $L^*=90.62 \pm 0.14$, $a^*=-0.91 \pm 0.02$, $b^*=3.52 \pm 0.23$, and $\Delta E^*=3.26 \pm 0.20$. The high lightness L^* value indicates the high transparency of samples, which is a desirable property for the edible film packaging and coatings. The negative a^* and close to zero value states the absence of characteristic tones of red color and positive b^* value shows yellow color. Consistent results with the our study were reported by Razavi et al. (2015) for sage seed gum film as plasticizer independency of color parameters. The degree of total color difference from the standard color plate (ΔE^*) indicates the high clearness of film at low degree. Increased clearness with glycerol addition but lower clearness values than our results were determined for the exopolysaccharide films of kefiran ($\Delta E^*= 9-15$) (Ghasemlou et al., 2011). The independence of film color parameters to deacetylation and glycerol degrees may be probably associated with low water contents of modified films, which had no changing effect on the reflection of light at the film surface in spite of structural changes.

Light Transmittance of Film

The differences in the deacetylation degree and glycerol concentration affected visible light transmission of samples (Figure 4A) because the arrangement or alignments of polymer in film network most likely have a role on this property. An increasing content of glycerol lowered the visible light transmission of 0DD samples. The similar phenomenon was stated by Liang and Wang (2017). However, glycerol increment resulted in opposite results for the deacetylated samples such as (i) raising effect on 50DD films and (ii) no effect on light transmission of fully deacetylated film (Figure 4A). For the non-plasticized film conditions, deacetylated samples exhibited lower light transmission but similar values observed for 50DD and 100DD. Deacetylated samples revealed different behaviors after glycerol addition. As compared with 0DD, 50% deacetylated samples had high transmission but 100DD showed lower light transmission for the plasticized samples. (Figure 4A). The differences between deacetylated samples were clearer at 10% glycerol concentration. Film 50DD-10G exhibited the highest visible light transmission, while films 100DD-5G and 100DD-10G showed the lowest visible light transmission in the high

wavelength. The enhanced interaction between GM molecules in the film matrix by deacetylation and the presence of glycerol at this range caused to more absorption of the energy of incoming light, thus impeding the visible light transmission through the films was determined (Soo and Sarbon, 2018). Similar with this study, deacetylation with a degree of 52% increased the transparency of konjac glucomannan (KGM) film but increasing deacetylation degree (70 and 86%) decreased film transparency (Jin et al., 2015).

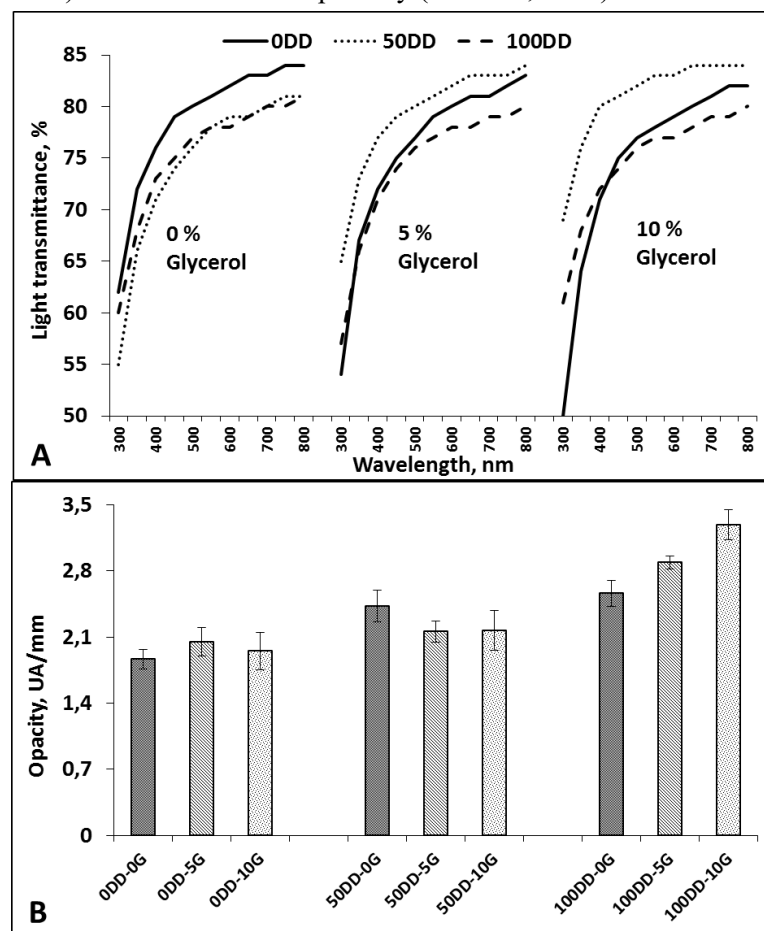


Figure 4. (a) Light transmittance, and (b) opacity of saleglucomannan film samples as a function of deacetylation degree (DD, %) and glycerol content (G, %)

Film Opacity

Opacity values of all film formulation are presented in Figure 4B. The results agreed with the light transmittance of films. Opacity increment by deacetylation was observed at the presence of 10% glycerol more specifically. The similar increase in the opacity was also reported for the films incorporated with polyphenols which improve absorption ability by means of their aromatic groups (Liu et al., 2017) and also the addition of different polymeric materials which

resulted in light scattering (Condés et al., 2018). However, the results in this study were attributed to the enhanced interaction between GM molecules by deacetylation which prevented the light to transmit through the films consequently film opacity increased. This suggested phenomenon between GM molecules reduced the biopolymer-water interactions, providing the formation of an opaque polymer matrix, consistent with the lower water contents of deacetylated films (Pelissari et al., 2013). Additionally, the increase in film opacity by glycerol incorporation was significant for the fully deacetylated glucomannan based film which revealed the formation of more tightly packed polymer network (Chang and Nickerson, 2015). Lower light transmittance and high opacity values of deacetylated salep films made it preferable as compared with unmodified salep for the protection of packaged food against light catalyzed degradation reactions formations. Regarding the purification effect on film properties, it could be stated that unpurified film had higher opacity values (3.74 UA/mm) (Kurt and Kahyaoglu, 2014) than purified salep (1.95 UA/mm) obtained in this study at similar glycerol content (10%), due to the presence of impurities such as starch and protein (Mikkonen et al., 2010).

Conclusion

For the first time, salep glucomannan films were successfully synthesized with various degrees of deacetylation and glycerol concentrations. The non-plasticized film was produced from purified salep with no cracks, bubbles, or visible phase separation. Rheological experiments showed that deacetylation process decreased consistency and pseudo-plastic behavior of film solutions, resulting in lower concentration dependency during film production. Acetyl free region of the glucomannan backbone leads to more associations so the thinner films with high density were obtained with deacetylation. Deacetylation had no effect on color parameters but decreased light transmittance and increased the opacity of films. By controlling the degree of acetylation and glycerol ratio, film solution rheology and physical properties of films can be regulated by tailoring biopolymers to give specific film properties. Solubility, barrier, mechanical and structural characteristics will be evaluated in further study.

Compliance with Ethical Standard

Conflict of interests: The author declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Financial disclosure: The author received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

References

- Chang, C., Nickerson, M. T. (2015). Effect of protein and glycerol concentration on the mechanical, optical, and water vapor barrier properties of canola protein isolate-based edible films. *Food Science and Technology International*, 21(1), 33-44.
- Chen, C.-H., Kuo, W.-S., Lai, L.-S. (2009). Rheological and physical characterization of film-forming solutions and edible films from tapioca starch/decolorized hsian-tso leaf gum. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2132-2140.
- Chen, J., Li, J., Li, B. (2011). Identification of molecular driving forces involved in the gelation of konjac glucomannan: Effect of degree of deacetylation on hydrophobic association. *Carbohydrate Polymers*, 86(2), 865-871.
- Condés, M. C., Añón, M. C., Dufresne, A., Mauri, A. N. (2018). Composite and nanocomposite films based on amaranth biopolymers. *Food Hydrocolloids*, 74, 159-167.
- Du, X., Li, J., Chen, J., Li, B. (2012). Effect of degree of deacetylation on physicochemical and gelation properties of konjac glucomannan. *Food Research International*, 46(1), 270-278.
- Ekrami, M., Emam-Djomeh, Z. (2014). Water vapor permeability, optical and mechanical properties of salep-based edible film. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(4), 1812-1820.
- Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Oromiehie, A., Yarmand, M. S. (2011). Development and characterisation of a new biodegradable edible film made from kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grains. *Food Chemistry*, 127(4), 1496-1502.
- Huang, Y.-C., Chu, H.-W., Huang, C.-C., Wu, W.-C., Tsai, J.-S. (2015). Alkali-treated konjac glucomannan film as a novel wound dressing. *Carbohydrate Polymers*, 117(Supplement C), 778-787.
- Jin, W., Song, R., Xu, W., Wang, Y., Li, J., Shah, B. R., Li, Y., Li, B. (2015). Analysis of deacetylated konjac glucomannan and xanthan gum phase separation by film forming. *Food Hydrocolloids*, 48, 320-326.

- Kurt, A., Kahyaoglu, T. (2014). Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan. *Carbohydrate Polymers*, 104(Supplement C), 50-58.
- Kurt, A., Kahyaoglu, T. (2015). Rheological properties and structural characterization of salep improved by ethanol treatment. *Carbohydrate Polymers*, 133(Supplement C), 654-661.
- Kurt, A., Kahyaoglu, T. (2017a). Gelation and structural characteristics of deacetylated salep glucomannan. *Food Hydrocolloids*, 69(Supplement C), 255-263.
- Kurt, A., Kahyaoglu, T. (2017b). Purification of glucomannan from salep: Part 1. Detailed rheological characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 168(Supplement C), 138-146.
- Kurt, A., Kahyaoglu, T. (2017c). Purification of glucomannan from salep: Part 2. Structural characterization. *Carbohydrate Polymers*, 169, 406-416.
- Kurt, A., Toker, O. S., Tornuk, F. (2017). Effect of xanthan and locust bean gum synergistic interaction on characteristics of biodegradable edible film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102(Supplement C), 1035-1044.
- Lai, H. C., Karim, A. A., Chee, C. S. (2006). Effects of water-glycerol and water-sorbitol interactions on the physical properties of konjac glucomannan films. *Journal of Food Science*, 71(2), E62-E67.
- Li, J., Ma, J., Chen, S., He, J., Huang, Y. (2018). Characterization of calcium alginate/ deacetylated konjac glucomannan blend films prepared by Ca²⁺ crosslinking and deacetylation. *Food Hydrocolloids*, 82, 363-369.
- Li, J., Ye, T., Wu, X., Chen, J., Wang, S., Lin, L., Li, B. (2014). Preparation and characterization of heterogeneous deacetylated konjac glucomannan. *Food Hydrocolloids*, 40, 9-15.
- Liang, T., Wang, L. (2017). Preparation and characterization of a novel edible film based on *Artemisia sphaerocephala* Krasch. gum: Effects of type and concentration of plasticizers. *Food Hydrocolloids*, 77, 501-508.
- Liu, F., Luo, X., Lin, X. (2010). Adsorption of tannin from aqueous solution by deacetylated konjac glucomannan. *Journal of Hazardous Materials*, 178(1), 844-850.
- Liu, J., Li, B., Zhu, B., Fu, R. H., Yuan, L. N., Huang, W., Ma, M. H. (2010). Study on properties and aggregation structures of deacetylated konjac glucomannan / chitosan hydrochloride absorbent blend gel films. *Journal of Applied Polymer Science*, 115(3), 1503-1509.
- Liu, J., Liu, S., Wu, Q., Gu, Y., Kan, J., Jin, C. (2017). Effect of protocatechuic acid incorporation on the physical, mechanical, structural and antioxidant properties of chitosan film. *Food Hydrocolloids*, 73, 90-100.
- Ma, Q., Du, L., Yang, Y., Wang, L. (2017a). Rheology of film-forming solutions and physical properties of tara gum film reinforced with polyvinyl alcohol (PVA). *Food Hydrocolloids*, 63, 677-684.
- Ma, Q., Du, L., Yang, Y., Wang, L. (2017b). Rheology of film-forming solutions and physical properties of tara gum film reinforced with polyvinyl alcohol (PVA). *Food Hydrocolloids*, 63(Supplement C), 677-684.
- Mikkonen, K. S. (2009). *Mannans as film formers and emulsion stabilizers* University of Helsinki, Helsinki University Printing House.
- Mikkonen, K. S., Heikkilä, M. I., Helén, H., Hyvönen, L., Tenkanen, M. (2010). Spruce galactoglucomannan films show promising barrier properties. *Carbohydrate Polymers*, 79(4), 1107-1112.
- Nair, S. B., Jyothi, A. N., Sajeev, M. S., Misra, R. (2011). Rheological, mechanical and moisture sorption characteristics of cassava starch-konjac glucomannan blend films. *Starch/Staerke*, 63(11), 728-739.
- Pelissari, F. M., Andrade-Mahecha, M. M., Sobral, P. J. d. A., Menegalli, F. C. (2013). Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). *Food Hydrocolloids*, 30(2), 681-690.
- Peressini, D., Bravin, B., Lapasin, R., Rizzotti, C., Sensidoni, A. (2003). Starch-methylcellulose based edible films: rheological properties of film-forming dispersions. *Journal of Food Engineering*, 59(1), 25-32.

- Piermaria, J. A., Pinotti, A., Garcia, M. A., Abraham, A. G. (2009). Films based on kefiran, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: Development and characterization. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 684-690.
- Razavi, S. M. A., Mohammad Amini, A., Zahedi, Y. (2015). Characterisation of a new biodegradable edible film based on sage seed gum: Influence of plasticiser type and concentration. *Food Hydrocolloids*, 43(Supplement C), 290-298.
- Rossman, J. M. (2009). Commercial Manufacture of Edible Films. In K. C. Huber, M. E. Embuscado (Eds.), *Edible Films and Coatings for Food Applications* (pp. 367-390). New York, NY: Springer New York.
- Saricaoglu, F. T., Tural, S., Gul, O., Turhan, S. (2018). High pressure homogenization of mechanically deboned chicken meat protein suspensions to improve mechanical and barrier properties of edible films. *Food Hydrocolloids*, 84, 135-145.
- Soo, P. Y., Sarbon, N. M. (2018). Preparation and characterization of edible chicken skin gelatin film incorporated with rice flour. *Food Packaging and Shelf Life*, 15, 1-8.
- Thakhiew, W., Devahastin, S., Soponronnarit, S. (2010). Effects of drying methods and plasticizer concentration on some physical and mechanical properties of edible chitosan films. *Journal of Food Engineering*, 99(2), 216-224.
- Wang, S., Zhan, Y., Wu, X., Ye, T., Li, Y., Wang, L., Chen, Y., Li, B. (2014). Dissolution and rheological behavior of deacetylated konjac glucomannan in urea aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 101(Supplement C), 499-504.
- Wu, C., Tian, J., Li, S., Wu, T., Hu, Y., Chen, S., Sugawara, T., Ye, X. (2016). Structural properties of films and rheology of film-forming solutions of chitosan gallate for food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 146, 10-19.
- Wu, J., Zhong, F., Li, Y., Shoemaker, C. F., Xia, W. (2013). Preparation and characterization of pullulan–chitosan and pullulan–carboxymethyl chitosan blended films. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 82-91.
- Xiao, M., Dai, S., Wang, L., Ni, X., Yan, W., Fang, Y., Corke, H., Jiang, F. (2015). Carboxymethyl modification of konjac glucomannan affects water binding properties. *Carbohydrate Polymers*, 130(Supplement C), 1-8.
- Yilmaz, M. T., Vatansever, C. (2016). Three interval thixotropy test to determine structural regeneration of a glucomannan based hydrocolloid film at air/water interface: Interfacial, molecular, thermal and surface characterization. *Food Hydrocolloids*, 61, 458-468.



FOOD and HEALTH

Food and Health, 5(3), 185-196 (2019) • <https://doi.org/10.3153/FH19020>

E-ISSN: 2602-2834

Research Article

SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ ÖĞRENCİLERİNİN BESLENME ALIŞKANLIKLARININ BELİRLENMESİ

Tuba Eda Arpa Zemzemoğlu¹ , Sinem Erem¹ , Elanur Uludağ² , Sevda Uzun² 

Cite this article as:

Arpa Zemzemoğlu, T.E., Erem, S., Uludağ, E., Uzun, S. (2019). Sağlık bilimleri fakültesi öğrencilerinin beslenme alışkanlıklarının belirlenmesi. *Food and Health*, 5(3), 185-196. <https://doi.org/10.3153/FH19020>

¹ Gümüşhane Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Gümüşhane, Türkiye

² Gümüşhane Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Gümüşhane, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

T.E.A.Z. 0000-0002-6836-4527
S.E. 0000-0002-3849-0805
E.U. 0000-0001-5448-5427
S.U. 0000-0002-5954-717X

Submitted: 14.12.2018

Accepted: 12.03.2019

Published online: 14.05.2019

Correspondence:

Tuba Eda ARPA ZEMZEMOĞLU

E-mail: tubaedarpa@gmail.com



[Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International Licence](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

© Copyright 2019 by ScientificWebJournals

Available online at

<http://fhs.scientificwebjournals.com>

ÖZ

Bu araştırma, Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde okuyan (17-30 yaş; 10.7 ± 1.7 yıl) öğrencilerin beslenme alışkanlıklarının saptanması amacıyla planlanmıştır. Öğrencilerin (n=1271) %69.6'sı kız, %30.4'ü erkektir. Araştırma verileri yüz yüze görüşme tekniği kullanılarak anket formu yardımı ile toplanmış, araştırmacılar tarafından hazırlanan anket formu sosyo-demografik özellikler, beslenme alışkanlıkları ve besin tüketim sıklığı bilgilerini içermektedir. Beden Kütle İndeksleri'ne (BKİ) göre; öğrencilerin %86.5'inin normal BKİ'ye sahip olduğu gözlenmiştir. Öğrencilerin %71.7'sinin yurtta kaldığı, %9.1'inin tanısı konulmuş hastalığa sahip olduğu, %36.6'sının beslenme eğitimi aldığı, %96.0'nın ana öğün atladığı, %67.0'nin en çok öğle öğününü atladığı, %65.7'sinin kuşluk ara öğününü hiç tüketmediği, %97.9'unun atıştırmalık ürünler tükettiği saptanmıştır. Beslenme alışkanlıkları incelendiğinde; öğrencilerin %52.4'ünün açıkta satılan yiyecekleri bazen satın aldığı, bu öğrencilerin %81.8'inin bu yiyecekleri canları istediği için satın aldığı tespit edilmiştir. Öğrencilerin kola-gazlı içecekler ve fast-food ürünlerini en fazla haftada bir gün, sırasıyla %20.5 ve %26.5 oranında tükettikleri saptanmıştır. Araştırmaya katılan öğrencilerin ana öğün atlama durumlarının ve atıştırmalık tüketimlerinin yüksek olduğu bulunmuştur. Bu nedenle üniversitelerde öğrencilere ayrıntılı beslenme eğitimi verilmesi ve sağlıklı beslenme konusunda daha ayrıntılı eğitim programlarının oluşturulması sağlanmalıdır.

Keywords: Beslenme, Üniversite öğrencileri, Beden kütle indeksi

ABSTRACT

DETERMINATION OF NUTRITION HABITS OF STUDENTS OF THE FACULTY OF HEALTH SCIENCES

This study was planned to determine the nutritional habits of the students (17-30 years; 10.7 ± 1.7 years) who studied at the Faculty of Health Sciences of Gümüşhane University. 69.6% of the students (n = 1271) were female and 30.4% were male. The data were collected using the questionnaire form by face to face interview method. Questionnaire form which is researchers prepares included in the knowledge of sociodemographic characteristics, dietary habits and nutrient consumption frequencies. It was observed that 86.5% of the students had a normal Body Mass Index (BMI). It was determined that 71.7% of the students stayed in the dormitory, 9.1% of them had a diagnosed disease, 36.6% of them received nutritional education, 96.0% of them skipped the main meal, 67.0% of them skipped mostly lunchtime, 97.9% of them consumed snacks. When their nutritional habits are examined, it was determined that 52.4% of the students bought food which is sold by out of the house and 81.8% of this students reported that bought this food because of they were desired. It was found that students consumed carbonated beverages and fast-food products mostly at a rate of 20.5% and 26.5% one day per week, respectively. It was found that the main meal skipping situations and the consumption of snacks were high. For this reason, it should be ensured to give detailed nutrition education to the students in universities and to provide more detailed education programs on healthy nutrition.

Keywords: Nutrition, University students, Body mass index

Giriş

Beslenme, fetüsün uterusunda kendine yer edinmesi ile başlayan ve yaşamın sonuna kadar devam edecek olan en önemli yaşamsal faaliyetlerden biridir. Beslenme; büyüme ve gelişmenin sağlanması, sağlığın korunması, sürdürülmesi, geliştirilmesi ve yaşam kalitesinin yükseltilmesi için vücudun ihtiyacı olan besin öğelerini yeterli miktarlarda ve uygun zamanlarda almak için, bilinçli yapılması gereken bir eylemdir (Arlı vd., 2017; Saygın vd., 2011; Çalıştır vd., 2005; Tanır vd., 2001). Üniversite öğrencilerinin beslenme alışkanlıklarında; aileleriyle yaşadıkları ev ortamından ayrılarak yurt, apart, vb. yerlerde kalmaları ve ekonomik nedenlerden dolayı bazı değişimler meydana gelmektedir. Öğrencilikle birlikte dışarıda geçirilen sürenin artmasıyla evde yemek hazırlama alışkanlığı ve ev yemeği tüketimi yerini; daha pratik, kolay ulaşılabilen, sağlıklı fast-food gıdalara bırakmıştır (Arslan, 2018). Bu nedenle üniversite öğrencilerinin çoğunluğu mevcut alışkanlıklarından uzaklaşmakta ve bu yeni ortamda hiç tecrübe etmedikleri beslenme alışkanlıkları ile yetersiz ve dengesiz beslenmeye başlayabilmektedirler (Kaleli vd., 2017; Mazıcıoğlu ve Öztürk, 2003). Yapılan çalışmalar, yetersiz ve dengesiz beslenmenin fiziksel gelişimi etkilemesinin yanı sıra, zihinsel gelişimi negatif etkilemesi, bağırsıklığın zayıflaması, bu nedenle hastalıklara yakalanma riskinin artması, hastalık sürecinin ağır ve uzun sürmesi, vb. yaşam kalitesini düşüren etkilere sahip olduğunu vurgulamışlardır (Onurlubaş vd., 2015; Roldán vd., 2005; Glone vd., 1993). Beslenme alışkanlıklarında kişilerin ana ve ara öğün sayısı, bu öğünlerde tükettikleri besinlerin türü ve miktarı, yiyecek satın alınan yer, vb.'nin yanı sıra kişilerin yemek yeme biçimleri, besinlerin ağızda yeterince çiğnenmesi, hangi duyu durumunda besin tükettikleri, besinleri tüketim tercihlerinin soğuk ya da sıcak olması gibi davranış kalıplarını içermektedir. Ayrıca eğitim, gelir seviyesi, sahip olunan kültür, beslenme bilgi düzeyi, yaşanılan yer ve bölgeye ait iklim gibi faktörlerde beslenme alışkanlıklarına etki etmekte ve yön vermektedir (Kaleli vd., 2017). On sekiz-yirmi dört yaş dönemi, sağlığın korunması, geliştirilmesi ve hastalıkların önlenmesi açısından önemli bir yaş dönemi olarak kabul edilmektedir. Bu sebeple bu yaş grubundaki üniversite öğrencileri, son yıllarda pek çok çalışmanın hedef grubunu oluşturmaktadır (Chourdakis vd., 2010). Özellikle ülkemizdeki gençler üzerine yapılan beslenme alışkanlıkları ile ilgili araştırmalarda, öğrencilerin genellikle ana ve ara öğünlere dikkat etmedikleri, tek öğün yemek yedikleri, öğünlerinde yumurta, sebze, süt ve süt ürünlerini hiç tüketmedikleri, kahvaltıda çay, simit ve ekme gibi yiyecekleri daha çok tükettikleri, öğrencilerin yemek seçerken sağlıklı olmasından ziyade doyurucu olmasına dikkat ettikleri, ekonomik zorlukların, yetersiz ve dengesiz beslenme probleminde etkili olduğu, yurtlarda kalan öğrencilerin yurt şartlarının

kötü olmasından dolayı beslenmelerinin iyi olmadığı saptanmıştır (Topbaş-Bıyıklı vd., 2018; Dülger ve Mayda, 2016, Onurlubaş vd., 2015). Bir ülkenin sosyo-ekonomik açıdan gelişebilmesi için bireylerin zihinsel olarak güçlü ve fiziksel olarak sağlıklı olması gerekmektedir. Bu durumun sağlanabilmesi ise yeterli ve dengeli beslenmeden geçmektedir. Ülkelerin geleceği olarak düşünülen ve bir o kadar da sağlıklı beslenme ile ilgili risk grubunu oluşturan üniversite öğrencilerinin beslenme alışkanlıkları ve besin tüketim sıklıkları araştırılmıştır. Bu açıdan bu çalışma literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır. Bu çalışmanın amacı; Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesinde öğrenim gören öğrencilerin beslenme alışkanlıklarını belirlemektir.

Materyal ve Metot

Araştırma Yöntemi ve Örneklemi

Araştırma; Mart-Mayıs 2018 tarihleri arasında Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesinde ki altı bölümde (Beslenme ve Diyetetik, Hemşirelik, Sağlık Yönetimi, Sosyal Hizmet ve Acil Afet ve Yardım Yönetimi, İş Sağlığı ve Güvenliği) okuyan (n=1600) lisans öğrencilerinin, beslenme alışkanlıklarını belirlemek amacı ile yapılmıştır. Araştırmanın evrenini Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde okuyan (n=1600) öğrenciler oluşturmuştur. Araştırmada örneklem seçimine gidilmemiş tüm örnekleme ulaşılmaya çalışılmıştır. Çalışmaya katılımda gönüllülük esas alındığı için 1271 kişi ile çalışma tamamlanmıştır.

Araştırmanın Etik Boyutu

Araştırmanın gerçekleştirileceği Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dekanlığından araştırmanın yapılması için gerekli yazılı izin ve üniversitenin etik kurulundan 19 Mart 2018 tarihinde 95674917-044-E.9674 sayılı etik onay alınmıştır. Araştırmaya başlamadan önce öğrencilere araştırma ve uygulama hakkında gerekli açıklamalar yapıldıktan sonra öğrenciler tarafından sözel onam alınmış ve anket uygulanmıştır. Çalışmaya katılma konusunda gönüllülük esas alınmıştır.

Araştırma Verilerinin Elde Edilmesi

Veriler, araştırmacılar tarafından ilgili literatürden yararlanılarak hazırlanmış anket formuyla ve yüz yüze görüşme tekniğiyle toplanmıştır. Anket formu iki bölüm ve 28 adet sorudan oluşmaktadır. Birinci bölüm öğrencilere ve ailelerine ilişkin sosyo-demografik özellikleri (yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, boy uzunluğu, kalınan yer, anne-baba mesleği, anne-baba eğitim durumu, ailenin aylık ortalama geliri, beslenmeye bağlı tanısı konmuş hastalığın olup olmaması) içeren sorulardan, ikinci bölüm ise öğrencilerin beslenme alışkanlıklarını

belirlemeye yönelik sorulardan oluşmaktadır. İkinci bölümde yer alan besin tüketim sıklık tablosu “her gün”, “haftada 2-3”, “haftada bir”, “15 günde bir”, “ayda bir” ve “tüketmem” olacak şekilde sorgulanmıştır. Katılımcıların besin tercihleri ile ilgili verilerinin hesaplanmasında Özgen ve Gönen’in (1989), çalışmasında bulunan değerlendirme yönteminden ($T = 3T1 + 2T2 + T3$) yararlanılmıştır. Bu yöntemde T: toplam puan, T1: birinci tercih, T2: ikinci tercih, T3: üçüncü tercih olarak belirlenmiş ve toplam puanın elde edilmesi için birinci tercih üç, ikinci tercih iki, üçüncü tercih bir puan ile çarpılmıştır.

Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışma verilerinin değerlendirilmesinde iki veya daha fazla bağımsız grup yüzdesi arasındaki farkın karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanılmış, anlamlılık incelenirken veri gözleminde 5’ten küçük beklenen frekans yüzdesi eğer %20.0’dan küçük ise Pearson Ki-Kare Test, %20-25 arasında ise Likelihood Ratio Ki-Kare istatistiği, %25.0’ten büyük ise Fisher Exact test istatistiği kullanılmıştır. Tüm istatistiksel testlerde güven aralığı %95.0 kabul edilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 21.0 (Statistical Package for the Social Sciences) paket programından yararlanılmıştır. Bulgular, tablolarda cinsiyet bazında sınıflandırılmış, veriler sayı ve yüzde oranları içerecek şekilde verilmiştir. Ondokuz yaş altı için BKİ persentil değerleri kullanılmış; “<5. persentiller yetersiz beslenme”, “≥5.-<15. persentiler zayıf”, “≥15.-<85. persentiller normal”, “≥85.-<95. persentiller hafif şişman olarak değerlendirilmiştir. Yirmi ve daha büyük yaşta kişiler için ise “<18.5 kg/m² zayıf”, “18.5-24.9 kg/m² normal”, “25.0-29.9 kg/m² hafif şişman”, “30.0-34.9 kg/m² I. derece şişman” olarak sınıflandırılmıştır (Pekcan, 2008).

Bulgular ve Tartışma

Öğrencilere ait Sosyo-Demografik Özellikler

Çalışmaya katılan öğrencilerin yaş grupları, vücut ağırlıkları, bölümleri, aile gelir düzeyleri, sınıfları, kaldıkları yerler, anne, baba eğitim durumları ve sağlık durumları ile ilgili bilgiler Tablo 1’de verilmiştir. Araştırmaya katılan öğrencilerin %69.6’sı kız, %30.4’ü erkek; %24.2’si on dokuz yaş ve altında, %75.8’i ise 20 yaş ve üzeri bireylerden oluşmaktadır. Cinsiyete göre yaş dağılımları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$). Öğrencilerin BKİ persentillerine göre %10.4’ü zayıf veya yetersiz beslenme durumuna sahipken, %86.5’i normal BKİ’ye sahiptir. Kız öğrencilerin erkek öğrencilere kıyasla zayıf olma veya yetersiz beslenmeye sahip olma durumu (kız: %13.1; erkek: %4.1) ve normal BKİ’ye sahip olma durumu daha yüksektir (kız: %58.4; erkek: %28.2). Cinsiyete göre vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmiştir ($P < 0.05$). Çalışmaya altı ayrı bölümden katılan öğrencilerin büyük çoğunluğunu

Sağlık Yönetimi Bölümü (%26.0) öğrencileri oluşturmakla birlikte, Beslenme ve Diyetetik, Hemşirelik, İş Sağlığı Güvenliği, Acil Afet ve Yardım Yönetimi ve Sosyal Hizmet Bölümü öğrencilerinin dağılımları sırasıyla %17.6, %19.1, %17.6, %6.4, %13.3’tür. Öğrencilerin %83.9’u ailelerinin gelir düzeyini orta, %2.4’ü ise yüksek olarak ifade etmişlerdir. Kız öğrencilerin (%10.6), erkek öğrencilere (%20.7) göre daha düşük aile gelirine sahip oldukları belirlenmiştir. Çalışma örnekleminde cinsiyete göre bölümler, sınıflar ve gelir düzeyleri dağılımları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $P < 0.05$; $P < 0.05$; $P < 0.05$). Öğrencilerin %71.7’si yurtda, %25.3’ü öğrenci evinde, %3.0’ı ise ailelerinin yanında kaldığı, kız öğrencilerin %77.6’sının, erkek öğrencilerin ise %58.1’inin yurtda kaldığı tespit edilmiştir. Öğrencilerin ebeveynlerinin eğitim durumları incelendiğinde, baba ve annelerin büyük çoğunluğunun (sırasıyla %36.7; 49.3) ilköğretim mezunu olduğu tespit edilmiş, üniversite mezunu olma durumları ise sırasıyla %11.5 ve %2.9 bulunmuştur. Öğrencilerin cinsiyete göre kaldıkları yer, baba eğitim durumlarının cinsiyete göre dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (sırasıyla $P < 0.05$; $P < 0.05$). Araştırmaya katılan öğrencilerin sağlık durumlarına bakıldığında %90.9’unun tanısı konmuş herhangi bir hastalığa sahip olmadığı tespit edilmiş, erkek öğrencilerde diyabet, diş hastalıkları, göz rahatsızlıkları ve kalp damar hastalıkları görülme oranı kız öğrencilere göre daha fazla, anemi görülme oranı ise daha az bulunmuştur. Tanısı konulmuş hastalık görülme durumu ve hastalık çeşidinin cinsiyete göre dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$; $P < 0.05$).

Dülger ve Mayda (2016), Bartın Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu öğrencilerinde yapmış oldukları çalışmada öğrencilerinin %58.2’sinin kız %41.8’inin erkek olduğunu, %48.1’inin 18-20 yaş aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Normal BKİ’ye sahip erkek öğrencilerin oranının %65.0, kız öğrencilerin oranının ise %73.1 olduğunu belirtmişlerdir. Buna ek olarak erkeklerin %7.5’inin, kızların ise %6.0’sının zayıf olduğu, yaklaşık üçte birinin (%37.7) ailelerinin aylık gelirlerinin 1000 TL Türk lirasının altında ve düşük gelire sahip oldukları tespit edilmiştir (Dülger ve Mayda, 2016). Özdemir ve Özdelek (2010), 180 öğrenci üzerinde yapmış oldukları çalışmada öğrencileri BKİ’lerine göre değerlendirdiklerinde, erkek öğrencilerin %78.6’sının, kız öğrencilerin %56.7’sinin normal BKİ’de olduğu ve erkeklerin %10.7’sinin, kızların ise %43.3’ünün zayıf olduğunu saptamışlardır (Özdemir ve Özdelek, 2010). Tözün vd. (2017), öğrenciler üzerinde yapmış oldukları çalışmada kız öğrencilerin %94.6’sının, erkek öğrencilerin ise %71.4’ünün normal BKİ’ye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Aşırı kilolu ve obez olma durumunun erkeklerde, kızlara göre %28.6 daha yüksek olduğunu saptanmışlardır (Tözün, vd., 2017). Aydoğan vd. (2016), yapmış oldukları çalışmada öğrencilerin %73.1’inin

kız, %26.9'unun erkek, %76.7'sinin ise normal BKİ'ye sahip kız öğrencilerden oluştuğunu bildirmişlerdir (Aydoğan vd., 2016). Yılmaz ve Özkan'ın (2007), çalışmasında ise çalışmaya katılan öğrencilerin tamamının (n=175) kız ve %77.7'sinin normal BKİ'ye sahip olduğu bulunmuştur (Yılmaz ve Özkan, 2007). Garipağaoğlu vd.'nin (2012), yapmış oldukları çalışmada öğrencilerin (%39.4 kız, %60.6 erkek), BKİ'leri incelendiğinde erkeklerin çoğunluğunun (%61.7), kızların yarısının (%49.1) normal değerlere sahip olduğu görülmüştür (Garipağaoğlu, vd., 2012). Benzer çalışmalarla kıyaslandığında bu çalışmada da öğrencilerin çoğunluğunun normal BKİ'ye sahip olduğu görülmektedir. Genç nüfusu-

muza oluşturan bu bireylerin normal BKİ'de olmaları sevindirici bir sonuçtur. Ayrıca zayıf olma durumunun kız öğrencilerde daha yüksek oranda görülmesinin nedeni kız öğrencilerin dış görünüşlerine daha fazla önem vermeleri ve beslenme konusunda daha dikkatli oldukları şeklinde yorumlanabilir. Daha önce yapılmış çalışmalarda da kız öğrencilerin zayıflık durumunun erkek öğrencilerden daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Ayhan vd., 2012; Garipağaoğlu vd., 2012). Bu çalışmada obez ve hafif şişman birey sayısının çok düşük olması (%1.3-1.8) Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde okuyan öğrencilerin sağlıklı olma bilinç düzeylerinin yüksek olabileceği ile ilişkilendirilebilir.

Tablo 1. Öğrencilerin sosyo-demografik özellikleri

Table 1. Socio-demographic characteristics of students

Özellikler	Kız (n=884)		Erkek (n= 387)		Toplam (N=1271)		P
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Yaş Grupları (yıl)**							
19 yaş ve altı	244	27.6	63	16.3	307	24.2	$\chi^2=18.8$ ss=1 P<0.05
20 yaş ve üzeri	640	72.4	324	83.7	964	75.8	
Vücut Ağırlıkları (kg/m²)**							
Zayıf veya Yetersiz Beslenme Durumu	116	13.1	16	4.1	132	10.4	$\chi^2=26.9$ ss=3 P<0.05
Normal	742	83.9	358	92.5	1100	86.5	
Hafif şişman	18	2.0	5	1.3	23	1.8	
Şişman	8	1.0	8	2.1	16	1.3	
Bölüm**							
Beslenme ve Diyetetik	184	20.8	40	10.3	224	17.6	$\chi^2=66.7$ ss=2 P<0.05
Hemşirelik	172	19.5	71	18.3	243	19.1	
Sosyal Hizmet	125	14.1	44	11.4	169	13.3	
Sağlık Yönetimi	241	27.3	89	23.0	330	26.0	
Acil Yardım ve Afet Yönetimi	52	5.9	29	7.5	81	6.4	
İş Sağlığı ve Güvenliği	110	12.4	114	29.5	224	17.6	
Ailenin Gelir Düzeyi Değerlendirilmesi**							
Düşük	94	10.6	80	20.7	174	13.7	$\chi^2=34.9$ ss=2 P<0.05
Orta	777	87.9	290	74.9	1067	83.9	
Yüksek	13	1.5	17	4.4	30	2.4	
Sınıf**							
1. Sınıf	287	32.5	90	23.3	377	29.7	$\chi^2=18.7$ ss=3 P<0.05
2. Sınıf	277	31.3	113	29.2	390	30.7	
3. Sınıf	167	18.9	85	22.0	252	19.8	
4. Sınıf	153	17.3	99	25.5	252	19.8	
Kaldıkları Yer**							
Yurt	686	77.6	225	58.1	911	71.7	

Öğrenci Evi	171	19.3	151	39.0	322	25.3	$\chi^2=55.4$ ss=2 P<0.05
Aile Yanı	27	3.1	11	2.9	38	3.0	
Baba Eğitim Durumu**							
Okur Yazar Değil	16	1.8	14	3.6	30	2.4	$\chi^2=12.2$ ss=5 P<0.05
Okuryazar	29	3.3	5	1.3	34	2.6	
İlkokul Mezunu	319	36.1	147	38.0	466	36.7	
Ortaokul Mezunu	205	23.2	95	24.5	300	23.6	
Lise Mezunu	219	24.8	76	19.6	295	23.2	
Üniversite Mezunu	96	10.8	50	13.0	146	11.5	
Anne Eğitim Durumu**							
Okur Yazar Değil	99	11.2	61	15.8	160	12.6	$\chi^2=9.5$ ss=5 P>0.05
Okuryazar	52	5.9	32	8.3	84	6.5	
İlkokul Mezunu	449	50.8	177	45.7	626	49.3	
Ortaokul Mezunu	161	18.2	61	15.8	222	17.5	
Lise Mezunu	99	11.2	43	11.1	142	11.2	
Üniversite Mezunu	24	2.7	13	3.3	37	2.9	
Tanısı Konmuş Hastalık Durumu**							
Var	97	11.1	19	4.9	116	9.1	$\chi^2=11.9$ ss=1 P<0.05
Yok							
	787	88.9	368	95.1	1155	90.9	
Tanısı Konmuş Hastalıklar (n=116)*							
Diyabet	8	8.3	4	21.1	12	10.4	$\chi^2=9.2$ ss=1 P<0.05
Diş Problemleri	8	8.3	4	21.1	12	10.4	
Anemi	63	64.9	6	31.6	69	59.4	
Kalp Damar Hastalıkları	8	10.3	2	10.5	10	8.6	
Göz Rahatsızlıkları	10	8.2	3	15.7	13	11.2	

*FisherExact Test ** Pearson Ki-Kare Testi, ss= Standart Sapma

Öğrencilerin Beslenme Alışkanlıklarını Belirlemeye Yönelik Bulgular

Araştırmaya katılan öğrencilerin beslenme eğitimi alma durumları, öğün atlama durumları, en çok atladıkları öğün, ana öğün atlama nedenleri, ana ve ara öğün tüketim sıklıkları ve atıştırma tüketim durumları Tablo 2’de verilmiştir. Tablo 2 incelendiğinde öğrencilerin %63.4’ü beslenme eğitimi almadığını beyan etmiş, beslenme eğitimi alan kız öğrencilerin (%40.6), erkek öğrencilerden (%27.4) daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Öğrencilerin %96.0’nın ana öğünleri atladığı, ana öğün atlayan kız öğrencilerin (%96.7) erkek öğrencilere (%94.3) göre daha fazla oranda olduğu tespit edilmiştir. Öğrenciler en çok öğle öğününü (%67.0) ve en az akşam öğününü (%5.1) atladığını belirtmiş, kahvaltı öğününü atlayan kız öğrencilerin (%24.2) erkek öğrencilerden (%36.4) daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Cinsiyete göre ana öğün atlama durumu ve en çok atlanan ara öğünlerin dağılımı istatistiksel

olarak anlamlıdır (P<0.05). Buna ek olarak öğrencilere yöneltilen ‘ana öğün atlama nedeniniz nedir?’ sorusuna öğrencilerin %37.1’i “zamanı olmadığı için” (kız: %36.6; erkek: %36.1), %19.7’si “hazırlayan olmadığı için” (kız: %18.0; erkek: %22.4), %18.6’sı “alışkanlığı olmadığı için” (kız: %20.8; erkek: %18.6) cevabını vermişlerdir. Kız ve erkek öğrenciler kahvaltı (sırasıyla %65.7-61.5) ve akşam öğününü (sırasıyla %80.3-79.6) her gün olacak şekilde tüketmektedir. Öğle öğünü ise erkek öğrencilerin %35.9’u tarafından her gün tüketilmesine rağmen kız öğrencilerin %27.0’ı haftada 1-2 gün olacak şekilde tüketmektedir. Ara öğün tüketim durumlarına bakıldığında; kuşluk ara öğünü erkek öğrencilerin büyük çoğunluğu (%65.7) tarafından hiç tüketilmezken, kız öğrencilerin %66.7’si haftada 1-2 kez olacak şekilde tüketmektedir. İkinci ara öğün öğrencilerin büyük çoğunluğu tarafından hiç tüketilmemektedir. Öğrencilerin ara ve ana öğün sıklıklarının dağılımlarına bakıldığında ise sadece öğle öğünü tüketim sık-

lğının cinsiyete göre dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Öğrenciler “atıştırma tüketiyor musunuz?” sorusuna %97.9 (kız: %98.0; erkek: %29.3) oranında “evet” cevabını vermişlerdir. Öğrencilerin öğünler aralarında tercih ettikleri en çok üç yiyecek çeşidinin simit/poğaç/toast

(TP=1359), bisküvi/kraker/kek (TP=1159) ve taze/kuru meyveler (TP=946); en çok tercih edilen üç içecek çeşidinin ise çay/kahve (TP=1192), süt/ayran (TP=821) ve gazlı içecekler (TP=356) olduğu saptanmıştır. Yiyeceklerden çikolata/şekerlemeler (TP=824), cips (TP=424) ve kuruyemişler (TP=200); içeceklerden meyve suları (TP=296) daha az tercih edilmiştir.

Tablo 2. Öğrencilerin beslenme eğitimi alma durumları ve öğün düzenleri

Table 2. Nutritional education receiving status and meal plan of students

Özellikler	Kız (S=884)		Erkek (S=387)		Toplam (S=1271)		P	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%		
Beslenme Eğitimi Alma Durumu								
Evet	359	40.6	106	27.4	465	36.6	$\chi^2=20.3$ ss=1 $P<0.05$	
Hayır	525	59.4	281	72.6	806	63.4		
Ana Öğün Atlama Durumu								
Atlıyor	855	96.7	365	94.3	1220	96.0	$\chi^2=4.0$ ss=1 $P<0.05$	
Atlamıyor	29	3.3	22	5.7	51	4.0		
En Çok Atlanan Ana Öğün (n=1220)								
Kahvaltı	207	24.2	133	36.4	340	27.9	$\chi^2=20.6$ ss=2 $P<0.05$	
Öğle	598	69.9	598	60.3	818	67.0		
Akşam	50	5.9	50	3.3	62	5.1		
Ana Öğün Atlama Nedeni (n=1220)								
İştahsızlık	132	15.4	63	17.3	195	15.9	$\chi^2=18.1$ ss=5 $P<0.05$	
Hazırlayan olmadığı için	154	18.0	87	23.8	241	19.7		
Zamanı olmadığı için	313	36.6	140	38.4	453	37.1		
Zayıflamak olmadığı için	37	4.3	6	1.6	43	3.6		
Ekonomik yetersizlik	41	4.8	20	5.5	61	5.0		
Alışkanlığı olmadığı için	178	20.9	49	13.4	227	18.6		
Ana Öğün Tüketme Sıklıkları								
Kahvaltı	Her gün	581	65.7	238	61.5	819	64.4	$\chi^2=7.3$ ss=4 $P>0.05$
	Haftada 5-6 gün	102	11.5	38	9.8	140	11.0	
	Haftada 3-4 gün	131	14.8	68	17.6	199	15.7	
	Haftada 1-2 gün	56	6.3	38	9.8	94	7.4	
Öğle	Hiç	14	1.7	5	1.3	19	1.5	$\chi^2=70.4$ ss=4 $P<0.05$
	Her gün	169	19.1	139	35.9	308	24.2	
	Haftada 5-6 gün	95	10.7	67	17.3	162	12.7	
	Haftada 3-4 gün	197	22.3	78	20.2	275	21.6	
Akşam	Haftada 1-2 gün	239	27.0	57	14.7	296	23.3	$\chi^2=1.5$ ss=4
	Hiç	184	20.9	46	11.9	230	18.2	
	Her gün	710	80.3	308	79.6	1018	80.1	
	Haftada 5-6 gün	82	9.3	43	11.1	125	9.8	

	Haftada 3-4 gün	37	4.2	15	3.9	52	4.1	P>0.05	
	Haftada 1-2 gün	28	3.2	12	3.1	40	3.1		
	Hiç	27	3.0	9	2.3	36	2.9		
Ara Öğün Tüketme Sıklıkları									
	Her gün	32	3.6	23	5.9	55	4.3		
	Haftada 5-6 gün	40	4.5	14	3.6	54	4.2		
Kuşluk	Haftada 3-4 gün	61	6.9	27	7.0	88	6.9	$\chi^2=5.5$ P>0.05	ss=4
	Haftada 1-2 gün	160	66.7	80	20.7	240	18.9		
	Hiç	591	18.3	387	62.8	834	65.7		
	Her gün	67	7.6	50	12.9	117	9.2		
	Haftada 5-6 gün	38	4.3	15	3.9	53	4.2		
İkinci	Haftada 3-4 gün	114	12.9	45	11.6	159	12.5	$\chi^2=9.8$ P>0.05	ss=4
	Haftada 1-2 gün	221	25.0	178	25.6	320	25.2		
	Hiç	444	50.2	178	46.0	622	48.9		
	Her gün	94	10.6	48	12.4	142	11.2		
	Haftada 5-6 gün	57	6.4	36	9.3	93	7.3	$\chi^2=4.7$ ss=4 P>0.05	
Gece	Haftada 3-4 gün	160	18.1	71	18.3	52	18.2		
	Haftada 1-2 gün	294	33.3	118	30.5	40	32.4		
	Hiç	884	31.6	387	29.5	36	30.9		
Atıştırma Tüketim Durumu									
Evet		866	98.0	370	95.6	1236	97.9		
Hayır		18	2.0	4.4	1.0	35	2.1	$\chi^2=3.2$ ss=1	P>0.05

Pearson Ki kare Testi, ss: Standart Sapma

Onurlubaş vd.'nin (2015), çalışmasında öğrencilerin öğün aralarında %60.1'inin her zaman, %36.5'inin bazen herhangi bir yiyecek ya da içecek tükettiği, %3.4'ünün ise hiçbir zaman ara öğün tüketmediği belirlenmiştir. Çayın (%73.0) ise öğün aralarında tüketimi en fazla tercih edilen içecek olduğu belirtilmiştir (Onurlubaş vd., 2015). Özyazıcıoğlu vd.'nin (2009), çalışmasında kız öğrencilerin %77.9'unun, erkek öğrencilerin %63.2'sinin öğün aralarında atıştırma tükettiği belirtilmiştir. Tözün vd. (2017), öğrencilerin %12.7'sinin üç öğün ana yemek, %13.7'sinin 3 ara öğün, %12.7'sinin ise hiç öğün atlamadığını tespit etmişlerdir. Öğrencilerin %40.1'inin sabah, %44.6'sının öğle, %2.6'sının ise akşam öğününü atladığını saptanmışlardır (Tözün vd., 2017). Dülger ve Mayda (2016), cinsiyete göre ana ve ara öğün tüketim durumlarına baktıkları çalışmada, kız öğrencilerin %96.4'ünün, erkek öğrencilerin %92.6'sının akşam yemeğini her gün tükettiğini, genel örneklemin %35.5'inin öğle yemeği tükemediğini, %19.5'ininde sabah kahvaltısı yapmadığını bildirmişlerdir. Araştırmaya katılan kız öğrencilerin en fazla tükettiği ara öğünün ikindi (%41.2), erkek öğrencilerin en fazla tükettiği ara öğünün ise gece ara öğünü (%53.3) olduğu bildirilmiştir.

Öğrencilerin öğün atlama nedenlerine bakıldığında ise erkek öğrencilerin %35.0'nun "canının istememesi", kız öğrencilerin ise %39.5'inin "geç kaldıklarından dolayı" öğün atladıklarını belirtmişlerdir. Öğünlerin tüketildikleri yerlere bakıldığında ise öğrencilerin kahvaltısı en çok %39.4 ile evde yaptıkları görülmüştür. Özdemir ve Özdelek (2010), çalışmalarında öğrencilerin büyük çoğunluğunun (%62.7 erkek-%43.3 kız) günde 3 öğün beslendiği, öğün atlama nedeni olarak yemeğe yeterli zamanı ayıramamanın erkeklerde %64.0, kızlarda %73.3 ilk sırayı aldığı belirtilmiştir (Özdemir ve Özdelek, 2010). Aydoğan vd. (2016), çalışmalarında öğrencilerin %16.2'sinin öğle yemeğini, %30.3'ünün sabah kahvaltısını, %0.8'inin ise akşam yemeğini yemediğini ve en çok kahvaltı öğününün atlandığını tespit etmişlerdir (Aydoğan vd., 2016). Vançelik vd. (2007), öğrencilerin %87.4'ünün öğün atladığını, öğün atlayanların da %46.3'ünün yemek yemeyi unuttuğunu veya fırsat bulamadığı için öğün atladıklarını bildirmişlerdir. Öğrencilerin üzgün veya yorgun olduklarında %42.6'sının her zamankinden az yemek yediğini belirtmişlerdir (Vançelik vd., 2007). Yılmaz ve Özkan'ın (2007) çalış-

masında öğrencilerin %90.3'ü öğün atladığını, en fazla atlanan öğünün %65.8 ile öğle öğünü olduğunu, %51.3'ü zaman bulamama nedeniyle öğün atladığını ve %77.7'si yemek seçerken temiz bir ortamda pişirilmesi ve sunulmasına dikkat ettiklerini belirtmişlerdir (Yılmaz ve Özkan, 2007). Garipağaoğlu vd. 'nın (2012), yapmış oldukları çalışmada ise kız öğrencilerin %46.2'sinin, erkek öğrencilerin %50.6'sının kahvaltı öğününü atladığını belirtmişlerdir. Öğrencilerin %58.0'mın uykuyu kahvaltıya tercih ettiği için, %26.0'sı derse yetişme korkusu nedeniyle, %12.0'si ise kahvaltı yapma alışkanlığı olmadığı için kahvaltı öğününü atladığını beyan etmişlerdir (Garipağaoğlu vd., 2012). Güleç vd. (2008), iki ayrı öğrenci yurdunda kalan öğrencilerin beslenme alışkanlıklarını inceledikleri çalışmada ise öğrencilerin çoğunlukla öğle öğününü atladıklarını belirtmişlerdir (Güleç vd., 2008). Bu çalışmada öğrencilerin büyük çoğunluğunun öğün atladığı ve en çok atlanan öğünün öğle öğünü olduğu saptanmıştır. Öğün atlama sebebi olarak en fazla "zamanın olmadığı" ifade edilmiştir. Oysaki sağlıklı ve düzenli beslenmenin yaşam tarzı haline getirilebilmesi için öğünlerin zamanında ve dengeli bir şekilde yapılması önerilmektedir (Kılınç ve Deniz, 2012). Öğrencilerin öğün atlamasının birçok sebebi olabileceği gibi derslerinin erken başlaması, öğrencilerin çoğunluğunun yurttan kalması ve kahvaltılarını alıp okulda ders aralarında tüketmeleri onların öğle öğününü atlamasına sebep olabilir. Ayrıca öğrencilerin büyük çoğunluğunun orta gelir düzeyine sahip olmaları da üç öğünü düzenli olarak tüketmemelerine sebep olabilir.

Öğrencilerin yemek seçme durumları, kahvaltı ve öğle yemeklerini yedikleri yerler, açıkta satılan yiyecekleri satın alma ve almama nedenleri Tablo 3'te verilmiştir. Çalışmaya katılan öğrencilerin büyük çoğunluğunun yemek seçtiği (%58.8) bulunurken, kız öğrencilerde (%60.3) bu oranın erkek öğrencilere (%55.3) göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Öğrencilerin cinsiyete göre yemek seçme durum dağılımları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0.05$). Kahvaltı ve öğle yemeklerinin yendiği yerler sorgulandığında, kahvaltının en çok yurttan (%48.7), en az pastane/kafeterya/restoranda (%2.0); öğle yemeklerinin ise en çok okul kantininde, en az okul çevresindeki restoranlarda tüketildiği belirlenmiştir. Kahvaltısını yurttan tüketen kız öğrencilerin (%52.0), erkek öğrencilerden (%41.1) daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Cinsiyete göre kahvaltı ve öğle yemeklerinin yenildiği yerlerin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($P<0.05$). Araştırmaya katılan öğrencilerin %23.1'i açıkta satılan yiyecekleri satın aldığı, %52.4'ü ise bazen satın aldığı beyan etmiştir. Öğrencilerin bu yiyecekleri en fazla "canı istediği için" (%81.8) satın aldığı, "öğretmenleri uyardığı için" (%89.7) satın almadığı tes-

pit edilmiştir. Açıkta satılan yiyeceklerin satın alınma durumları dağılımları cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($P<0.05$).

Çalışmaya katılan öğrencilerin besin tüketim sıklıkları Tablo 4'te gösterilmiştir. Öğrencilerin süt ürünlerini tüketim sıklığı incelendiğinde her gün en fazla (%38.2) peynir çeşitlerini tükettiği, süt (%6.8), yoğurt (%6.5) ayran (%5.2) tüketim sıklıklarının ise daha az olduğu saptanmıştır. Araştırmaya katılan öğrencilerin %68.3 sakatatları, %21.3 balık çeşitlerini, %17.3 salam/soşis/sucuk/pastırma türlerini hiç tüketmedikleri belirlenmiş, her gün yumurta tüketim sıklığı %20.1 olarak tespit edilmiştir. Sebze ve meyve tüketim sıklıkları incelendiğinde; domates (%45.2), yeşil yapraklı sebzeler (%37.8), patates (%50.7) ve taze meyvelerin (%42.4) en sık haftada 2-3 gün tüketildiği, kuru meyvelerin haftada 1 %21.7 oranında tercih edildiği gözlenmiştir. Öğrencilerin her gün %50.8 beyaz ekmek, %11.4 tahıllı ekmekler tercih ettiği saptanmıştır. Pirinç (%47.4), bulgur (%43.9) ve makarnanın (%43.2) en fazla haftada 2-3 gün tercih edildiği belirlenmiştir. Öğrencilerin %26.2'sinin her gün, %34.7'sinin haftada 2-3 gün tatlı tükettiği, %5.6'sının ise hiçbir zaman tatlı tüketmeyi tercih etmediği belirlenmiştir. Tereyağının en sık haftada 2-3 gün (%22.1) tüketildiği gözlenmiş, her gün en sık (%61.5) tüketilen içeceğin çay olduğu tespit edilmiştir. Fast-food tüketimlerinin ise en sık (%26.5) haftada 1 kez tüketildiği belirlenmiştir.

Tözün vd. (2017), çalışmalarında öğrencilerin besin tüketim sıklıklarını incelemiş ve öğrencilerin %76.5'inin ekmeği ve %43.0'inin çikolata ve gofreti her gün, %76.9'unun beyaz eti, %69.4'ünün kuru baklagilleri, %64.8'inin kırmızı eti, %65.5'i pirinç-bulgur-makarnayı, %56.0'ı süt-yoğurdu ve %47.2'si şeker-bal-reçeli haftada 1-2 veya 3-4 defa sıklıkla tükettiklerini bildirmişlerdir. Öğrenciler balığı %74.9, hazır besinleri (çorba-konserve) %59.3 oranında 15 günde bir veya daha seyrek tükettiklerini belirtmişlerdir. Onurlubaş vd. (2015) öğrencilerin besin tüketim sıklıklarını belirledikleri çalışmada, öğrenciler tarafından tahıl ve tahıl ürünlerinin (%33.6) her gün en fazla, yumurtanın (%40.5) güneşirisi en fazla, sebze (%36.0) ve meyve (%36.0) haftada bir kez en fazla tüketildiğini ve öğrencilerin %8.8'inin ise hiç yumurta tüketmediklerini belirlemişlerdir (Onurlubaş vd., 2015). Sağlıklı ve dengeli bir beslenmenin sağlanabilmesi için her besin grubunun her öğünde ve yeterli miktarda alınması önerilmektedir. 18-49 yaş arası bireylerde gereksinimlerin karşılanabilmesi için, günde 3 porsiyon süt ve süt ürünleri, 2.5-3 porsiyon et, tavuk, vb. ürünler, haftada toplam 3 porsiyon kurubaklagiller, haftada 2 gün 1/2 porsiyon yumurtanın tüketilmesi gerekmektedir (TÜBER, 2016). Bu çalışmada her gün en fazla tüketilen besinler sırasıyla peynir (%38.2), yumurta (%20.1),

domates (%22.6), beyaz ekmeK (%50.8) ve çay (%61.5) olmuştur. Öğrencilerin büyük kısmının devlet yurdunda kalmaları onların belirli besinleri tüketmelerine sebep olabilir. Beyaz ekmeK tüketimindeki yüksek oran bunu destekler niteliktedir.

Tablo 3. Öğrencilerin beslenme alışkanlıklarına ilişkin diğer bilgiler

Table 3. Other informations about nutritional habits of Students

Özellikler	Kız(S=884)		Erkek (S=387)		Toplam (S=1271)		P
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Yemek seçme durumu*							
Seiyor	533	60.3	214	55.3	747	58.8	$\chi^2=2.8$ ss=1 P>0.05
Semiyor	351	39.7	173	44.7	524	41.2	
Kahvaltının yenildiği yer**							
Okul kantini	122	13.8	43	11.1	165	13.0	$\chi^2=25.6$ ss=4 P<0.05
Ev	289	32.7	169	43.7	458	36.0	
Pastane. kafeterya. restoran	11	1.2	14	3.6	25	2.0	
Yurt	460	52.0	159	41.1	619	48.7	
Diğer	2	0.3	2	0.5	4	0.3	
Öğle yemeklerinin yenildiği yer*							
Okul kantininde	302	34.2	100	25.8	402	31.6	$\chi^2=28.3$ ss=4 P<0.05
Evde	107	12.1	73	18.9	180	14.2	
Okul çevresindeki restoranlarda	84	9.5	59	15.2	143	11.3	
Okul yemekhanesinde	151	17.1	76	19.6	227	17.9	
Diğer	240	27.1	79	20.5	319	25.0	
Açıkta satılan yiyeceklerin satın alınma durumu*							
Evet	171	19.3	123	31.8	294	23.1	$\chi^2=23.6$ ss=2 P<0.05
Hayır	229	25.9	183	21.2	311	24.5	
Bazen	484	54.8	387	47.0	666	52.4	
Açıkta satılan yiyeceklerin satın alma nedeni (n=960)*							
Canı istediği için	546	83.4	239	78.4	785	81.8	$\chi^2=11.0$ ss=4 P<0.05
Ucuz olduğu için	30	4.6	30	9.5	60	6.1	
Arkadaşları aldığı için	27	4.1	27	3.0	36	3.8	
Merak ettiği için	20	3.1	20	3.3	30	3.1	
Diğer	32	4.8	32	58	50	5.2	
Açıkta satılan yiyeceklerin satın almama nedeni (n=311)*							
Ekonomik yetersizlik	5	2.1	3	3.7	8	2.6	$\chi^2=12.8$ ss=3 P<0.05
Sağlıklı bulunmadığı için	6	2.6	4	4.9	10	3.2	
Öğretmenleri uyardığı için	213	93.0	66	80.4	279	89.7	
Diğer	5	2.3	9	11.0	14	4.5	

* PearsonKikare Testi **LikelihoodRatioKikare Test, ss=Standart Sapma

Tablo 4. Öğrencilerin besin tüketim sıklıkları**Table 4.** Food consumption frequency of students

Besinler	Her gün		Haftada 2-3 gün		Haftada 1		15 günde 1		Ayda 1		Tüketmiyor	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Süt	87	6.8	403	31.7	224	17.5	169	13.3	150	11.8	238	18.9
Ayran	66	5.2	555	43.7	295	23.2	194	15.3	85	6.7	76	5.9
Yoğurt	82	6.5	535	42.1	275	21.6	164	12.9	106	8.3	109	8.6
Peynirçesitleri	485	38.2	360	28.3	102	8.0	186	14.6	41	3.2	97	7.7
Kırmızı et	29	2.3	271	21.3	325	25.6	234	18.4	255	20.1	157	12.3
Salam/sosis/ sucuk/ pastırma	83	6.5	356	28.0	272	21.4	194	15.3	146	11.5	220	17.3
Sakatat	9	0.7	54	4.2	70	5.5	82	6.5	188	14.8	868	68.3
Tavuk	94	7.4	577	45.4	287	22.6	169	13.3	74	5.8	70	5.5
Balıkçesitleri	6	0.5	88	6.9	143	11.3	268	21.1	493	38.8	273	21.4
Yumurta	256	20.1	471	37.1	214	16.8	166	13.1	67	5.3	97	7.6
Kurubaklagiller	78	6.1	503	39.6	345	27.2	176	13.8	75	5.9	94	7.4
Domates	287	22.6	574	45.2	187	14.7	136	10.7	37	2.9	50	3.9
Yeşilyapraklısebzeler	139	10.9	480	37.8	314	24.7	187	14.7	66	5.2	85	6.7
atates	237	18.6	645	50.7	214	16.8	118	9.3	26	2.0	31	2.6
Tazemeyve	203	16.0	539	42.4	234	18.4	197	15.5	59	4.6	39	3.1
Kurumeyve	81	6.4	245	19.3	275	21.7	263	20.7	214	16.8	193	15.1
Beyazekmek	646	50.9	168	13.2	67	5.3	210	16.5	33	2.6	146	11.5
Tahıllıekmekler	145	11.4	168	13.2	134	10.5	142	11.2	155	12.2	526	41.5
Pirinç	94	7.4	602	47.4	297	23.4	147	11.6	55	4.3	75	5.9
Bulgur	58	4.6	558	43.9	332	26.1	161	12.7	71	5.6	90	7.1
Makarna	77	6.1	549	43.2	290	22.8	178	14.0	75	5.9	101	8.0
Bal-reçeli, çikolata, vb.	333	26.3	441	34.7	205	16.1	157	12.4	64	5.0	70	5.5
Tereyağı	82	6.5	281	22.1	193	15.2	218	17.2	196	15.4	301	23.6
Çay	782	61.5	158	12.4	39	3.1	234	18.4	18	1.4	39	3.1
Kahve	260	20.5	446	35.1	193	15.2	199	15.7	66	5.2	106	8.3
Kola vegazlıçecekler	94	7.4	324	25.5	261	20.5	210	16.5	144	11.3	237	18.8
Hazır/TazeMeyveSuları	126	9.9	401	31.5	269	21.2	218	17.2	106	8.3	150	11.9
Fast Food	66	5.2	330	26.0	337	26.5	267	21.0	180	14.2	90	7.1

Sonuç

Araştırma sonuçlarına göre Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde okuyan öğrencilerin büyük çoğunluğunun normal BKİ'de olmasına rağmen düzensiz beslendikleri, yarısından fazlasının açıkta satılan yiyecekleri sıklıkla tükettiği, üçte birinden fazlasının ise ara öğünlerden en az bi-

rini hiç tüketmediği, öğle ana öğününü büyük çoğunlukla atladığı, bütün bunlara rağmen atıştırmalık tüketimlerinin fazla olduğu tespit edilmiştir. Haftalık fast-food tüketimi sıklığının ise sorgulanan diğer besin tüketim sıklıklarından daha fazla gözlenmiştir. Bütün bunlardan yola çıkarak, öğrencilerin ileriki yaşlarda çeşitli kronik hastalıklara yakalanmaması ve

sağlıklı bir yaşam sürmeleri için yeterli ve dengeli beslenmeleri ve sağlıklı beslenme alışkanlıkları kazanmaları şarttır. Bu nedenle üniversitelerde öğrencilere ayrıntılı beslenme eğitimi verilmesi ve sağlıklı beslenme konusunda daha ayrıntılı eğitim programlarının oluşturulması sağlanmalıdır.

Etik Standart ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik izni: Araştırmanın gerçekleştirileceği Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dekanlığından araştırmanın yapılması için gerekli yazılı izin ve üniversitenin etik kurulundan 19 Mart 2018 tarihinde 95674917-044-E.9674 sayılı etik onay alınmıştır.

Kaynaklar

Arlı, M., Şanlıer, N., Küçükkömürler, S., Yaman, M. (2017). *Anne ve çocuk beslenmesi*. Pegem Akademi, 43-44. ISBN 978-975-6802-68-7

Arslan, M. (2018). Beslenme alışkanlıkları ve fiziksel aktivite düzeylerinin analizi: Marmara Üniversitesi öğretim üyeleri üzerine bir çalışma. *Dicle Tıp Dergisi*, 45(1), 59-69.

Aydoğan-Arslan, S., Daşkapan, A., Çakır, B. (2016). Üniversite öğrencilerinin beslenme ve fiziksel aktivite alışkanlıklarının belirlenmesi. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 15(3), 171-180.

Ayhan, D.E., Günaydın E., Gönülaçık, E., Arslan, U., Çetinkaya, F., Asımı, H., Uncu, Y. (2012). Uludağ Üniversitesi tıp fakültesi öğrencilerinin beslenme alışkanlıkları ve bunları etkileyen faktörler. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 38(2), 97-104.

Chourdakis, M., Tzellos, T., Papazisis, G., Toulis, K., Kouvelas, D. (2010). Eating habits, health attitudes and obesity in dicesamong medica lstudents in northern Greece. *Appetite*, 55, 722-725.

Çalıştır, B., Dereli, F., Eksen, M., Aktaş, S. (2005). Muğla Üniversitesi öğrencilerinin beslenme konusunda bilgi düzeylerinin belirlenmesi. *Uluslararası İnsan Bilimleri Dergisi*, 2(2), 1-8.

Dülger, H., Mayda, A.S. (2016). Bartın Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu öğrencilerinde beslenme alışkanlıkları ve obezite prevalansı. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(3), 173-177.

Garipağaoğlu, M., Eliuz, B., Esin, K., Çağatay, P., Nalbant, H., Solakoğlu, Z. (2012). Tıp Fakültesi 1. sınıf öğrencilerinin beslenme durumlarının değerlendirilmesi. *İstanbul Tıp Dergisi*, 13(1), 1-8.

Glore, S.R., Walker, C., Chandler, A. (2013). Brief communication: dietary habits of first-year medical students as determined by computer software analysis of three day food records. *Journal of the American College of Nutrition*, 12, 517-520.

Güleç, M., Yabancı, N., Göçgeldi, E., Bakır, B. (2008). Ankara'da iki kız öğrenci yurdunda kalan öğrencilerin beslenme alışkanlıkları. *Gülhane Tıp Dergisi*, 50, 102-109.

Kaleli, S., Kılıç, N., Erdoğan, M., Erdoğan, N. (2017). Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencilerinin beslenme alışkanlıkları. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(2), 12-18.

Kılınç, F.N., Deniz Ç. (2012). Sağlık Meslek Lisesi öğrencilerinin beslenme alışkanlıklarının, beslenme bilgi düzeylerinin ve vücut bileşimlerinin değerlendirilmesi. *Türk Pediatri Arşivi Dergisi*, 47, 181-188.

Mazırcıoğlu, M.M., Öztürk, A. (2003). Üniversite 3 ve 4. sınıf öğrencilerinde beslenme alışkanlıkları ve bunu etkileyen faktörler. *Erciyes Tıp Dergisi*, 25(4), 172-178.

Onurlubaş, E., Doğan, H.G., Demirkıran, S. (2015). Üniversite öğrencilerinin beslenme alışkanlıkları. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32(3), 61-69.

Özdemir, G., Özdilek, Ç. (2010). Dumlupınar Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulunda okuyan ve aktif spor yapan öğrencilerin beslenme alışkanlıkları. *Dumlupınar Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, 26, 1-9.

Özgen, O., Gönen. E. (1989). Consumer behaviour of children in primary school age. *Journal of Consumer Studies and Home Economics*, 13, 175-187.

Özyağcıoğlu, N., Çınar, G.H., Buran, G., Ayverdi, D. (2009). Uludağ Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu öğrencilerinin beslenme alışkanlıkları. *Atatürk Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 12(2), 34-40.

Pekcan, G. (2008). Diyet el kitabı. In A. Baysal, M. Aksoy, N. Bozkurt, T.K. Merdol, G. Pekcan, T. Besler, S. Keçe-

- cioğlu, S.M. Mercangil& E. Yıldız (Eds.), Beslenme durumunun saptanması (s. 67-142). Ankara, Hatipoğlu Yayınevi. ISBN 975-7527-97-1
- Roldán, M.C., Herreros, P.V., Andrés, A.L., Sanz, J.M.C., Carbajal, A. (2005). Nutritional status assessment in a group of university students by means of dietary parameters and body composition. *Nutricion Hospitalaria*, 20, 197-203.
- Saygın, M., Öngel, K., Çalışkan, S., Yağlı, M.A., Has, M., Gonca, T., Kurt, Y. (2011). Süleyman Demirel Üniversitesi öğrencilerinin beslenme alışkanlıkları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 18(2), 43-47.
- Tanır, F., Şaşmaz, T., Beyhan, Y., Bilici, S. (2001). Doğan- kent beldesinde bir tekstil fabrikasında çalışanların beslenme durumu. *Türk Tabipler Birliği Mesleki Sağlık ve Güvenlik Dergisi*, Temmuz, 22-25.
- Topbaş-Bıyıklı, E., Bıyıklı, A.E., Çelik, B. (2018). Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencilerinin enerji ve besin ögesi alımlarının değerlendirilmesi. *Genel Tıp Dergisi*, 28(1), 28-33.
- Tözün, M., Sözmen, M.K., Babaoğlu, A.B. (2017). Türkiye'nin batısında bir üniversitenin sağlık ile ilişkili okullarında beslenme alışkanlıkları ve bunun obezite, fizik aktivite ve yaşam kalitesi ile ilişkisi. *Türk Dünyası Uygulama ve Araştırma Merkezi Halk Sağlığı Dergisi*, 2(1), 1-16.
- TÜBER, (2016). Türkiye beslenme rehberi 2015. In A.G. Pekcan, N. Şanlıer, M. Baş, S. Başoğlu & N. Acar-Tek (Eds), Türkiye için besin gruplarına göre besinlerin standart porsiyon ölçüleri ve miktarları-Ek/2 (s. 177-185). Ankara, T.C. Sağlık Bakanlığı yayın no:1031. ISBN 978-975-590-608-9
- Vaңçelik, S., Gürsel Önal, S., Güraksın, A., Beyhun, E. (2007). Üniversite öğrencilerinin beslenme bilgi ve alışkanlıkları ile ilişkili faktörler. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6(4), 242-248.
- Yılmaz, E., Özkan, S. (2007). Üniversite öğrencilerinin beslenme alışkanlıklarının incelenmesi. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 2(6), 87-104.



Review Article

ÇİĞ SÜT ve PASTÖRİZE SÜT TÜKETİMİNİN HALK SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Sefa Can Küçük , Artun Yıbar 

Cite this article as:

Küçük, S.C., Yıbar, A. (2019). Çiğ süt ve pastörize süt tüketiminin halk sağlığı üzerine etkileri. *Food and Health*, 5(3), 197-204. <https://doi.org/10.3153/FH19021>

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Besin Hijyeni ve Teknolojisi A.B.D.,
16059, Görükle, Bursa, Türkiye

ORCID IDs of the authors:
S.C.K. 0000-0002-0919-5874
A.Y. 0000-0001-9510-5734

Submitted: 12.09.2018
Accepted: 04.12.2018
Published online: 21.05.2019

Correspondence:
Artun YIBAR
E-mail: artunyibar@uludag.edu.tr



© Copyright 2019 by ScientificWebJournals

Available online at

<http://jfh.sciwebjournals.com>

ÖZ

Süt insanın büyümesi, gelişmesi ve yaşamını devam ettirmesi için gerekli olan hemen hemen tüm besin öğelerini içermektedir. Süt ve süt ürünleri tüketiminin besleyici ve sağlığa faydalı etkilerine rağmen, çiğ süt halk sağlığı üzerinde ciddi riskler oluşturabilecek *Salmonella*, *E. coli* ve *Listeria* gibi tehlikeli mikroorganizmaları barındırabilir. Çiğ sütte bulunabilecek olası patojen mikroorganizmaları tahrip edebilmek ve sütün besin değerini koruyabilmek için uluslararası normlarda kabul gören ısı işlemleri uygulanmaktadır. Pastörizasyon, belirli bir süre boyunca çiğ sütü belirli bir sıcaklığa kadar ısıtmak suretiyle zararlı bakterileri öldüren bir işlemdir. Pastörizasyon güvenli, besin öğeleri bakımından zengin süt ve süt ürünleri üretmeye yardımcı olurken, bazı araştırmacılar pastörizasyon işleminin sütteki önemli besin öğelerini yok ettiğini, çiğ sütün astım ve alerjilerin azaltılması gibi terapötik özelliklere sahip olduğunu ve daha güvenli bir alternatif olduğunu iddia etmektedir. Bu derlemede, literatürler eşliğinde pastörizasyonun sütün besin kalitesi üzerine etkisi ve çiğ sütün iddia edilen potansiyel faydaları eleştirel olarak anlatılmıştır.

Keywords: Çiğ süt, Pastörizasyon, Pastörize süt, Halk sağlığı

ABSTRACT

THE EFFECTS OF RAW MILK AND PASTEURIZED MILK CONSUMPTION ON PUBLIC HEALTH

Milk contains almost all the necessary nutrients needed for the growth, development and survival of a person. Despite the beneficial effects of consumption of milk and dairy products on nutrition and health, raw milk can harbor dangerous microorganisms such as *Salmonella*, *E. coli* and *Listeria*, which can pose serious health risks. In order to destroy possible pathogenic microorganisms that may be found in raw milk and to protect nutritional value, heat treatments accepted in international norms are applied. Pasteurization is a process that destroys harmful bacteria by heating the raw milk to a certain temperature for a certain period of time. While pasteurization helps provide safe, nutritious milk and cheese, some people claim that pasteurisation destroys important nutritional items in the milk, has the therapeutic properties of such as asthma and reduction of allergies, and is a safer alternative. In this review, in the conjunction with the literature, the effect of pasteurisation on the quality of milk nutrients and alleged potential benefits of raw milk are described as critical.

Keywords: Raw milk, Pasteurisation, Pasteurized milk, Public health

Giriş

Sağlığın yaşam boyu korunması, iyileştirilmesi ve geliştirilmesi için yeterli ve dengeli beslenmede süt ve süt ürünleri tüketimi önemli bir yere sahiptir. Süt, memelilerin neonatal dönemle beraber büyüme ve gelişmeleri için gereken enerji ve besin öğelerini sağlar. Besin öğesi içeriği açısından dengeli olan süt ve süt ürünleri hem çocukluk hem de yetişkinlik döneminde elzemdir (Pereira, 2014). Süt ve süt ürünleri tüketiminin besleyici ve sağlığa faydalı etkilerine rağmen, çiğ süt ve pastörize edilmemiş sütlerden elde edilen ürünlerin tüketilmesiyle ilişkili potansiyel bir halk sağlığı riski vardır (Vranjes vd., 2015). Çiğ sütte, hayvan derisinin yüzeyinde veya meme bezlerinde saprofit olarak yaşayan bakterilere ek olarak *Brucella* spp, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Coxiella burnettii*, *Cryptosporidium* spp, *Shigella* gibi patojenik mikroorganizmalar bulunabilir (AAP, 2014; Vranjes vd., 2015). Çiğ sütün besin bileşimi, pH'ı (pH 6.4-6.8) ve yüksek su aktivitesi (aw 0.97) gıda kaynaklı patojenlerin çoğalması için ideal bir ortamdır (Anonim, 2018). Bu nedenle çiğ süt ve süt ürünleri insanlarda gıda kaynaklı hastalıklarda sıklıkla bir enfeksiyon aracı olarak görülür (David, 2014; AAP, 2014). Çiğ süt tüketimine bağlı olarak çok sayıda epidemiyolojik salgın bildirilmiştir (Sarkar, 2016). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'ne (FDA) göre Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 1938'den önceki süt kaynaklı salgınlar, enfekte olmuş gıda ve su kaynaklı salgınların %25'ini oluşturmaktadır (FDA, 2017). Pastörizasyon, insan tüketimi için çiğ sütü güvenli hale getirmek için etkili bir yoldur (Mungai vd., 2015; Sarkar, 2016).

Pastörize edilmemiş sütün tüketilmesiyle ilişkili sağlık risklerine rağmen son zamanlarda doğal, geleneksel ve yerel gıdalara yönelik mevcut eğilimler nedeniyle çiğ süte olan talep artmıştır (Enticott, 2003; Mungai vd., 2015). ABD'li tüketicilerin önemli bir kısmının (%3.4) son zamanlarda çiğ süt tükettiği bildirilmiştir (Lucey, 2015). Pastörizasyon, 120 yılı aşkın bir süredir güvenli, besin öğeleri bakımından zengin süt ve peynir sağlamaya yardımcı olurken, bazı araştırmacılar pastörizasyonun süte zarar verdiğini ve çiğ sütün daha güvenli bir alternatif olduğuna inanmaya devam etmektedir (FDA, 2018a). Pastörize edilmemiş süt tüketimi ile ilişkili salgınlar halk sağlığı açısından ciddi bir sorun oluşturmaya devam etmektedir (Mungai vd., 2015). Çiğ süt tüketiminden kaynaklanan riskler ve potansiyel faydaları hakkında sürekli bir tartışma vardır. Bu derlemede, pastörizasyonun sütün besin kalitesi üzerine etkisi ve çiğ sütün sağlığa faydaları ve riskleri konularında bilgiler verilmiştir.

Pastörizasyon

Tüberküloz, geçtiğimiz yüzyılın başlarında görülen önemli bir halk sağlığı sorunu (Lucey, 2015). 1900 yılında insanlardaki tüberküloz vakalarının %10'unun sığır tüberkülozu basilinden kaynaklandığı ve 1910 yılında 300.000 sığırdan bulaşan tüberküloz salgınının Illinois kırsalı üzerinden yayıldığı ve yeni enfeksiyonların yaygınlaştığı tahmin edilmektedir (Czaplicki, 2007). Bu yaşanan önemli olaydan sonra, süt kaynaklı hastalıkların önlenmesi için 1924'te ABD Halk Sağlığı Hizmeti, devlet ve yerel süt kontrol kuruluşları tarafından gönüllü olarak benimsenmesi için Standart Süt Yönetmeliği olarak bilinen bir yönetmelik geliştirmiştir. Bu süt yönetmeliği "A Sınıfı Süt Yönetmeliği" (PMO) olarak adlandırılmakta ve yönetmeliğe uygun şekilde uyulması konusunda idari ve teknik detaylar sunmaktadır. Yönetmeliğe göre "pastörizasyon", "pastörize" ve benzeri terimler, süt veya süt ürününün her partikülünü, uygun bir şekilde tasarlanmış ve çalıştırılan ekipmanla, Tablo 1'de belirtilen sıcaklık ve süre kombinasyonlarının herhangi birinde gerçekleştirilen ısıtma işlemi olarak tanımlanır (FDA, 2017).

Tablo 1. Pastörizasyon için öngörülen sıcaklık ve zaman değerleri (FDA, 2017)

Table 1. Prescribed temperature and time values for pasteurization (FDA, 2017)

Sıcaklık	Zaman
63°C (145°F)*	30 dk
72°C (161°F)*	15 sn
89°C (191°F)	1.0 sn
90°C (194°F)	0.5 sn
94°C (201°F)	0.1 sn
96°C (204°F)	0.05 sn
100°C (212°F)	0.01 sn

* Süt ürününün yağ içeriği %10 yada daha fazla ise veya toplam %18 yada daha fazla katı madde içeriyorsa veya ilave edilmiş tatlandırıcılar içeriyorsa belirtilen sıcaklık 3°C (5°F) artırılmalıdır.

Tüberküloz içermeyen sürülerin belgelenmesi ve yönetilmesi çok zor hale geldiğinden ve büyük miktarlardaki sütü etkin maliyetli bir yaklaşımla işlenebilmesine imkan verdiğinden dolayı 1920'lerden bu yana süt ve süt ürünlerinin pastörizasyonu, süt kaynaklı enfeksiyonların insidansını önemli ölçüde azaltmış, günümüzde çok daha fazla kullanılan bir yöntem haline gelmiştir (Lucey, 2015; Yu ve Miller, 2016).

Pastörizasyon, sütteki patojen mikroorganizmaların vejetatif formlarının tamamını tahrip etmek, diğer mikroorganizmaların sayısını azaltmak ve sütün raf ömrünü uzatmak için gerçekleştirilir (David, 2014). Pastörizasyon uygun şekilde yapılmadığında (uygun zaman ve uygun sıcaklıklarda) patojen

mikroorganizmalar süttten tahrip edilemeyebilir. Bununla birlikte pastörizasyon daha sonra meydana gelebilecek, örneğin gıdaların taşınması sırasında ortaya çıkabilecek kontaminasyona karşı koruma sağlayamaz. Pastörizasyondan sonraki uygun gıda işleme uygulamaları ve süt ürünlerinin uygun bir sıcaklıkta muhafaza edilmesi kontaminasyon riskini azaltır (Langer vd., 2012). Pastörizasyon öncesi ve sonrasında sütün mikrobiyal kontaminasyonunu azaltmaya yönelik alınan önlemler potansiyel hastalık kaynaklarını daha da azaltmaktadır (Costard vd., 2017).

Birçok çiğ süt savunucusu, pastörizasyon işleminin sütteki önemli besin öğelerini yok ettiğini ve çiğ süttün astım ve alerjilerin azaltılması gibi terapötik özelliklere sahip olduğunu iddia etmektedir. Halk sağlığı yetkilileri, bu iddiaları güvenilir bilimsel kanıtların yokluğuna dayanarak tartışmaktadır (David, 2014). Bununla birlikte çiğ süt talebi son yıllarda artmaktadır (Yu ve Miller, 2016). ABD’de pastörize edilmemiş süttün neden olduğu salgınların sayısı 2007-2009 döneminde 30 iken 2010-2012 yılları arasında 51’e yükselmiştir (Mungai vd., 2015). Costard vd., (2017) yaptıkları bir çalışmada pastörize edilmemiş süt ürünleri tüketicilerinin hastalık riski pastörize süt ürünleri tüketicilerine göre 800 kat daha fazla bulunmuştur. Pastörize edilmemiş süt satışının yasak olduğu devlet sayısı 2004 yılında 29 iken 2011 yılında 20’ye düşmüştür. Pastörize edilmemiş süt ürünlerinin daha fazla bulunabilirliğine yönelik bu eğilim halk sağlığı kaygılarını arttırmaktadır. Pastörize edilmemiş süt ürünleri tüketiminin iki katına çıkması salgınla ilgili hastalıkları %96 oranında arttırabilir (Costard vd., 2017).

Pastörize Süt ve Süt Ürünlerine Karşı Çiğ Süttün Riskleri ve Faydaları

Besin kalitesi

Çiğ veya pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin sağlığa faydalı olduğunu destekleyen araştırmacılar, pastörizasyonun proteinler, karbonhidratlar, kalsiyum, vitaminler ve enzimler gibi sütteki önemli besin öğelerini yok ettiğini veya nötralize ettiğini savunmaktadır (Claeys vd., 2013; AAP, 2014). Ancak, pastörizasyon sırasında süttün besin kalitesinde önemli bir değişiklik olmamaktadır. Pastörizasyon, süttün protein kalitesinde herhangi bir değişikliğe neden olmaz. Süttün içerdiği proteinlerin yaklaşık %80’ini kazein ve geri kalan %20’sini ise serum proteinleri oluşturmaktadır. Pastörizasyondan dolayı sadece serum protein denatürasyonunun minör seviyelerde gerçekleştiği (<%7) bildirilmiştir. Bununla beraber, serum protein denatürasyonunun süttün besin kalitesi üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Tersine süt proteinleri sindirim enzimleri tarafından kolayca parçalanabilir hale gelmekte ve vücudun sütteki proteinlerden yararlanma oranı artmaktadır (Lucey, 2015). İn vitro yöntem kullanılarak yapılan bir çalışmada,

75°C/15s’de pastörize edilmiş ve 80°C/15s’de pastörize edilmiş süt arasında protein sindirilebilirliği açısından bir fark bulunamamıştır (FDA, 2018b). Canlı hayvanlar üzerinde, pastörizasyonun süttün besin kalitesi üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada, çiğ süt tüketen grup ile pastörize süt tüketen grup arasında kilo artışı, gıda alımı, gıda verimlilik oranı, protein verimlilik oranı ya da protein sindirilebilirliği açısından fark görülmemiştir (FDA, 2018b). Lacroix vd., (2006) tarafından yapılan bir başka hayvan çalışmasında, 72°C/20s veya 96°C/5s ısıtılmış süt ve çiğ süt arasında protein sindirilebilirliği açısından bir fark gözlenmemiştir.

Süttün başlıca karbonhidratı olan laktoz (süt şekeri) içeriğinde de pastörizasyon işlemi sonucunda beslenme açısından olumsuz herhangi bir değişim meydana gelmemektedir (Lucey, 2015).

Pastörizasyon süt yağı bileşimini etkilemediğinden dolayı bu konuyla ilgili araştırmalar çok daha az düzeyde kalmakla beraber pastörizasyonun insan süttü yağına etkisi üzerine çalışmalar yapılmıştır (FDA, 2018b). Bir annenin kendi süttü kullanılamıyorsa ya da kısa süreli beslenmede (yeni doğan bakım ünitelerinde sık görülen bir durum), Dünya Sağlık Örgütü ve Amerikan Pediatri Akademisi, en iyi alternatif olarak donör süt kullanımını önermektedir. İnsan süttü bankalarına verilen süt, viral ve bakteriyel ajanları inaktive edecek şekilde pastörize edilmelidir. İnsan süttü bankalarının oluşturulması için tüm uluslararası kılavuzlarda 30 dakika boyunca 62.5°C’de pastörizasyon işlemi tavsiye edilmektedir (Peila vd., 2016). Pastörizasyondan (62.5°C/30dk) sonra insan süttünün toplam yağ içeriği ve yağ asidi kompozisyonunda (doymuş, tekli doymamış, çoklu doymamış) hiçbir değişiklik gözlenmemiştir. İnsan süttü 100°C/5dk boyunca ısıtıldıktan sonra bile süt yağ asidi kompozisyonunda (çoklu doymamış uzun zincirli yağ asitleri dahil) herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (FDA, 2018b).

Süt içeriğindeki mineraller yüksek ısıya dayanıklı olduğundan dolayı pastörizasyon, mineral konsantrasyonlarında da herhangi bir değişikliğe neden olmamaktadır (Lucey, 2015). Hem in vivo hem de in vitro çalışmalar, pastörizasyonun süttün mineral içeriği ve mineral biyoyararlanımı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını göstermektedir (FDA, 2018b).

Pastörizasyon, süttün yağda çözünen A, D, E ve K vitaminleri ile suda çözünen B₁, B₂, B₃, B₅, B₇ ve B₁₂ vitamini miktarlarında çok küçük kayıplara neden olabilir (LeJeune ve Rajala-Schultz, 2009; Macdonald vd., 2011). C vitamini ve folik asitte önemli bir azalmaya neden olabilir ancak, süt bu vitaminlerin birincil kaynağı değildir ve sütte doğal olarak nispeten düşük seviyelerde bulunurlar. B₂ vitamini haricinde, pastörizasyon ile süttün vitamin içeriğinde meydana gelen deği-

şimler beslenme açısından önemsiz görülmektedir. İnek sütündeki doğal vitamin konsantrasyonları hayvanın cinsi, mevsim, ülke, yemdeki vitamin konsantrasyonları ve sağım sıklığı gibi birçok faktörün sonucu olarak önemli ölçüde farklılık gösterebilir (Macdonald vd., 2011). Çiğ sütün sağlıklı olduğunu savunan araştırmacılar, bazen süt bileşimindeki yem ile ilgili farklılıkları pastörizasyon sonucu meydana gelen değişiklikler ile karıştırabilmektedir. Ambalaj malzemeleri, sütün ışığa maruz kalma ve depolama süresi/sıcaklığı gibi diğer faktörler sütteki vitamin kayıpları üzerinde pastörizasyondan daha büyük bir etkiye sahiptir (Lucey, 2015). Bununla birlikte, pastörizasyondan kaynaklanan değişiklikler muhtemelen pastörizasyon koşullarının zaman ve sıcaklığına bağlıdır (Macdonald vd., 2011).

Laktoz intoleransı

Laktoz intoleransı, sütte doğal olarak bulunan disakkarit laktozun ince bağırsakta laktaz enzimi tarafından monosakkaritleri olan glikoz ve galaktoza hidrolize edilememesinden kaynaklanan yaygın bir gastrointestinal durumdur. Dünya nüfusunun yaklaşık %70'inde laktaz enziminin salınımında azalma vardır (Heine vd., 2017). Çiğ sütü destekleyen araştırmacılar tarafından ortaya atılan iddialardan birisi de, pastörize sütlerin laktoz intoleransına neden olmasıdır. Ancak çiğ ya da pastörize olsun tüm sütler laktoz içerir. Pastörizasyon, laktoz konsantrasyonunu değiştirmez ve laktozu bir formdan diğerine dönüştürmez. Çiğ sütü destekleyen araştırmacılar, çiğ sütün laktoz intoleransı semptomlarını önlediğini veya iyileştirdiğini de iddia etmektedir (FDA, 2018c). Bu araştırmacılar tarafından yapılan iddialardan diğeri, çiğ süt tüketiminin laktoz intoleransı semptomlarını azalttığı yönündedir. Laktoz malabsorpsiyonu olan yetişkinler arasında yapılan randomize kontrollü bir çalışmada, çiğ sütün laktoz malabsorpsiyonu veya laktoz intoleransı semptomlarını azaltmadığı gösterilmiştir (Mumma vd., 2014).

Alerji ve astım

Son yıllarda astım ve alerjik hastalıkların prevalansındaki artışın altında yatan sebepleri araştıran çalışmalar, kentsel ve kırsal yaşam koşulları, yaşam tarzı değişiklikleri, beslenme, bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan mikroorganizmalara maruz kalma gibi bir dizi alerjiden bağımsız çevresel faktörlerin alerjik riski etkilediğini göstermektedir (Macdonald vd., 2011; Abbring vd., 2017). Çevresel faktörler ile astım ve alerjinin artan prevalansı arasındaki ilişkiyi açıklamak için öne sürülen hijyen hipotezi, çiftlikte büyümenin astım ve alerji riskini azalttığını gösteren epidemiyolojik çalışmalar ile desteklenmektedir. Bu koruyucu etkiye katkıda bulunduğu öne sürülen çiftlikle ilgili maruziyetler, canlı hayvanlara temas, hayvan yemi ile temas, çiğ ve işlenmemiş inek sütü tüketimi

ile ilgilidir (Abbring vd., 2017). Çalışmalardan elde edilen tutarlı bir bulgu, çiftliklerde yetiştirilen çocuklarda alerjik hipersensitivite ve hastalıkların insidansının düşük olmasıdır. Bununla birlikte, çiftlik yaşamının alerjik riskini azaltma nedenleri spekülatiftir. Birkaç epidemiyolojik çalışma, kanıtlanmamış olsa da, pastörize edilmemiş çiftlik sütü tüketiminin çiftlik yaşamının koruyucu etkisine katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Tse ve Horner, 2008). Savunulan bir başka görüş, A1- β -kazein varyantına sahip ineklerden elde edilen sütün β -kazomorfin-7 adı verilen bir peptit içerdiği ve bunun da laktoz intoleransı semptomlarına ve sağlıkla ilgili diğer sorunlara neden olabileceğidir. Yapılan bir çalışmada, genellikle küçük aile çiftliklerinde yetiştirilip merada otlatılan Jersey ve Guernsey ırkı ineklerden elde edilen çiğ sütlerin tipik olarak A2 β -kazein varyantına sahip oldukları, buna karşılık yaşam alanları sınırlanan ve hazırlanmış yem rasyonları ile beslenerek endüstriyel yetiştiriciliği yapılan Holstein ırkı ineklerden elde edilen çiğ sütün ise A1 varyantına sahip oldukları bildirilmiştir (Truswell, 2005). Savunulan çiğ sütün yararı, inek ırkı (A1'e karşı A2) ve yetiştirilme şekli (serbest alan ve ota beslenenlere karşı sınırlı alan ve yem rasyonu) ile ilgili olabilir (Mullin ve Belkoff, 2014). Bununla birlikte, çiftlik yaşamının alerjik risk üzerindeki koruyucu etkisinin çok faktörlü olabileceği muhtemeldir (Tse ve Horner, 2008) ve altta yatan mekanizmalar henüz anlaşılmamıştır. Çiğ süt her daim patojen mikroorganizmalar tarafından kontamine olabilir ve bu nedenle çiğ süt tüketimi, alerjik hastalıkları koruyucu bir önlem olarak tavsiye edilemez (Fahrländer-Braun ve Mutius, 2010).

Kesitsel çalışmalar, çiğ inek sütünün astım ve alerjiye karşı koruyucu etkilerinin süt prosesi ile ortadan kaldırıldığını öne sürmektedir (Abbring vd., 2017). Yapılan bir çalışmada çiğ, pastörize (75°C/15s) ve homojenize/pastörize süt tüketiminin süt alerjisi olan çocuklarda (12-40 aylık) benzer alerjik reaksiyonlar gösterdikleri ve üç tip sütü de tolere edemedikleri sonucuna varılmıştır (FDA, 2018b). Süt alerjen potansiyeline sahip 20'den fazla protein bileşeni içerse de, kazein ve β -laktoglobulin majör alerjenler olarak kabul edilir (Castillo ve Cassola, 2017). Serum proteinlerinden farklı olarak kazeinlerin ısı işleme karşı oldukça dirençli olduğu ve pastörizasyondan (70-80°C/15-20sn) sonra alerjen özelliklerini korudukları bildirilmiştir (Castillo ve Cassola, 2017). Bu nedenle, pastörizasyonun süt proteinlerinin alerjenitesini değiştirmemesi şaşırtıcı değildir (FDA, 2018b).

Antimikrobiyal sistemler ve faydalı mikroflora

Sütte antimikrobiyal özelliklere sahip enzimler (laktoperoksidaz, lizozim, ksantin oksidaz) ve proteinler (laktoferrin, immünoglobulinler, bakteriyosinler) doğal olarak bulunur (Claeys vd., 2013). Çiğ sütü savunan araştırmacıların iddialarının

aksine, pastörizasyon sütteki doğal antimikrobiyal bileşenleri tamamen inaktif hale getirmemektedir (FDA, 2018b). Süt, 72°C’de 15 sn ısıtıldığında laktoperoksidaz aktivitesinin %70’ini, 80°C’de 15 sn ısıtıldığında lizozim aktivitesinin %75’inden fazlasını ve 73°C’de 7 dk veya 80°C’de 50 sn ısıtıldığında ksantin oksidaz enzimatik aktivitesini korur. 62.7°C’de 30 dk boyunca ısıtıldığında immünoglobulin aktivitesinde kayıp olmaz. Yüksek sıcaklıkta kısa süreli (HTST) pastörizasyondan sonra aktivitesinin %59-76’sını korur. Laktoferrin ve bakteriyosin pastörize süt içindeki aktivitesini korur (LeJeune ve Rajala-Schultz, 2009). Antimikrobiyal bileşiklerin çiğ sütün güvenliğini sağladığı ve patojen mikroorganizmaları öldürdüğü iddiasını destekleyen bilimsel bir kanıt yoktur (FDA, 2018b). Antimikrobiyal sistemler çiğ sütte patojen gelişimini engelleyemez. Mastit etkenli süt genellikle yüksek seviyelerde laktoferrin ve immünoglobulin içerir. Bu da sütün enfekte olduğunu ve bu bakteriyel enfeksiyona karşı savaşmak için antibakteriyel sistemlerin yükseldiğini gösterir (Chaneton vd., 2008; Lucey, 2015; Musayeva vd., 2016).

Probiyotikler, yeterli miktarda alındığı zaman konakçı sağlığı üzerinde olumlu etki yapan, yararlı canlı mikroorganizmalardır (Jarde vd., 2018). Çiğ süt savunucusu araştırmacılar faydalı bakterilerin varlığı nedeniyle çiğ sütün sağlıklı olduğunu iddia etmektedir (FDA, 2018b). Probiyotiklerin insan sağlığı üzerine istenen faydalı etkiyi sağlayabilmeleri için ürün tüketimi sırasında ihtiyaç duyulan minimum canlı mikroorganizmayı içermesi gerekmektedir (Markowiak ve Slizewska, 2017). Çiğ sütün probiyotik bir etkiye sahip olabilmesi için çiğ sütün içerisinde mevcut olan miktardan 1000-10000 kat daha fazla olması gerekmektedir (Claeys vd., 2013). Probiyotik mikroorganizmalar patojenik olmamalıdır (Taşdemir, 2017). Bunun aksine çiğ süt *E.coli*, *Salmonella* spp., *C.jejuni*, *L.monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* gibi patojenik mikroorganizmaları barındırabilir. Çiğ sütün yetersiz mikrobiyolojik kalitesi ve sahip olduğu mikroorganizma sayısı hayvanın sağlığı, sütle temas eden alet ve ekipman, üretici çiftlikteki çevre kirliliği ve depolama koşulları gibi çeşitli faktörlerin sonucudur (Sarkar, 2016). Probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığı üzerinde olumlu etkili olabilmesi için insan kaynaklı olmalıdır (Taşdemir, 2017). Ancak, çiğ sütün içindeki bakteriler tipik olarak insan kaynaklı değildir. Bifidobakteriler insan ve hayvanların sindirim sisteminde doğal olarak bulunan probiyotik bakterilerdir. Çiğ süt savunucuları tarafından çiğ sütte bulunan bifidobakteriler probiyotik olarak kabul edilmektedir (FDA, 2018b). Hijyen kurallarına uygun olarak toplanan sütler bifidobakteri içermemelidir. Çiğ sütte bifidobakterilerin varlığı fekal kontaminasyonun olası bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Beerens vd., 2000; Delcenserie vd., 2005; Delcenserie vd., 2011).

Tüketicilerin Süt Tüketim Tercih Modelleri

Tüketicilerin sosyo-ekonomik ve demografik özellikleri süt ve süt ürünleri tüketim tercihlerini önemli düzeyde etkileyebilmektedir. Bunlardan özellikle yaş, cinsiyet, eğitim, gelir ve ailedeki birey sayısının süt tüketimini etkilediği bildirilmektedir. Tokat-Turhal ilçesindeki ailelerin süt tüketim tercihlerini ve tüketimlerini etkileyen sosyo-ekonomik ve demografik faktörleri değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada, ailelerin büyük bir kısmının (%84.87) açık süt tükettiği tespit edilmiştir. Açık sütün yoğurt yapımına uygun olması, sağlıklı olması ve güvenilir olması bu düşüncelerinin en önemli nedenlerini oluşturduğu saptanmıştır (Gözener ve Sayılı, 2013). İstanbul ili kentsel alanda yapılan bir araştırmada, ailelerin %26.5’inin açık süt, %26.2’sinin pastörize süt tercih ettikleri tespit edilmiştir (Karakaya ve Akbay, 2014). Güzeler ve Esmek (2017)’in Osmaniye ilinde yaptığı bir araştırmada, ilkokul öğrencilerinin %52.2’sinin sokak sütü tercih ettiği gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, tüketiciler çiğ sütün daha sağlıklı ve sindirimini daha kolay olduğuna inandıkları için tükettiklerini belirtmişlerdir (Mullin ve Belkoff, 2014). Onurlubaş ve Yılmaz (2013)’in Edirne’de yapmış olduğu araştırmada, ailelerin gelir düzeyi arttıkça ambalajlı süt tüketiminin de arttığı belirlenmiştir. Topçu vd., (2016) düşük gelirli tüketicilerin (1.500 TL’den daha az) işlenmemiş ham sütün besin değeri ve duyu kalitesi ile ilişkili temel faydayı satın alma modelinin odak noktası olarak kabul ettiğini belirtmiştir.

Çiğ veya Pastörize Edilmemiş Süt ve Süt Ürünlerinin Tüketimi ile İlgili Ulusal ve Uluslararası Kuruluşlardan Öneriler

Gıda güvenliği ile ilgili önemli bir halk sağlığı önlemi olarak pastörize süt ve süt ürünleri tüketme prensiplerini neredeyse tüm ulusal ve uluslararası kuruluşlar güçlü bir şekilde desteklemektedir. Bunlar arasında Dünya Sağlık Örgütü (WHO, 2018), FDA (FDA, 2018a), Kodeks Alimentarius Komisyonu, Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (Vranjes vd., 2015), ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri, Amerikan Pediatri Akademisi (Langer vd., 2012), Amerikan Tıp Derneği, Amerikan Veteriner Hekimler Birliği, Uluslararası Gıda Koruma Derneği (AAP, 2014), T.C. Sağlık Bakanlığı (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2018) sayılabilir.

Sonuç

Süt ve süt ürünleri, yeterli ve dengeli beslenme için gerekli olan birçok besin ögesini yeterli oranda içeren ve insan yaşamının her aşamasında tüketilmesi gereken temel gıda maddesidir. Çiğ süt tüketiminin sağlığa faydaları bilimsel olarak kanıtlanmamış olsa da sağlık riskleri açıktır. Çiğ süt ve pastörize edilmemiş süt, ciddi sağlık risklerine neden olan patojen

mikroorganizmaları barındırabilir. Çiğ süt patojen bakterileri içerebilmesi nedeni ile özellikle bağışıklık sistemi zayıflamış kişiler, yaşlı yetişkinler, hamile kadınlar, bebekler ve çocuklar için tehlikeli olabilir. Bu nedenle çiğ süt doğrudan tüketime uygun değildir. Pastörizasyon, sütün besin kalitesi üzerinde önemli bir değişiklik olmaksızın çiğ sütü güvenli hale getirmek için etkili bir yöntemdir. Pastörize süt ve süt ürünlerinin tüketimini FDA ve diğer ulusal ve uluslararası kuruluşlar güçlü bir şekilde desteklemektedir.

Etik Standart ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Kaynaklar

AAP. (2014). Consumption of raw or unpasteurized milk and milk products by pregnant women and children. *Pediatrics*, 133(1), 175-179.

Abbring, S., Verheijden, K.A.T., Diks, M.A.P., Leusink-Muis, A., Hols, G., Baars, T., Garssen, J., van Esch B.C.A.M. (2017). Raw cow's milk prevents the development of airway inflammation in a murine house dust mite-induced asthma model. *Frontiers in Immunology*, 8, 1-10.

Anonim (2018). Milk as a growth medium. <https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/milk-growth-medium> (Erişim Tarihi: 30.08.2018).

Beerens, H., Perriere B.H.B., Gavini, F. (2000). Evaluation of the hygienic quality of raw milk based on the presence of bifidobacteria: the cow as a source of faecal contamination. *International Journal of Food Microbiology*, 54(3), 163-169.

Castillo, D.S., Cassola, A. (2017). Novel sensitive monoclonal antibody based competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of raw and processed bovine beta-casein. *Plos One*, 12(7), 1-19.

Chaneton, L., Tirante, L., Malto, J., Chaves, J., Bussmann, L.E. (2008). Relationship between milk lactoferrin and etiological agent in the mastitic bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 91, 1865-1873.

Claeys, W.L., Cardoen, S., Daube, G., Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., Zutter, L.D., Huyghebaert, A., Imberechts, H., Thiange, P., Vandenplas, Y., Herman, L. (2013). Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food Control*, 31, 251-262.

Costard, S., Espejo, L., Groenendaal, H., Zgmutt, F.J. (2017). Outbreak-related disease burden associated with consumption of unpasteurized cow's milk and cheese, united states, 2009-2014. *Emerging Infectious Diseases*, 23(6), 957-964.

Czaplicki, A. (2007). Pure milk is better than purified milk. *Social Science History*, 31(3), 411-433.

David, S.D. (2014). Raw milk and the first amendment: Implications for public health policy and practice. *Public Health Reports*, 129, 455-457.

Delcenserie, V., Bechoux, N., China, B., Daube, G., Gavini, F. (2005). A PCR method for detection of bifidobacteria in raw milk and raw milk cheese: comparison with culture-based methods. *Journal of Microbiological Methods*, 61, 55-67.

Delcenserie, V., Gavini, F., China, B., Daube, G. (2011). Bifidobacterium pseudolongum are efficient indicators of animal fecal contamination in raw milk cheese industry. *BioMed Central Microbiology*, 11, 1-9.

Enticott, G. (2003). Risking the rural: nature, morality and the consumption of unpasteurised milk. *Journal of Rural Studies*, 19(4), 411-424.

Fahrländer, C.B., Mutius, E.V. (2010). Can farm milk consumption prevent allergic diseases. *Clinical and Experimental Allergy*, 41, 29-35.

FDA. (2017). Grade "A" Pasteurized Milk Ordinance-2017 Revision. <https://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Milk/UCM612027.pdf> (Erişim Tarihi: 30.08.2018).

FDA. (2018a). The Dangers of Raw Milk: Unpasteurized Milk Can Pose a Serious Health Risk. <https://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/buytoreservesafefood/ucm079516.htm> (Erişim Tarihi: 30.08.2018).

FDA. (2018b). Raw Milk Misconceptions and the Danger of Raw Milk Consumption. <https://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/BuyStoreServeSafeFood/ucm247991.htm> (Erişim Tarihi: 30.08.2018).

- FDA. (2018c). Problems Digesting Dairy Products?. <https://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm094550.htm> (Erişim Tarihi: 30.08.2018).
- Gözener, B., Sayılı, M. (2013). Tüketicilerin açık süt ve süt ürünleri tüketim tercihlerinin incelenmesi: Tokat-Turhal ilçesi örneği. *Sosyal Bilimler Araştırmaları Dergisi*, 1, 160-175.
- Güzeler, N., Esmek, E.M. (2017). Okul sütü programı: Osmaniye ili örneği. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 32(2), 15-26.
- Heine, R.G., AlRefaee, F., Bachina, P., De leon, J.C., Geng, L., Gong, S., Madrazo, J.A., Ngamphaiboon, J., Ong, C., Rogacion, J.M. (2017). Lactose intolerance and gastrointestinal cow's milk allergy in infants and children-common misconceptions revisited. *World Allergy Organization Journal*, 10, 1-8.
- Jarde, A., Lewis-Mikhael, A.M., Moayyedi, P., Stearns J.C., Collins, S.M., Beyene, J., McDonald, S.D. (2018). Pregnancy Outcomes in women taking probiotics or prebiotics: a systematic review and meta-analysis. *BioMed Central Pregnancy and Childbirth*, 18(1), 1-14.
- Karakaya, E., Akbay, C. (2014). İstanbul ili kentsel alanda tüketicilerin açık ve paket süt tüketim alışkanlıkları. *Tarım Ekonomisi Dergisi*, 20(1), 17-27.
- Lacroix, M., Leonil, J., Bos, C., Henry, G., Airinel, G., Fauquant, J., Tome, D., Gaudichon, C. (2006). Heat markers and quality indexes of industrially heat-treated [¹⁵n] milk protein measured in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1508-1517.
- Langer, A.J., Ayers, T., Grass, J., Lynch, M., Angulo, F.J., Mahon, B.E. (2012). Nonpasteurized dairy products, disease outbreaks, and state laws- United States, 1993-2006. *Emerging Infectious Diseases*, 18(3), 385-391.
- LeJeune, J.T., Rajala-Schultz, P.J. (2009). Food safety: unpasteurized milk: a continued public health threat. *Clinical Infectious Diseases*, 48(1), 93-100.
- Lucey, J.A. (2015). Raw milk consumption. *Nutrition Today*, 50(4), 189-193.
- Macdonald, L.E., Brett, J., Kelton, D., Majowicz, S.E., Snedeker, K., Sargeant, J.M. (2011). A systematic review and meta-analysis of the effects of pasteurization on milk vitamins, and evidence for raw milk consumption and other health-related outcomes. *Journal of Food Protection*, 77(11), 1814-1832.
- Markowiak, P., Slizewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1-30.
- Mullin, G.E., Belkoff, S.M. (2014). Survey to determine why people drink raw milk. *Global Advances Health and Medicine*, 3(6), 19-24.
- Mumma, S., Oelrich, B., Hope, J., Vu, Q., Gardner, C.D. (2014). Effect of raw milk on lactose intolerance: a randomized controlled pilot study. *Annals of Family Medicine*, 12(2), 134-141.
- Mungai, E.A., Behraves, C.B., Gould, L.H. (2015). Increased outbreaks associated with nonpasteurized milk, United States, 2007-2012. *Emerging Infectious Diseases*, 21(1), 119-122.
- Musayeva, K., Sederevicius, A., Zelvyte, R., Monkeviciene, I., Beliavska-Aleksiejune, D., Kerziene, S. (2016). Concentration of lactoferrin and immunoglobulin G in cows' milk in relation to health status of the udder, lactation and season. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(4), 737-744.
- Onurlubaş, E., Yılmaz, N. (2013). The factors affecting milk consumption preferences of the consumers in Edirne Keşan township. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 11(3&4), 516-518.
- Peila, C., Moro, G.E., Bertino, E., Cavallarin, L., Giribaldi, M., Giuliani, F., Cresi, F., Coscia, A. (2016). The effect of holder pasteurization on nutrients and biologically-active components in donor human milk human milk: A review. *Nutrients*, 8(8), 1-19.
- Pereira, P.C. (2014). Milk Nutritional Composition and its role in human health. *Nutrition*, 30, 619-627.
- Sarkar, S. (2016). Microbiological safety concerns of raw milk. *Journal of Food Nutrition and Dietetics*, 1(2), 1-7.
- Taşdemir, A. (2017). Probiyotikler, prebiyotikler ve sinbiyotikler. *Kastamonu Sağlık Akademisi*, 2(1), 71-88.
- T.C. Sağlık Bakanlığı. (2018). Sağlıklı Bir Gelecek İçin Süt İçin. <https://www.saglik.gov.tr/TR,2552/brsaglikli-bir-gelecek-icin-sut-icin.html> (Erişim Tarihi: 30.08.2018).

- Topcu, Y., Baram, D., Denizli, G. (2016). Tüketicilerin süt tüketim tercih modellerini temel alan pazarlama taktik ve stratejilerinin belirlenmesi. *Alınteri Zirai Bilimler Dergisi*, 31, 18-32.
- Truswell, A.S. (2005). The A2 milk case: a critical review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 59(5), 623-631.
- Tse, K., Horner, A.A. (2008). Allergen tolerance versus the allergic march: The hygiene hypothesis revisited. *Current Allergy and Asthma Reports*, 8(6), 475-483.
- Vrankes, A.P., Popovic, M., Jevtic, M. (2015). Raw milk consumption and health. *Srpski Arhiv za Celokupno Lekarstvo*, 143(1-2), 87-92.
- WHO. (2018). The challenges of preventing bovine tuberculosis. <http://www.who.int/bulletin/volumes/96/2/18-020218/en/> (Erişim Tarihi: 30.08.2018).
- Yu, J., Miller, R.L. (2016). Got milk? Understanding the farm milk effect in allergy and asthma Prevention. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 137(6), 1707-1708.



Instructions to Authors

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the Committee on Publication Ethics (COPE), the European Association of Science Editors (EASE), the International Council of Medical Journal Editors (ICMJE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal conforms to the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (<https://doaj.org/bestpractice>).

Originality, high scientific quality, and citation potential are the most important criteria for a manuscript to be accepted for publication. Manuscripts submitted for evaluation should not have been previously presented or already published in an electronic or printed medium. The journal should be informed of manuscripts that have been submitted to another journal for evaluation and rejected for publication. The submission of previous reviewer reports will expedite the evaluation process. Manuscripts that have been presented in a meeting should be submitted with detailed information on the organization, including the name, date, and location of the organization.

Manuscripts submitted to “**Food and Health**” will go through a double-blind peer-review process. Each submission will be reviewed by at least two external, independent peer reviewers who are experts in their fields in order to ensure an unbiased evaluation process. The editorial board will invite an external and independent editor to manage the evaluation processes of manuscripts submitted by editors or by the editorial board members of the journal. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all submissions.

An approval of research protocols by the Ethics Committee in accordance with international agreements (World Medical Association Declaration of Helsinki “Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects,” amended in October 2013, www.wma.net) is required for experimental, clinical, and drug studies. If required, ethics committee reports or an equivalent official document will be requested from the authors.

For manuscripts concerning experimental research on humans, a statement should be included that shows the written informed consent of patients and volunteers was obtained following a detailed explanation of the procedures that they may undergo. Information on patient consent, the name of the ethics committee, and the ethics committee approval number should also be stated in the Materials and Methods section of the manuscript. It is the authors’ responsibility to carefully protect the patients’ anonymity. For photographs that may reveal the identity of the patients, signed releases of the patient or of their legal representative should be enclosed.

“**Food and Health**” journal requires experimental research studies on vertebrates or any regulated invertebrates to comply with relevant institutional, national and/or international guidelines. The journal supports the principles of Basel Declaration

(<https://www.basel-declaration.org/>) and the guidelines published by International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS) (<http://iclas.org/>). Authors are advised to clearly state their compliance with relevant guidelines.

“**Food and Health**” journal advises authors to comply with IUCN Policy Statement on Research Involving Species at Risk of Extinction and the Convention on the Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora for research involving plants.

All submissions are screened by a similarity detection software (iThenticate by CrossCheck).

In the event of alleged or suspected research misconduct, e.g., plagiarism, citation manipulation, and data falsification/fabrication, the Editorial Board will follow and act in accordance with COPE guidelines.

Each individual listed as an author should fulfil the authorship criteria recommended by the ICMJE. The ICMJE recommends that authorship be based on the following 4 criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
3. Final approval of the version to be published; AND
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

In addition to being accountable for the parts of the work he/she has done, an author should be able to identify which co-authors are responsible for specific other parts of the work. In addition, authors should have confidence in the integrity of the contributions of their co-authors.

All those designated as authors should meet all four criteria for authorship, and all who meet the four criteria should be identified as authors. Those who do not meet all four criteria should be acknowledged in the title page of the manuscript.

“**Food and Health**” journal requires corresponding authors to submit a signed and scanned version of the authorship contribution form (available for download through <http://scientificwebjournals.com/JFHS/FHCopyrightandAuthorContributionForm2019.pdf>) during the initial submission process in order to act appropriately on authorship rights and to prevent ghost or honorary authorship. If the editorial board suspects a case of “gift authorship,” the submission will be rejected without further review. As part of the submission of the manuscript, the corresponding author should also send a short statement declaring that he/she accepts to undertake all the responsibility



for authorship during the submission and review stages of the manuscript.

“**Food and Health**” journal requires and encourages the authors and the individuals involved in the evaluation process of submitted manuscripts to disclose any existing or potential conflicts of interests, including financial, consultant, and institutional, that might lead to potential bias or a conflict of interest. Any financial grants or other support received for a submitted study from individuals or institutions should be disclosed to the Editorial Board. To disclose a potential conflict of interest, the ICMJE Potential Conflict of Interest Disclosure Form should be filled in and submitted by all contributing authors. Cases of a potential conflict of interest of the editors, authors, or reviewers are resolved by the journal’s Editorial Board within the scope of COPE and ICMJE guidelines.

The Editorial Board of the journal handles all appeal and complaint cases within the scope of COPE guidelines. In such cases, authors should get in direct contact with the editorial office regarding their appeals and complaints. When needed, an ombudsperson may be assigned to resolve cases that cannot be resolved internally. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all appeals and complaints.

When submitting a manuscript to “**Food and Health**” journal, authors accept to assign the copyright of their manuscript to **ScientificWebJournals**. If rejected for publication, the copyright of the manuscript will be assigned back to the authors. “**Food and Health**” journal requires each submission to be accompanied by a Copyright Transfer Form (available for download at <http://scientificwebjournals.com/JFHS/FHCopyrightandAuthorContributionForm2019.pdf>). When using previously published content, including figures, tables, or any other material in both print and electronic formats, authors must obtain permission from the copyright holder. Legal, financial and criminal liabilities in this regard belong to the author(s).

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in “**Food and Health**” journal reflect the views of the author(s) and not the opinions of the editors, the editorial board, or the publisher; the editors, the editorial board, and the publisher disclaim any responsibility or liability for such materials. The final responsibility in regard to the published content rests with the authors.

MANUSCRIPT PREPARATION

The manuscripts should be prepared in accordance with ICMJE-Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (updated in December 2017 - <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>). Authors are required to prepare manuscripts in accordance with the CONSORT guidelines for randomized research studies, STROBE guidelines for observational studies, STARD guidelines for studies on diagnostic

accuracy, PRISMA guidelines for systematic reviews and meta-analysis, ARRIVE guidelines for experimental animal studies, TREND guidelines for non-randomized studies, and COREQ guidelines for qualitative studies.

Manuscripts can only be submitted through the journal’s online manuscript submission and evaluation system, available at <http://dergipark.gov.tr/journal/1646/submission/start>.

Manuscripts submitted to the journal will first go through a technical evaluation process where the editorial office staff will ensure that the manuscript has been prepared and submitted in accordance with the journal’s guidelines. Submissions that do not conform to the journal’s guidelines will be returned to the submitting author with technical correction requests.

Authors are required to submit the following forms during the initial submission.

- Copyright Transfer Form,
- Author Contributions Form (one form for copyright and contributions available in <http://scientificwebjournals.com/JFHS/FHCopyrightandAuthorContributionForm2019.pdf>)
- ICMJE Potential Conflict of Interest Disclosure Form (should be filled in by all contributing authors) Download this form from <http://www.icmje.org/conflicts-of-interest/> fill and save. Send this to the journal with your other files.

Preparation of the Manuscript

Title (should be clear, descriptive and not too long)

Full Name(s) and Surname (s) of author(s)

ORCID ID for all author (s) (<http://orcid.org/>)

Address (es) of affiliations and e-mail (s)

Complete correspondence address and e-mail

Abstract

Key words (indexing terms), normally 3-6 items

Introduction

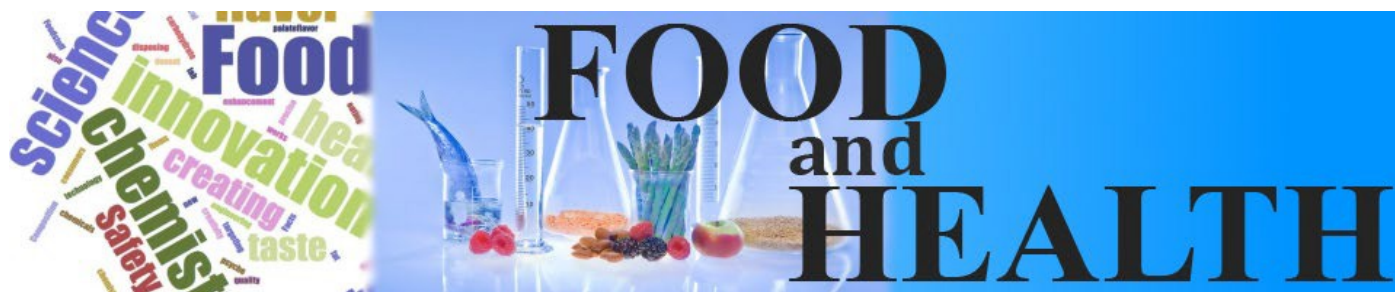
Material and Methods

Results and Discussion

Conclusion

Compliance with Ethical Standard

Conflict of interests: When you (or your employer or sponsor) have a financial, commercial, legal or professional relationship with other organizations or people working with them, a conflict of interest may arise that may affect your research. A full description is required when you submit your article to a journal.



Ethics committee approval: Ethical committee approval is routinely requested from every research article based on experiments on living organisms and humans. Sometimes, studies from different countries may not have the approval of the ethics committee, and the authors may argue that they do not need the approval of their work. In such situations, we consult COPE’s “Guidance for Editors: Research, Audit and Service Evaluations” document and evaluate the study at the editorial board and decide whether or not it needs approval.

Financial disclosure: If there is any, the institutions that support the research and the agreements with them should be given here.

Acknowledgment: Acknowledgments allow you to thank people and institutions who assist in conducting the research.

References

Tables

Figures

Manuscript Types

Original Articles: This is the most important type of article since it provides new information based on original research. The main text should contain Introduction, “Materials and Methods”, “Result and Discussion” and Conclusion sections.

Statistical analysis to support conclusions is usually necessary. Statistical analyses must be conducted in accordance with international statistical reporting standards. Information on statistical analyses should be provided with a separate subheading under the Materials and Methods section and the statistical software that was used during the process must be specified.

Units should be prepared in accordance with the International System of Units (SI).

Review Articles: Reviews prepared by authors who have extensive knowledge on a particular field and whose scientific background has been translated into a high volume of publications with a high citation potential are welcomed. These authors may even be invited by the journal. Reviews should describe, discuss, and evaluate the current level of knowledge of a topic in researches and should guide future studies. The main text should start with Introduction and end with Conclusion sections. Authors may choose to use any subheading in between those sections.

Short Communication: This type of manuscript discusses important parts, overlooked aspects, or lacking parts of a previously published article. Articles on subjects within the scope of the journal that might attract the readers’ attention, particularly educative cases, may also be submitted in the form of a “Short Communication” Readers can also present their comments on the published manuscripts in the form of a “Short Communication”. The main text should contain Introduction, “Materials and Methods”, “Result and Discussion” and Conclusion sections.

Table 1. Limitations for each manuscript type

Type of manuscript	Page	Abstract word limit	Reference limit
Original Article	≤25	180	40
Review Article	no limits	180	60
Short Communication	≤5	150	20

Tables

Tables should be included in the main document, presented after the reference list, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text. A descriptive title must be placed above the tables. Abbreviations used in the tables should be defined below the tables by footnotes (even if they are defined within the main text). Tables should be created using the “insert table” command of the word processing software and they should be arranged clearly to provide easy reading. Data presented in the tables should not be a repetition of the data presented within the main text but should be supporting the main text.

Figures and Figure Legends

Figures, graphics, and photographs should be submitted as separate files (in TIFF or JPEG format) through the submission system. The files should not be embedded in a Word document or the main document. When there are figure subunits, the subunits should not be merged to form a single image. Each subunit should be submitted separately through the submission system. Images should not be labelled (a, b, c, etc.) to indicate figure subunits. Thick and thin arrows, arrowheads, stars, asterisks, and similar marks can be used on the images to support figure legends. Like the rest of the submission, the figures too should be blind. Any information within the images that may indicate an individual or institution should be blinded. The minimum resolution of each submitted figure should be 300 DPI. To prevent delays in the evaluation process, all submitted figures should be clear in resolution and large (minimum dimensions: 100 × 100 mm). Figure legends should be listed at the end of the main document.

All acronyms and abbreviations used in the manuscript should be defined at first use, both in the abstract and in the main text. The abbreviation should be provided in parentheses following the definition.

When a drug, product, hardware, or software program is mentioned within the main text, product information, including the name of the product, the producer of the product, and city and the country of the company (including the state if in USA), should be provided in parentheses in the following format: “Discovery St PET/CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA)”



All references, tables, and figures should be referred to within the main text, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text.

Limitations, drawbacks, and the shortcomings of original articles should be mentioned in the Discussion section before the conclusion paragraph.

References

Reference System is APA 6th Edition

In-text Citation with APA

The APA style calls for three kinds of information to be included in in-text citations. The **author's last name** and the work's **date of publication** must always appear, and these items must match exactly the corresponding entry in the references list. The third kind of information, the page number, appears only in a citation to a direct quotation.

....(Crockatt, 1995).

Direct quote from the text

"The potentially contradictory nature of Moscow's priorities surfaced first in its policies towards East Germany and Yugoslavia," (Crockatt, 1995, p. 1).

Major Citations for a Reference List in Table 2.

Table 2.

Material Type	Reference List/Bibliography
A book in print	Baxter, C. (1997). <i>Race equality in health care and education</i> . Philadelphia: Ballière Tindall, p. 110-115, ISBN 4546465465
A book chapter, print version	Haybron, D.M. (2008). Philosophy and the science of subjective well-being. In M. Eid & R. J. Larsen (Eds.), <i>The science of subjective well-being</i> (p. 17-43). New York, NY: Guilford Press. ISBN 4546469999
An eBook	Millbower, L. (2003). <i>Show biz training: Fun and effective business training techniques from the worlds of stage, screen, and song</i> . p. 92-90. Retrieved from http://www.amacombooks.org/ (accessed 10.10.2015).
An article in a print journal	Carter, S., Dunbar-Odom, D. (2009). The converging literacies center: An integrated model for writing programs. <i>Kairos: A Journal of Rhetoric, Technology, and Pedagogy</i> , 14(1), 38-48.
Preview article in a journal with DOI	Gaudio, J.L. & Snowdon, C.T. (2008). Spatial cues more salient than color cues in cotton-top tamarins (<i>Saguinus oedipus</i>) reversal learning. <i>Journal of Comparative Psychology</i> , https://doi.org/10.1037/0735-7036.122.4.441
Websites - professional or personal sites	<i>The World Famous Hot Dog Site</i> . (1999, July 7). Retrieved January 5, 2008, from http://www.xroads.com/~tcs/hotdog/hotdog.html (accessed 10.10.2015).
Websites - online government publications	U.S. Department of Justice. (2006, September 10). Trends in violent victimization by age, 1973-2005. Retrieved from http://www.ojp.usdoj.gov/bjs/glance/vage.htm (accessed 10.10.2015).
Photograph (from book, magazine or webpage)	Close, C. (2002). <i>Ronald</i> . [photograph]. Museum of Modern Art, New York, NY. Retrieved from http://www.moma.org/collection/object.php?object_id=108890 (accessed 10.10.2015).
Artwork - from library database	Clark, L. (c.a. 1960's). <i>Man with Baby</i> . [photograph]. George Eastman House, Rochester, NY. Retrieved from ARTstor.
Artwork - from website	Close, C. (2002). <i>Ronald</i> . [photograph]. Museum of Modern Art, New York. Retrieved from http://www.moma.org/collection/browse_results.php?object_id=108890 (accessed 10.10.2015).

Note: All second and third lines in the APA Bibliography should be indented.

REVISIONS

When submitting a revised version of a paper, the author must submit a detailed "Response to the reviewers" that states point by point how each issue raised by the reviewers has been covered and where it can be found (each reviewer's comment, followed by the author's reply and line numbers where the changes have been made) as well as an annotated copy of the main document. Revised manuscripts must be submitted within 30 days from the date of the decision letter. If the revised version of the manuscript is not submitted within the allocated time, the revision option may be cancelled. If the submitting author(s) believe that additional time is required, they should request this extension before the initial 30-day period is over.

Accepted manuscripts are copy-edited for grammar, punctuation, and format. Once the publication process of a manuscript is completed, it is published online on the journal's webpage as an ahead-of-print publication before it is included in its scheduled issue. A PDF proof of the accepted manuscript is sent to the corresponding author and their publication approval is requested within 2 days of their receipt of the proof.