

## ISPARTA'DA ÜRETİLEN EŞEK SÜTÜNÜN KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Merve Şahintürk\*, Zübeyde Öner

Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta/ Türkiye

Geliş / *Received*: 08.12.2016; Kabul / *Accepted*: 07.03.2017; Online baskı / *Published online*: 31.03.2017

Şahintürk, M., Öner, Z. (2017). Isparta'da üretilen eşek sütünün kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA* (2017) 42 (4): 348-354 doi: 10.15237/gida.GD16105

### Öz

Bu çalışmada 13 adet eşek sütünün kimyasal özelliklerinden kuru madde (%), yağ (%), pH ve titrasyon asitliği (°SH) değerleri belirlenmiştir. Mikrobiyolojik analizlerden toplam aerobik mezofil bakteri (TAMB), laktik asit bakterileri (LAB), koliform grup bakteri, enterokok, stafilokok/ mikrokok ve *Staphylococcus aureus* analizleri gerçekleştirilmiştir. Eşek sütünün protein profili Sodyum Dodesil Sulfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) yöntemi ile belirlenmiştir. Eşek sütlerinde pH, titrasyon asitliği, kuru madde ve yağ değerleri sırasıyla 7.16-7.62, 2.0-3.5, 8.42-9.82, 0.40-0.95 aralıklarında değişim göstermiştir. Örneklerin toplam mezofil aerob bakteri sayısı 3.12-7.48 log kob/mL, laktobasil ve laktokok sayısı 3.35-5.58 log kob/mL, 4.3-6.93 log kob/mL, enterokok 3.55-5.01 log kob/mL, koliform grup bakteri sayısı 3.51-6.45 log kob/mL, stafilokok/mikrokok sayısı 3.53-6.31 log kob/mL olarak saptanmıştır. Tüm süt örneklerinde *Staphylococcus aureus*'a rastlanmamıştır.

**Anahtar kelimeler:** Eşek sütü, fiziksel özellikler, kimyasal özellikler, SDS-page

## DETERMINATION OF CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF DONKEY'S MILK PRODUCED IN ISPARTA

### Abstract

In this study, dry matter (%), fat (%), pH and titratable acidity (°SH) values were determined from chemical properties of 13 donkey's milk. Total aerobic mesophilic bacteria (TAMB), lactic acid bacteria (LAB), coliform group bacteria, enterococci, staphylococcus/micrococcus and *Staphylococcus aureus* analyses were performed. Donkey's milk protein profile determined by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-page) method. pH, titratable acidity, dry matter and fat values ranged from 7.16 to 7.62, 2.0 to 3.25, 8.42 to 9.82, 0.40 to 0.95 respectively. The total mesophilic aerob bacteria counts of the samples were determined 3.12-7.48 log-cfu/mL, *Lactobacilli* and *Lactococci* 3.35-5.58 log-cfu/mL, 4.3-6.93 log-cfu/mL, *Enterococci* spp 3.55-5.01 log-cfu/mL, Coliform group bacteria counts 3.51-6.45 log-cfu/mL and *Staphylococcus/micrococcus* 3.53-6.31 log-cfu/mL. *Staphylococcus aureus* was not detected in all milk samples.

**Keywords:** Donkey milk, physical properties, chemical properties, SDS-page

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ mervesahintrk@hotmail.com,

☎ (+90) 507 546 2823,

☎ (+90) 246 211 1538

## GİRİŞ

Süt, bebekler ve yetişkinler için önemli besin bileşenlerini içeren, bağışıklık sistemini koruyucu, biyolojik olarak aktif bileşenleri barındıran bir gıda maddesidir (1). Son yıllarda, inek haricindeki memeli hayvanların (keçi, eşek, kısrak, deve) sütlerinden anne sütüne en yakın olanı belirlemek için çalışılmaktadır. Eşek sütü fonksiyonel içeriğinden ve anne sütüne benzerliğinden dolayı inek sütü yerine önerilmektedir. İçerdiği yüksek oranda serum proteinleri, esansiyel yağ asitleri, immünooglobülinler, laktoferrin ve lizozim gibi bileşenler sayesinde sağlık açısından önemli gıdalar arasında görülmektedir. Yağ asitlerinden linolenik ve linoleik asitleri yüksek düzeyde bulundurması eşek sütünün kolesterol düşürücü aktiviteye sahip olmasını sağlamaktadır. Ayrıca böbrek sağlığını koruma, damar sertliğini önleme, bağışıklık sistemi hastalıklarını engelleme ve akciğer tümörüne karşı etkili olduğu yönünde yapılan çalışmalar bulunmaktadır (2). Bileşiminde yüksek oranda bulunan lizozim ve laktoferrin etkisiyle bakteri yükünün az olması da onu avantajlı kılan özelliğidir. Vitamin ve mineral madde yönünden zengin olan eşek sütü yaşlanmayı geciktirici özelliğe sahip olmasının yanında, kimyasal bileşiminin anne sütüne benzerlik göstermesi ve kazeinle serum proteinleri arasında iyi bir dengenin bulunması onu çok yönlü bir besin kaynağı haline getirmektedir (3).

Bu çalışmada; ülkemiz coğrafyasında yaşayan eşeklerin sütlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesinin yanı sıra protein profilinin diğer sütler ile mukayesesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Araştırmada 13 adet eşek sütü örneği Isparta'da bulunan Hayat Eşek Çiftliği'nden temin edilmiş ve numuneler steril şartlar altında laboratuvara getirilmiştir.

### Yöntem

#### Kimyasal Analizler

Laboratuvara getirilen eşek sütlerinde önce mikrobiyolojik analizler için numune alınmış daha sonra kimyasal analizlerden toplam kuru

madde, pH, titrasyon asitliği ve yağ analizleri yapılmıştır. Kimyasal analizlerden kuru madde içeriği (%), yağ içeriği (%) ve titrasyon asitliği (°SH) TS 1018 çiğ süt standardında belirtilen yöntemle tespit edilmiştir (4). Örneklerin pH değeri ise WTW İnoLab dijital pH metre kullanılarak belirlenmiştir.

#### Mikrobiyolojik Analizler

Analizi yapılacak örneklerden uygun dilüsyonlar hazırlanarak toplam bakteri sayısı için Plate Count Agar (PCA), laktik asit bakterilerinden laktokoklar için M17 agar, laktobasiller için Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar, koliform grubu bakteri için Eosin Metilen Blue Agar (EMB), stafilkok/mikrokok ve *Staphylococcus aureus* için Baird Parker Agar (BPA), enterokoklar için Azide Dextrose Agar isimli besiyerlerine ekim yapılarak uygun sıcaklık ve sürede inkübasyona bırakılmıştır (5).

#### Sodyum Dodesil Sulfat Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE)

Eşek sütünün protein profilinin belirlenmesinde %30 akrilamid çözeltisi, %10 SDS, %10 amonyum per sulfat, 1.5 M Tris-HCl (pH 8,8) ve 1.0 M Tris-HCl (pH 6,8) kullanılmıştır (6). Jeller hazırlandıktan sonra 15 µL örnek ve 10 µL standart yüklenmiştir. Hazırlanan elektrofrez düzeneği 100 V sabit akım altındaki sistemde yaklaşık 3 saat boyunca yürütülmüştür. Oluşan bantların optik dansitometresi ve yaklaşık moleküler ağırlıkları ImageJ 1.45 ve Gel Jel Analyzer 2010 programları ile hesaplanmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Kimyasal Analiz Sonuçları

Kuru madde miktarı laktasyon periyodu boyunca değişkenlik gösterir. Ayrıca hayvan yaşının etkisi, yemin etkisi, hayvanların psikolojik durumu ve bakımın etkisi kuru madde miktarını etkilemektedir. Çizelge 1'de görüldüğü üzere eşek sütünün kuru madde içeriği ortalama %9.19 olarak belirlenmiştir. Eşek sütünün toplam kuru madde miktarı genel olarak kısrak sütüne (%10.2-11.0) benzer olup, anne sütüne (%11.7-12.9) ve inek sütüne (%12.5-13.0) oranla daha düşüktür (7). Di Renzo ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada eşek sütünün kuru madde içeriğinin %10.1, keçi sütünün ise %14.6 olduğunu rapor etmişlerdir (8).

Çizelge 1. Eşek sütünün kimyasal analizleri (n=13)

Table 1. Chemical analysis of donkey Milk (n=13)

Kuru Madde (%) Dry Matter (%)	Yağ (%) Fat (%)	Asitlik (°SH) Acidity (°SH)	pH pH
9.19±0.39	0.58±0.18	2.68±0.41	7.35±0.11

Eşek sütü, düşük doymuş yağ asidi oranı ve içerdiği esansiyel yağ asitleri ile insan metabolizmasının temel fonksiyonları için önemli bir besin kaynağıdır. Eşek sütünün yağ içeriği ortalama %0.58 olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Ortalama yağ miktarı kısırak sütü (%1.2) ile benzerlik gösterirken anne sütü (%3.5-4.0) ve inek sütünden (%3.5-3.9) oldukça düşüktür (9, 10). Yapılan çalışmalarda yağ içeriğinin 0.62 g/100 g (8), 0.57 g/100 ml (11), 0.02-2.05 g/100 g aralığında (12) olduğu bildirilmiştir. Emzirme dönemlerinde yağ içeriğinde farklılıklar gözlemlenmiştir (7).

Eşek sütünün titrasyon asitliği 2.68 °SH olarak bulunmuştur (Çizelge 1). Bu veriler düşük kazein, fosfat ve sitrat içeriği ile ilişkilidir. Sütün asitliği, bileşimindeki maddelerle ilgili olduğu için, farklı bileşimdeki sütlerin asitlik dereceleri farklı olacaktır (7). Eşek sütünün titrasyon asitliği inek sütünden (6.2-8.9 °SH) ve anne sütünden (9-10 °SH) oldukça düşüktür (13). Ayrıca Salimei ve

### Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Çizelge 2'de görüldüğü gibi eşek sütlerinde toplam mezofil aerobik bakteri sayısı ortalama 5.53 log kob/mL olarak belirlenmiş ve farklı günlerde alınan eşek sütlerindeki toplam bakteri yoğunluğu 3.12-7.48 log kob/mL aralığında değişim göstermiştir. Sayımlar arasında görülen farklılıklar temizlik ve dezenfeksiyona verilen önemin değişken olduğunu göstermektedir. Salimei ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada; eşek sütünün toplam bakteri sayısının ortalama 4.46 log kob/mL olduğunu rapor etmişlerdir (7). Ivankovic ve ark. (2009) yaptığı çalışmada eşek sütünün ortalama somatik hücre sayısını 4.09 log kob/mL ve toplam bakteri sayısını 3.58 log kob/mL olarak belirlemişlerdir. Mikroorganizma ve somatik hücre sayılarının koyun, keçi ve inek sütünün değerlerinden düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Bu durum hijyen ve meme sağlığı için olumlu veriler olarak kabul edilmiştir (14).

Çizelge 2. Eşek sütünün mikrobiyolojik sayım sonuçları (n=13) (log kob/mL)

Table 2. Microbiological counts of donkey milk (n=13) (log cfu/mL)

TMAB TMAB	Stap/Mikro Stap/Micro	Koliform Coliform	Lb. Lb.	Lc. Lc.	Enterococcus Enterococcus
5.53±0.99	4.71± 0.76	4.31±2.08	5.03± 0.65	5.84 ± 0.69	2.27± 2.23

TMAB: Toplam Mezofilik Aerob Bakteri, Stap/Mikro: *Staphylococcus/Micrococcus* spp, Lb: *Lactobacillus*, Lc: *Lactococcus*  
TMAB: Total Mesophilic Aerob Bacteria, Stap/Mikro: *Staphylococcus/Micrococcus* spp, Lb: *Lactobacilli*, Lc: *Lactococci*

ark. (2004) çalışmalarında eşek sütünün ortalama titrasyon asitliği 2.72 °SH olarak belirlenmiştir (7). Eşek sütünün pH değeri 7.35 olarak tespit edilmiştir. Eşek sütü laktasyon periyodu boyunca çok fazla bir değişikliğe uğramamakta ve bu özelliği ile kısırak sütüne (7.18) benzerlik göstermektedir (12). Titrasyon asitliğinde belirtilen düşük kazein ve fosfat içeriği pH değeri için de geçerlidir (7). Eşek sütünün pH değeri inek sütünden (6.6-6.8) yüksek, anne sütüne (7.0-7.5) ise yakındır (10). Eşek sütünün pH değerini Malissiovo ve ark. (2016) 6.68-7.60 aralığında, Mariani ve ark. (2001) ise ortalama 7.03 olarak tespit etmişlerdir (11, 12).

Çalışmamızda *Staphylococcus aureus*'a rastlanmamakla beraber stafilocok/mikrokok sayısı ortalama 4.71 log kob/mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 2). Zhang ve ark. (2008) ve Malissiova ve ark. (2016) yaptıkları çalışmalarda *S. aureus*'a rastlanmamıştır. Bununla beraber stafilocok sayısının ortalama  $1.6 \times 10^3$  kob/mL olmak üzere en çok  $3.6 \times 10^3$  kob/mL olduğunu bildirmişlerdir (3, 11). Stafilocok/mikrokoklar çığ süte pek çok kaynaktan bulaşır. En önemli bulaşma kaynağı mastitisli hayvanlardır. Sağımda ellerden gelen bir bulaşma da söz konusu olabilir. Bu sonuçlar, özensiz sağım, sağımdan sonra yetersiz soğutma, ortamın hijyen eksikliği ve yetersiz sanitasyondan kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızda koliform grubu bakteri sayısı ortalama 4.34 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Saric ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada; eşek sütününün 4 °C' de 6 gün depolanması sonucu oluşan mikrobiyel değişimi incelemişler ve ilk dört gün eşek sütünde koliform grubu bakteriye rastlamamışlardır (15). Zhang ve ark. (2008) ise koliform grubu bakteri sayısını 2.13 log kob/mL olarak rapor etmişlerdir (3). Koliform grubu bakteriler gıdalarda ve doğada yaygın olarak bulunurlar. Dışkı aracılığıyla bulaşma özellikle süt ve süt ürünleri başta olmak üzere hayvansal gıdalarda oldukça fazladır. Literatürdeki bazı çalışmalarda koliform grubu bakteriye rastlanmaması ya da çalışmamızda elde ettiğimiz verilerden daha az saptanması analiz edilen eşek sütüne insan ya da hayvan dışkısı veya toprak bulaştığını, kötü ve yetersiz hijyen koşullarına işaret etmektedir.

Eşek sütlerindeki laktobasil sayısı ortalama 5.03 log kob/mL ve laktokok sayısı 5.84 log kob/mL olarak değişmektedir. Eşek sütününün mikroflorasını en yaygın temsil eden tür laktik asit bakterilerdir (16, 17). Zhang ve ark. (2008) eşek sütünde yaptıkları çalışmada laktik asit bakteri sayısının 4.24 log kob/mL olduğunu, Saric ve ark. (2012) ise söz konusu değerini 2.31 log kob/mL olduğunu belirtmişlerdir (3, 15).

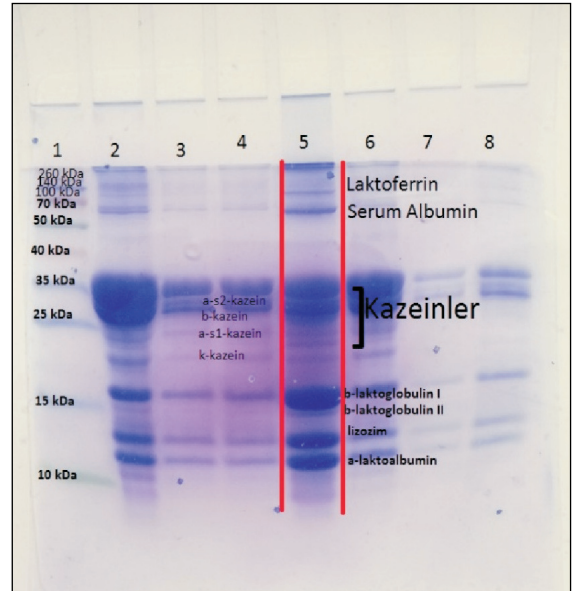
Yaptığımız çalışmada, enterokok sayısı bazı numunelerde gelişme olmamakla birlikte ortalama 2.27 log kob/mL olarak bulunmuştur. Enterokoklar her zaman, her yerde bulunabilen mikroorganizmalardır. Yeterli olmayan hijyen koşulları ile enterokoklar, yerleşik flora haline gelerek sürekli gıdalara bulaşabilirler. Fekal kontaminasyon indikatörü olarak enterokoklar sayılabilirler. Süt ürünlerinde ve diğer gıdalarda yüksek oranlarda bulunabilirler. Enterokok sayısının fazla olması hijyen eksikliğinin bir göstergesidir.

Malissiovo ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada; eşek sütününün mikrobiyel içeriğinin oldukça düşük olduğunu, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes*'in tespit edilemediğini rapor etmişlerdir (11). Eşek sütü, bebek veya yaşlılar tarafından tercih edilecekse, beslenme gereksinimlerinin yanı sıra hijyenik açıdan da değerlendirmek gereklidir. Avrupa Birliğinin 853/2004 sayılı yönetmeliğine göre sütte 30°C'de bakteri yükünün <1500000/mL olması gerektiği Polidori ve ark. (2009) çalışmalarında belirtilmiştir (18). Avrupa ülkelerinde üretilen çiğ eşek

sütünde, gıda kaynaklı patojenler genellikle tespit edilmemiştir. Ayrıca toplam bakteri sayısı da düşüktür. Bununla birlikte eşek sütü, memenin sağlıklı olması ve hayvanların uygun hijyenik koşullarda sağılması durumunda güvenli bir gıda olduğu belirtilmiştir (19).

### Sodyum Dodesil Sulfat Poliakrilamid Jel Elektroferez Sonuçları

Eşek sütündeki proteinlerin elektroferez jel görüntüsü literatürdeki veriler ile benzerlik göstermektedir. Serum proteinlerinden  $\beta$ -laktoglobulin bantta baskın görünümündedir.  $\beta$ -lg'den sonra baskın olan serum proteini  $\alpha$ -laktalbumin'dir. Diğer minör serum proteinlerinden immunoglobulinler, laktoferrin ve serum albümini zayıf olarak elektroforetik jelin üst kısmında tespit edilmiştir. Eşek sütünde düşük konsantrasyonda olan bu proteinler, Coomassie Blue boyasına zor tutunmuştur (Şekil 1).



Şekil 1. SDS-PAGE ile kazein ve serum proteinlerinin belirlenmesi (1. bant: Marker, 2, 3, 4, 6, 7, 8. bantlar: pH 4.6'da çöken eşek sütü kazeinleri, 5. bant: pH 4.6'da çökmeyen eşek sütü serum proteinleri)

Figure 1. SDS-PAGE of casein and whey protein bands (1.band: Marker, 2,3,4,6,7,8, bands: Caseins precipitated at pH 4.6, .5 band: whey protein fraction soluble at pH 4.6)

Çalışmamızda eşek sütündeki proteinlerin yaklaşık moleküler ağırlıkları ve serum proteinlerinin yoğunlukları tespit edilmiştir. Buna göre  $\beta$ -lg,  $\alpha$ -la, lizozim, serum albumin ve laktoferrinin yoğunlukları

sırasıyla %29.88, %16.97, %16.93, %8.57, %5.71 olarak tespit edilmiştir. Eşek sütü albüminli sütler grubunda olduğundan kazein fraksiyonları iz miktardadır. Kazeinlerin yaklaşık moleküler ağırlıkları 19-26 kDa aralığındadır. Benzer şekilde Malacarne ve ark. (2002), Salimei ve ark. (2004), Vincenzetti ve ark. (2008) ve Bidasolo ve ark. (2012) kazein fraksiyonlarının moleküler büyüklüğünün 30 kDa civarında olduğunu bildirmişlerdir (7, 20-22). Salimei ve ark. (2004) laktoferrin, serum albümin, lizozim,  $\alpha$ -la,  $\beta$ -lg isimli serum proteinlerinin yoğunluklarını sırasıyla %4.48, %6.18, %21.03, %22.56 ve %29.85; moleküler ağırlıklarını ise sırasıyla 75 kDa, 67 kDa, 17 kDa, 12 kDa ve 19 kDa olarak ifade etmişlerdir (7).

Eşek sütünün protein içeriği (%55 toplam protein) inek sütü ile kıyaslandığında (%80 toplam protein) daha düşüktür. Eşek sütündeki kazein fraksiyonları üzerine ilk çalışma,  $\beta$ -kazein ve  $\alpha_{s1}$ -kazeinin identifikasyonu üzerine olmuştur (20-23). Ancak yapılan bir çalışmada, proteomik yaklaşım ile  $\alpha_{s1}$ -kazein,  $\alpha_{s2}$ -kazein,  $\kappa$ -kazein ve  $\beta$ -kazeinle birlikte farklı fosforilasyon ve glikolizasyon seviyeleri tespit edilmiştir. Bu nedenle, 30 kDa civarında, elektroforetik bantlar muhtemelen dört kazein fraksiyonu içermektedir (24). Criscione ve ark. (2009) eşek ve inek sütündeki  $\alpha_{s1}$ -kazeinlerin birincil yapılarında önemli değişiklikler olduğunu ve bu özellikler ile eşek sütü alerjik reaksiyonları daha iyi tolere ettiğini belirtmişlerdir (23). Goldfarb ve ark. (1989) 125 anne sütünde iki boyutlu elektroforez sistemi kullanmışlar ve  $\alpha_{s1}$ -kazein sadece bazı süt örneklerinde saptanmıştır (25).

Yağsız eşek sütünün SDS-PAGE profili, kısırak sütüyle benzerlik göstermektedir (13,26). Potansiyel alerjenik reaksiyonların başlıca nedeni olarak gösterilen  $\beta$ -lg yüzdesi, inek sütünden daha az miktardadır ve  $\beta$ -lg toplam serum proteinlerinin %50'si kadar olabilir (27). Ayrıca eşek sütünün  $\beta$ -lg düzeyi, kısırak sütüne eşit ya da daha düşük seviyededir (28,29). Bu bulgular ile birlikte muhtemelen düşük kazein içeriği, eşek ve kısırak sütünde anti alerjenik olarak rapor edilmektedir (30-33).  $\beta$ -lg, bebeklerde ve çocuklarda asıl süt alerjeni iken; yetişkinlerde baskın alerjen olarak kazein kabul edilmektedir (34).

Araştırmada serum proteinlerinden olan laktoferrin oranı %5.71 ve lizozim ise %16.93 olarak tespit edilmiştir. Eşek sütü antimikrobiyel aktivite

gösteren iki serum proteini açısından zengindir. Bunlar laktoferrin (serum proteininin %4'ünden fazla) ve lizozim (serum proteininin yaklaşık %21'i)'dir (7). Eşek ve kısırak sütünün serum proteinlerindeki en büyük fark lizozim yüzdesidir. Eşek sütünün lizozim oranı kısırak sütünden yaklaşık %10.5 fazladır (3,21,28). İnek sütünde ise iz miktarda rastlanılmıştır (27).

## SONUÇ

Eşek sütü diğer memeli hayvanların sütleri ile karşılaştırıldığında kuru madde, yağ, asitlik değerlerinin daha düşük, pH değerinin ise daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik açıdan ise oldukça yüksek sayıda mikroorganizma yüküne sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum ülkemiz şartlarında, mevsimsel değişikliklerin yanı sıra, sağım şartlarının uygun olmamasından, meme ve ortam temizliğinden kaynaklanmaktadır. Sütün sağımından önce hem ortamın hem sağım makinelerinin etkin temizliğinin yapılması mikrobiyolojik yönden kaliteyi etkilemekle beraber doğru sağım ve hijyen koşulları mikroorganizma yükünü aşağıya çekecektir. Protein profili bakımından kısırak sütüne benzer özellik göstermektedir. Ancak bu konuda yapılacak daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (SDÜ\_BAP) tarafından (4440-YL1-15) desteklenmiştir. Eşek sütlerinin temin edildiği Hayat Eşek Çiftliği'ne ve SDÜ BAP birimine desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Clare DA, Swaisgood HE. 2000. Bioactive Milk Peptides: A Prospectus. *J Dairy Sci*, 83(6): 1187-95.
2. Bidasolo BI, Ramos M, Gomez-Ruiz JA. 2012. In Vitro Simulated Gastrointestinal Digestion of Donkeys' Milk. Peptide Characterization by High Performance Liquid Chromatography tandem MassSpectrometry. *Int Dairy J*, 24: 146-152.
3. Zhang X, Zhao L, Jiang L, Dong M, Ren F. 2008. The Antimicrobial Activity of Donkey Milk and Its Microflora Changes During Storage. *Food Control*, 19: 1191-119.

4. Anon 2002. TS 1018 "İnek Sütü-Çiğ", Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
5. Halkman AK (ed). 2005. *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Başak Matbaacılık Ankara, Türkiye, 358 p.
6. Laemmli UK. 1970. Cleavage of Structural Protein During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
7. Salimei E, Fantuz F, Coppola R, Chiofalo B, Polidori P, Varisco G. 2004. Composition and Characteristics of Ass's Milk. *Anim Res*, 53: 67-78.
8. Di Renzo GC, Altieri G, Genovese F. 2013. Donkey Milk Powder Production and Properties Compared to Other Milk Powders. *Int J Dairy Sci Technol* 93 (4-5 SD): 551-564.
9. Doreau M, Martin-Rosset W. 2002a. Dairy Animals: Horse. In: Roginski, J. A. Fuquay, P. F. Fox (Eds.). In: *Encyclopedia of Dairy Sci*, London, UK: Academic Press, pp 630-637.
10. Guo HY, Pang K, Zhang XY, Zhao L, Chen SW, Dong ML, Ren FZ. 2007. Composition, Physicochemical Properties, Nitrogen Fraction Distribution, and Amino Acid Profile of Donkey Milk. *J Dairy Sci*, 90: 1635-1643.
11. Malissiova E, Arsenos G, Papademas P, Fletouris D, Manouras A, Aspri M, Nikolopoulou A, Giannopolou A, Arvanitoyannis I. 2016. Assessment of Donkey Milk Chemical Microbiological and Sensory Attributes in Greece and Cyprus. *J Soc Dairy Technol*, 69: 143-146.
12. Mariani P, Summer A, Martuzzi F, Formaggioni P, Sabbioni A, Catalano AL. 2001. Physicochemical Properties, Gross Composition, Energy Value and Nitrogen Fractions of Haflinger Nursing Mare Milk Throughout 6 Lactation Months. *Anim Res*, 50: 415-425.
13. Pagliarini E, Solaroli G, Peri C. 1993. Chemical and Physical Characteristics of Mare's Milk. *Ital J Food Sci*, 4: 323-332.
14. Ivankovic A, Ramljak J, Stulina I, Antunac N, Basic I, Kelava N. 2009. Characteristics of the Lactation, Chemical Composition and Milk Hygiene Quality of The Littoral-Dinaric Ass. *Mljekarstvo*, 59: 107-113.
15. Saric L, Saric BM, Mandic AI, Torbica AM, Tomic JM, Cvetkovic DD, Okanovic DG. 2012. Antibacterial Properties of Domestic Balkan Donkeys' Milk. *Int Dairy J*, 25: 142-146.
16. Coppola R, Salimei E, Succi M, Sorrentino E, Nanni M, Ranieri P. 2002. Behaviour of *Lactobacillus Rhamnosus* Strains in Ass's Milk. *Ann Microbiol*, 52, 55-60.
17. Sorrentino E, Di Renzo T, Succi M, Reale A, Tremonte P, Coppola R, Salimei E, Colavita G. 2010. Microbiological Characteristics of Raw Ass's Milk: Manual Vs. Machine Milking. 61st Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, Book of Abstract, 16: 44.
18. Polidori P, Beghelli D, Mariani P, Vincenzetti S. 2009. Donkey Milk Production: State of the Art. *Ital J Anim Sci*, 8(2): 677-683.
19. Pilla R, Dapra V, Zecconi A, Piccinini R. 2010. Hygienic and Health Characteristics of Donkey Milk During a Follow-Up Study. *J Dairy Res*, 77: 392-397.
20. Vincenzetti S, Polidori P, Mariani P, Cammertoni N, Fantuz F, Vita A. 2008. Donkey's Milk Protein Fractions Characterization. *Food Chem*, 106: 640-649.
21. Malacarne M, Martuzzi F, Summer A, Mariani P. 2002. Protein and Fat Composition of Mare's Milk: Some Nutritional Remarks with Reference to Human and Cow's milk. *Int Dairy J*, 12: 869-877.
22. Bidasolo BI, Ramos M & Gomez-Ruiz JA. 2012. In Vitro Simulated Gastrointestinal Digestion of Donkeys' Milk. Peptide Characterization by High Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry. *Int Dairy J*, 24: 146-152.
23. Criscione A, Cunsolo V, Bordonaro S, Guastella AM, Saletti R, Zuccaro A. 2009. Donkey's Milk Protein Fraction Investigated by Electrophoretic Methods and Mass Spectrometry Analysis. *Int Dairy J*, 19: 190-197.
24. Chianese L, Calabrese MG, Ferranti P, Mauriello R, Garro G, De Simone C. 2010. Proteomic Characterization of Donkey Milk "Caseome". *J Chromatogr A*, 1217: 4834-4840.
25. Goldfarb, MF, Salvatore MS. 1989. Two Dimensional Electrophoretic Analysis of Human Milks Proteins, *Electrophoresis*, 10: 67-70.
26. Bonomi F, Iametti S, Pagliarini E, Solaroli G. 1994. Thermal Sensitivity of Mares' Milk Proteins. *J Dairy Res*: 61, 419-422.

27. Solaroli G, Pagliarini E, Peri C. 1993. Composition and Nutritional Quality of Mare's Milk. *Ital J Food Sci*, 1: 3-10.
28. Doreau M, Gaillard JL, Chobert JM, Léonil J, Egito AS, Haertlé T 2002. Composition of Mare and Donkey Milk Fatty Acids and Protein and Consequences on Milk Utilisation, Proceedings of 4°C Convegno. *Soc Ital Ippolog*, 51-71.
29. Malacarne M, Martuzzi F, Summer A, Mariani P. 2002. Protein and Fat Composition of Mare's Milk: Some Nutritional Remarks with Reference to Human and Cow's milk. *Int Dairy J*, 12: 869-877.
30. Iacono G, Carroccio A, Cavataio F, Montaldo G, Soresi M, Balsamo V. 1992. Use of Ass's Milk in Multiple Food Allergy, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 14: 177-181.
31. Businco, L, Gianpietro PG, Lucenti P, Lucaroni F, Pini C, Di Felice G. 2000. Allergenicity of Mare's Milk in Children with Cow's Milk Allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 105: 1031-1034.
32. Carroccio A, Cavataio F, Montaldo G, D'Amico D, Alabrese L, Iacono G. 2000. Intolerance to Hydrolysed Cow's Milk Proteins in Infants: Clinical Characteristics and Dietary Treatment. *Clin Exp Allergy*, 30: 1597-1603.
33. Curadi MC, Gianpietro PG, Lucenti P, Orlandi M. 2001. Use of Mare Milk in Pediatric Allergology, Proceedings of 14th Congress ASPA (Associazione Scientifica di Produzioni Animali), Firenze, Italy, 647- 649.
34. Carroccio A, Cavataio F, Iacono G. 1999. Crossreactivity Between Milk Proteins of Different Animals. *Clin Exp Allergy* 29: 1014-1016.