



ET ÜRÜNLERİNDE TAĞŞIŞ

Tağışış; gıda maddesinin mevzuata veya izin verilen özelliklerine aykırı olarak üretilmesi hali olarak tanımlanmaktadır. Gıda ürünlerinde; tağışış bir çok şekilde yapılabilmektedir. Bunlar arasında; gıdada bulunmasına izin verilen miktardan fazla katkı maddesi kullanılması, kaliteli ürünlerin maliyeti düşürecek şekilde daha az kaliteli ürünler ile karıştırılarak satışa sunulması, ürüne etiketinde belirtilmeyen maddelerin ilave edilmesi, gıdalarda boya maddelerinin kullanılarak gıdanın daha değerli olarak gösterilmesi, su oranının üründe bulunması gereken değerden daha fazla olması, gıdada birbirine ikame edebilecek maddelerin kullanılması, gıdada kullanılması gereken maddelerin kullanılmaması veya daha az miktarda kullanılması yer almaktadır.

Son yıllarda et ürünlerinde yapılan tağışışler çok yaygın bir problem haline gelmiştir. Et ürünlerinde yapılan tağışışler çok çeşitlilik göstermekle birlikte, en yaygın olan tağışışler; pahalı et ürünlerinde ucuz et türünün kullanılması, etikette belirtilmeyen veya kullanımına izin verilmeyen et türünün kullanılması (%100 dana üründe tavuk kullanımı veya domuz etinin kullanımı gibi), üründe hayvanların çeşitli organlarının fazla miktarda kullanılması, üründe bulunması gereken (ürünün etiketinde belirtilen) et türüne ait miktarın ürüne koyulmaması veya bitkisel kaynaklı ürünlerin (soya) eklenmesidir. Özellikle sucuk gibi et ürünlerinde soyanın kullanımı çoğalmaktadır.





Soya ürünleri et sektöründe; ürünün maliyetini düşürmesi, besin değerinin yüksek olması (soya proteini bütün elzem aminoasitleri içermektedir), fonksiyonel özelliklerinin bulunması (su tutma kapasitesi, emulsifikasyon özelliği) ve kullanımı ile et ürünlerinde görüntüsel ve organoleptik özelliği iyileştirmesi gibi nedenlerden dolayı tercih edilmektedir.



Et ürünü içerisinde bulunan et türünün miktarı veya et ürünü içerisinde etikette belirtilmeyen et türü bulunması, gibi taşıyıcılar ürün kalitesini ve maliyetini düşürerek haksız rekabete yol açar. Etiketle belirtilmediği halde üründe bulunan soya kullanılması ise gıda kalitesinin yanında gıda güvenliği için de ciddi bir sorun teşkil etmektedir. Bunun nedeni soyanın gıda alerjisi olmasıdır.



Gıda alerjenleri çok önemli sağlık problemlerine neden olabilmektedir. Bazı gıda alerjenleri şiddetli alerjik reaksiyonlara neden olabilecekleri gibi, bazı durumlarda da insan hayatını tehdit edebilmektedirler. Gıda alerjenleri dünya genelinde, yaklaşık olarak yetişkin popülasyonunun %1-2'sini, çocuk popülasyonunun ise %4-8'ini etkilemektedir. Dünyada bir çok alerjen bulunmaktadır. Avrupa Birliği 2006/142 regülasyonunda yer alan 13 adet alerjen bulunmaktadır.



Bu alerjenlerin içerisinde yer alan kabuklu deniz canlıları, balık, süt, sert kabuklu meyveler, buğday, yumurta, yer fıstığı ve soya; gıda alerjilerinin %90'ına neden olmakta ve büyük sekiz alerjen olarak bilinmektedirler.



Görüldüğü gibi gıda alerjisine neden olan en önemli 8 alerjenin içerisinde soya yer almaktadır. Soya ile ilgili olarak, 1993 ve 1996 yılları arasında İsveç'te 5'i ölümlü sonuçlanan 61 gıda alerjen vakası incelenmiş ve bunun sonucunda 45 gıda alerjen vakasının fıstık, fındık ve soyadan kaynaklandığı tespit edilmiştir. Ölümlü sonuçlanan 5 vakanın 4'ünün sebebinin ise soya içeren hamburger tüketilmesi sonucu olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle; soya içeren ürünlerin etiketleri üzerinde ürünün soya içerdiği belirtilmelidir.



Gıda tağışlarının tespiti; haksız rekabetin önlenmesi ve satışa sunulan ürün ile ilgili müşterinin doğru olarak bilgilendirilmesi, etikette belirtilen bilgilerin doğruluğu (etiket bilgisi mevzuatının uygulanması) ve dolayısı ile tüketici sağlığının korunması adına önemli bir durum olmuştur. Gıda tağışının belirlenebilmesi için güvenli analiz metotlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Et ürünlerinde; çeşitli organların aranması, soyanın olup olmadığının tespit edilmesi ve bulunuyorsa miktarının tespiti, et ürünü içerisinde özellikle sosis ve salam gibi emülsifiye et ürünlerinde nişasta miktarının tayini, et ürünlerinde nem, protein gibi kalite parametrelerinin belirlenmesi ve bunların yanı sıra et ürünü içerisinde bulunan et türünün tespiti ve et miktarının belirlenmesi gerekmektedir.

Et ürünlerinde et türü belirlenmesi ve et miktar tayini için çeşitli analiz metotları bulunmaktadır. Günümüzde bu amaçla, PCR teknikleri (Conventional PCR, Real Time PCR), Immunoassay tekniği (Protein), Kütle spektrometresi, Near-infrared Spektral Analiz Metodu, PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemleri yoğun olarak kullanılmaktadır.



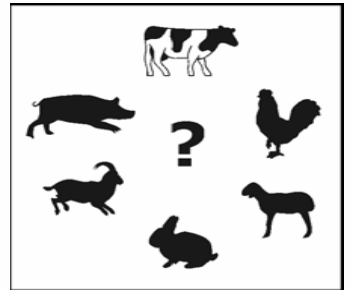


Bu tekniklerin içerisinde; Real Time PCR metodu hassas, kesin, özgün ve analiz süresinin diğer metotlardan daha kısa olması ve kantitatif analiz yapılabilmesi gibi bir çok avantajının bulunması sebebi ile en çok kullanılan yöntemdir. Real Time PCR yöntemi ile kalitatif ve kantitatif analizlerde, diziye özgün olmayan floresan boyalardan ya da diziye özgün problemlerden yararlanılmaktadır. Real-time PCR reaksiyonu, ürünün verdiği floresan ışığa göre reaksiyon sonuna kadar aşama aşama oluşan ürünü kontrol eden bir sistemdir. Sığır, domuz, tavuk, hindi, at, koyun, kedi ve köpek et türleri Real Time PCR ile tespit edilebilen türler arasındadır. Bunun yanında ileri düzeyde işlem görmüş yada herhangi bir işlem görmemiş et ürünlerinde sığır, tavuk gibi türlerinde miktarının tespiti mümkündür.

PCR tekniği hassas bir tekniktir ve analiz aşamalarında kontaminasyonun önlenmesi gerekmektedir. Kontaminasyonun önlenmesi adına; alınabilecek önlemlerin başında laboratuvarın altyapısının kontaminasyonu engelleyecek şekilde dizayn edilmesi gelmektedir. PCR laboratuvarında minimum dört bölüm bulunmalıdır.

Bu bölümler;

- Numunenin Öğütüldüğü ve/veya Homojenize Edildiği Bölüm
- Numuneden DNA Ekstraksiyonunun Yapıldığı Bölüm
- PCR reaksiyonlarının Hazırlanacağı Bölüm
- PCR İşleminin Uygulandığı Bölüm





Real Time PCR ile et ürünlerinde tür miktar oranının tespiti dört aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar; numune homojenizasyonu, numuneden DNA'nın ekstrakte edilmesi, master miks hazırlama, Real Time PCR prosesi ve ardından değerlendirme aşamasıdır.

Et ürünleri (sucuk, salam, köfte vb.) numune öğütme odasında blender ve öğütücü gibi ekipmanlarla öğütülmekte veya homojenize edilmektedir. Hazırlanmış olan numunelerin DNA'sı, DNA ekstraksiyon odasında izole edilmektedir. Numunenin homojenizasyonu ve DNA'nın ekstraksiyon işlemi PCR ile yapılan bütün analizlerde kesin ve güvenilir sonuç verebilmek için çok önemlidir. Master mix odasında izole edilmiş olan DNA, PCR işlemi için gerekli bileşenler (master miks) ile birleştirilmekte, Real Time PCR cihazında analiz edilmekte ve sonuçlar değerlendirilmektedir.

Et Ürününün Homojenizasyonu;

- Ürünün homojenizasyonu ve öğütme aşaması bütün PCR analizleri için önemli aşamalardan ilkinini oluşturmaktadır.
- Ürün çok iyi öğütülmeli ve homojenize edilmelidir.



*NUMUNE
HOMOJENİZASYONU*



*NUMUNEDEN DNA'NIN
EKSTRAKSİYONU*



*MASTER MIX
HAZIRLAMA*



REAL TIME PCR



Et Ürününden DNA'nın İzolasyonu



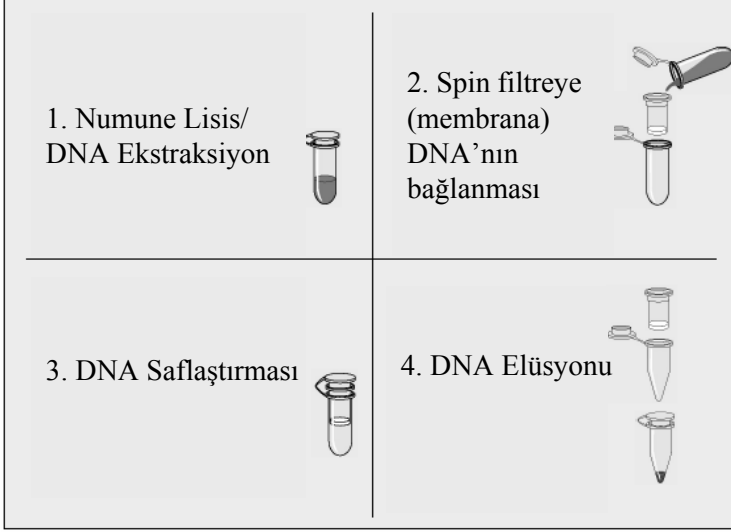
DNA
→
Ekstraksiyon



Et ve et ürünlerinde DNA izolasyonunun etkin bir şekilde gerçekleştirilmesi ve PCR engelleyici maddelerden ayrıştırılması işlemi, Real Time PCR analizlerinde başarılı sonuçlar alınabilmesi için **önemli** olan ikinci aşamadır. Bu aşama sonucunda PCR işlemi için yeterli düzeyde ve kalitede DNA elde edilmeli ve DNA ekstraktında PCR önleyici madde bulunmamalıdır.



DNA Ekstraksiyon ve Saflaştırma Aşaması



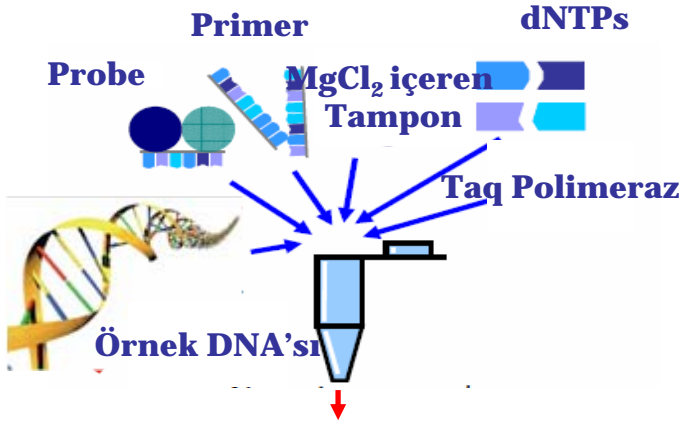
Et ve et ürünlerinde tür tayini ya da et ürünü içerisinde yüzdesel (%) olarak ne kadar et türü bulunduğunu Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile saptayabilmek için DNA molekülün saf bir şekilde elde edilmesi gereklidir.

Gıda ürünlerinden DNA'nın ekstrakte edilebilmesi için farklı yöntemler bulunmaktadır. Genel olarak DNA ekstraksiyonunun birinci aşamasında hücrede bulunan DNA lisis ile açığa çıkarılır ve açığa çıkmış olan DNA'ya, içerisindeki inhibitör bileşenlerinden ayrıştırılmak amacı ile saflaştırma işlemleri uygulanır. PCR inhibitör maddelerin içerisinde Fenol, Etanol, Hemoglobin, Heparin, Sodyum klorid gibi maddeler bulunmaktadır.



Master Mix Hazırlama Aşaması

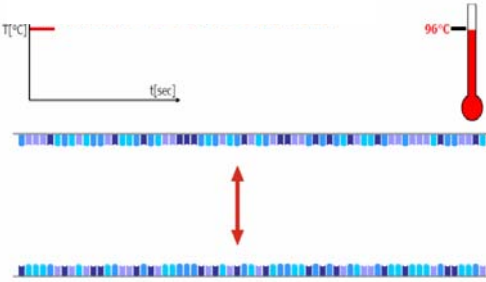
Et ürünlerinden elde edilmiş olan DNA'nın çoğaltılıp hedef bölgenin tespit edilebilmesi ve miktarının belirlenebilmesi amacı ile Real Time PCR yada PCR işlemi uygulanır. Örnekten izole edilmiş olan DNA'nın çoğalabilmesi için PCR işlemi aşamasında bazı temel bileşenlere gereksinim vardır. Bunlar; DNA polimeraz enzimi, hedef bölgeyi tamamen tamamlayıcı olan primerler, dNTP karışımı, tampon, $MgCl_2$ ve yöntemeye bağlı olarak değişen problemlerdir. İzole edilmiş olan DNA, PCR işlemi için gerekli olan bileşenler ile birleştirilerek PCR işlemi uygulanır.





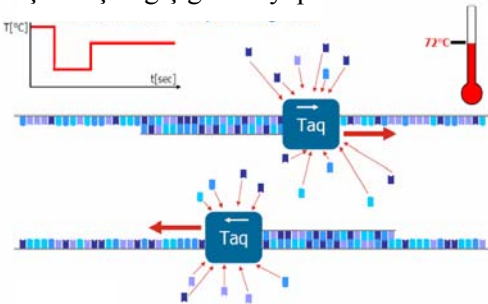
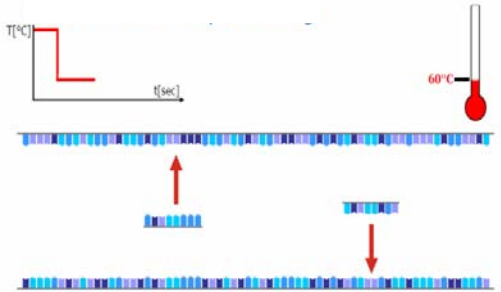
Real Time PCR Prosesi

Et ürünlerinden izole edilen DNA'nın miktarının belirlenebilmesi için hazırlanmış olan master miks ve DNA Real Time PCR'da belirlenmiş olan sıcaklık programında proses edilir. Real Time PCR aşaması genel olarak 3 temel basamaktan oluşur.

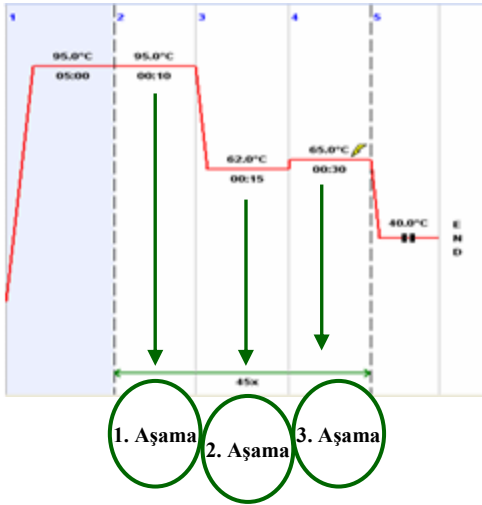


Birinci basamak denatürasyon basamağıdır. Bu aşamada et ürününden izole edilmiş olan çift zincirli DNA ısıtılarak tek zincirli hale getirilir.

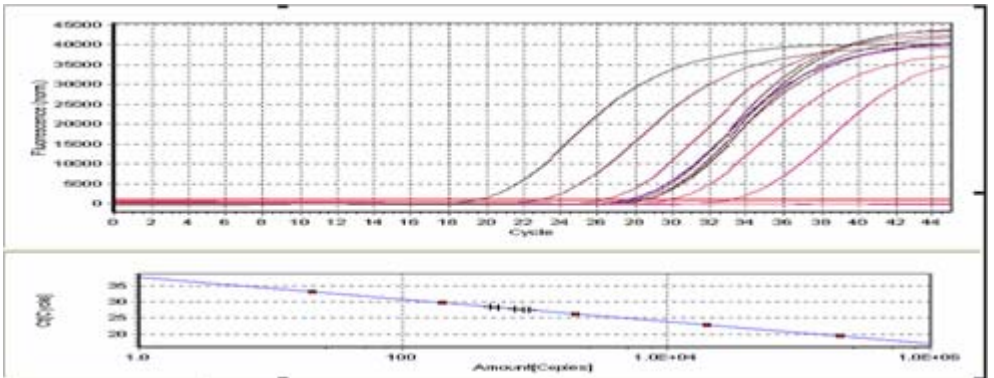
İkinci basamak ise primerin bağlanması aşamasıdır. Bu aşamada sıcaklık 50 ile 70 °C arasında bir değere düşürülür ve primerlerin tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanması sağlanır. Bu primerler çoğaltılacak DNA kısmının uçlarındaki tamamlayıcı dizilere özgül olarak bağlanır ve kalıp DNA'nın sentezi için başlangıç görevi yapar.



Üçüncü basamak ise uzama basamağıdır. Bu aşamada primerlerin Taq Polimeraz ile elongasyonu gerçekleşir.



Real time PCR prosesinde 3 aşama seçilen metoda bağlı olarak 30 ile 45 kez tekrar ederek izole edilen örnek DNA'sı çoğaltılmış olur. Reaksiyon sonucunda oluşturulmuş olan kalibrasyon eğrisi grafiğinden örnek DNA'nın kopya sayısı belirlenmekte ve bu kopya sayısı ile örnekteki et miktarı kantitatif olarak tespit edilebilmektedir. Et ürünlerinde kalitatif olarak tür analizi yapılmak istendiğinde Real Time PCR reaksiyonu sonucunda amplifikasyon gözlemleniyor ve yapılmış olan kontrol reaksiyonlarında beklenen sonuçlar elde ediliyor ise amplifikasyon veren tür et ürünü içerisinde bulunan türü göstermektedir.





Real Time PCR metodu ile et ve et ürünlerinde açıklandığı şekilde tür tespiti ve et miktar tayini gerçekleştirilmektedir. Et ve et ürünlerindeki tür tespiti %0,5 düzeyinde spesifik olarak tespit edilebilmektedir. Et miktarının belirlenmesi için ise genel olarak Real Time PCR metodu ile %0,04 tespit limitlerine düşülebilmektedir.

Bu tür analiz metotları, gıdalarda bulunan et türlerinin tanımlanması ve gıda içerisinde bulunan et miktarlarının tespit edilmesi ayrıca, gıdanın etiketinde yer alan ibarelerin doğruluğu için çok önemlidir.

Son günlerde et ürünlerinde en çok konuşulan tağşişler; kullanımına izin verilmeyen etlerin kullanımı (at, domuz gibi) ve ya etikette belirtilmeyen et türü kullanımı (hindi eti yerine tavuk eti kullanımı) veya etikette belirtilen et miktarının oransal olarak ürün içeriğinde olmamasıdır (%80 dana eti yerine %20 dana eti koyulması). Gıdalarda bulunan et türlerinin Real Time PCR ile tanımlanması ve Real Time PCR cihazı ile gıdada bulunan et tür miktarlarının belirlenmesi mümkün olmakta ve hatta gıdalar için HELAL sertifikası çerçevesinde domuz ürünlerini içermez ifadesinin belirlenmesi için gerekli analizler Real Time PCR ile yapılması sağlanmaktadır.

