

ISIL İŞLEM UYGULANMIŞ ET KARIŞIMLARINDA REAL-TİME PCR TEKNİĞİ İLE TÜR TAYİNİ

Ayten GÜLLÜCE¹, Zülal KESMEN², Hasan YETİM²

¹Cumhuriyet Üniversitesi, Suşehri Timur Karabal Meslek Yüksek Okulu, Sivas

²Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri

hyetim@erciyes.edu.tr

Özet

Et endüstrisinde bazı üreticilerin düşük kaliteli veya eti yenilmeyen hayvanlara ait etleri doğrudan ya da çeşitli et ürünlerine işleyerek tüketime sunması, tüketicilerde sağlık, ekonomik, din ve kültürel değerler açısından bir takım problemlere neden olabilmektedir. Son yıllarda et ürünlerinde kullanılan farklı et türlerinin kalitatif ve kantitatif tespiti amacıyla real-time PCR tekniğinin kullanımına yönelik yoğun araştırmalar yapılmış ve oldukça umut verici sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmada da ısıtılmış et karışımlarında at, eşek ve domuz türlerine ait etlerin tespitinde kullanılmak üzere türe TaqMan real-time PCR metodu geliştirilmiştir. Bu amaçla, at, eşek ve domuz etlerinden her birisi, farklı seviyelerde (% 10; 1; 0,1; 0,01; 0,001 ve 0,0001) sığır etine ilave edilerek hazırlanan ikili et karışımları, 120°C'de 30 dk otoklavda ve 200°C'de 30 dk etüvde ısıtılmış tutulmuştur. Mitokondial DNA üzerinde at, eşek ve domuz türlerine spesifik (sırasıyla baz çifti uzunluğunda fragment üreten) olarak dizayn edilen oligonükleotid primer ve prob setleri kullanılarak hazırlanan bu çığ ve ısıtılmış görmüş karışımlardan alınan örneklerde real-time PCR TaqMan prob yöntemi ile kalitatif ve kantitatif tür tayini yapılmıştır. Neticede TaqMan PCR tekniği kullanılarak söz konusu türlerin çığ örneklerde % 0,001 seviyesinde, ısıtılmış görmüş örneklerde ise % 0,01 seviyesine kadar tespit edilebileceği belirlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında geliştirilen TaqMan prob real-time PCR yönteminin, et ürünlerinde bulunabilecek at, eşek ve domuz etlerinin tespitinde, ülkemiz gıda kontrol laboratuvarlarının ihtiyacını giderecek, rutin bir kontrol metodu olabileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Real-time PCR, TaqMan probe, eşek, domuz.

DIFFERENTIATION OF ANIMAL SPECIES IN HEAT TREATED MIXED MEATS USING REAL-TIME PCR ASSAY

Ayten GULLUCE¹, Zulal KESMEN², Hasan YETİM²

¹Cumhuriyet University, Susehri Timur Karabal Vocatinal High School, Sivas, Turkey

²Erciyes University, Department of Food Engineering, Kayseri, Turkey

hyetim@erciyes.edu.tr

Abstract

In the recent past, DNA molecules have been used as target compounds for species identification due to their high stability and unique variability which allow the differentiation of closely related species. Among DNA-based methods, real-time PCR method has a satisfactory performance in the qualitative and quantitative detection of meat species which are undesirable by consumers for health (e.g. allergic reactions) reasons, ethnic or religious values. In this study, TaqMan-based real-time PCR techniques were developed for the detection of pork and donkey meat in raw and heat-treated meat mixtures. Specific primers and TaqMan probes were designed on the mitochondrial ND2 and ND5 genes for donkey and pork, respectively, and the performance of the method was tested. In the results, no cross-reaction was observed between the donkey and pork species specific primer-probe systems and non-target species (bovine, ovine, horse, chicken and turkey). TaqMan probe assays used in this study allowed the detection of as little as 0.001% level of both species in the raw and heat treated meat mixtures, prepared by mixing pork and donkey meat with beef at different levels (0.001-10%). In conclusion, TaqMan probe-based real-time PCR assay is promising tool for detection of meat species in meat products for Halal authentication.

Keywords: Real-time PCR, TaqMan probe, donkey, pork, Halal authentication.