ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif BARUTÇU

ADANA İLİ'NDE ÜRETİLEN BAZI SUCUKLARDA ELISA VE GERÇEK ZAMANLI PCR TEKNİKLERİ KULLANILARAK TAVUK ETİ VARLIĞININ İNCELENMESİ VE SUCUKLARIN BAZI FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA-2018

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ADANA İLİ'NDE ÜRETİLEN BAZI SUCUKLARDA ELISA VE GERÇEK ZAMANLI PCR TEKNİKLERİ KULLANILARAK TAVUK ETİ VARLIĞININ İNCELENMESİ VE SUCUKLARIN BAZI FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Elif BARUTÇU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 20/04/2018 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/~~Oyçokluğu~~ ile Kabul Edilmiştir.

……...	……...	……
Dr. Öğr. Üyesi Hakan BENLİ DANIŞMAN	Prof. Dr. Hüseyin ERTEN ÜYE	Doç. Dr. Osman İrfan İLHAK ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2016-7675

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ADANA İLİ'NDE ÜRETİLEN BAZI SUCUKLARDA ELISA VE GERÇEK ZAMANLI PCR TEKNİKLERİ KULLANILARAK TAVUK ETİ VARLIĞININ İNCELENMESİ VE SUCUKLARIN BAZI FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Elif BARUTÇU

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Hakan BENLİ
Yıl: 2018, Sayfa: 94
Jüri : Dr. Öğr. Üyesi Hakan BENLİ
: Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
: Doç. Dr. Osman İrfan İLHAK

Bu çalışmada, Adana İli'nde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinden ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen toplam 60 adet sucuk örneğinde ELISA ve Gerçek Zamanlı PCR teknikleri kullanılarak tavuk eti varlığının aranması; böylece yerel üretim yapan işletmelerin Türk Gıda Kodeksi Et ve Et ürünleri Tebliği'ne (Tebliğ No:2012/74) tür beyanı yönünden uygunluğunu belirlemek amaçlanmıştır. Sucuk örneklerinin pH değerlerinin, nem içeriklerinin, su aktivitesi değerlerinin, L*,a,*b*, kroma (C*) ve hue (H*) renk değerlerinin ve tekstürel özelliklerinin istatistiksel olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Sucuk örneklerine ait Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA sonuçları karşılaştırıldığında, 3.ve 8. işletmenin 2. ve 3. tekerrürleri ile 6., 7., 8. ve 9. kasapların bütün tekerrürlerinde, her iki yöntemle de tavuk etinin varlığı tespit edilmiştir. Ancak 5. işletmenin bütün tekerrürleri, 3. ve 8. işletmelerin 1.tekerrürlerinde ELISA yöntemiyle tavuk eti varlığı belirlenirken, Gerçek Zamanlı PCR yöntemiyle tespit edilememiştir. Örneklerin her iki yöntem ile analizi tekrarlandığında, birbirini doğrulayan sonuçlar elde edilerek tavuk eti varlığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, birbirini doğrulayan ELISA ve Gerçek Zamanlı PCR tekniklerinin et tür tayininde, özellikle tavuk eti aranmasında başarılı sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sucuk, tavuk eti, ELISA, Gerçek Zamanlı PCR, fizikokimyasal özellikler

ABSTRACT

MSc THESIS

INVESTIGATION OF CHICKEN MEAT IN SOME SUCUKS PRODUCED IN ADANA PROVINCE USING ELISA AND REAL TIME PCR TECHNIQUES AND EVALUATION OF SOME PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF SUCUKS

Elif BARUTÇU

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Hakan BENLİ
Year: 2018, Page: 94
Jury : Asst. Prof. Dr. Hakan BENLİ
: Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
: Assoc. Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK

In this study, the presence of chicken meat was studied using ELISA and Real Time PCR techniques in a total of 60 sucuk samples obtained from 10 sucuk producers which had production approval certificates and 10 butcher shops which produced sucuk without a production approval certificate in Adana province; so it was aimed to investigate the compliance of the local producers with the Turkish Food Codex Meat and Meat Products Communique (Communique No: 2012/74) in terms of meat type declaration. The pH values and moisture contents of sucuk samples were statistically different and highly variable. Similarly, the water activity, L*, a*, b*, chroma (C*) and hue (H*) values and textural properties of the samples were statistically different. When the results of Real Time PCR and ELISA compared, chicken meat was detected in both 2nd and 3rd replications of 3rd and 8th producers and in all replications of 6th, 7th, 8th and 9th butchers with both methods. However, while chicken meat was detected by ELISA technique in all replications of the 5th producer, 1st replications of 3rd and 8th producers, it was not detected by the Real Time PCR technique in these samples. When the samples were again analyzed using both methods, chicken meat was determined with both methods. As a result, it was determined that mutually confirming ELISA and Real Time PCR techniques produced successful results especially for the investigation of chicken meat.

Keywords: Sucuk, chicken meat, ELISA, Real Time PCR, physicochemical properties

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Bu çalışmada Adana İlinde Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2012/74 ve Tebliğ No: 2015/7) uyarınca Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan sucuk üretimi için işletme onay belgesi bulunan 10 işletmeden ısıl işlem uygulanarak veya geleneksel yöntemle üretilmiş ve işletme onay belgesi olmadığı halde Adana'da sucuk üretiminin yoğun olarak yapıldığı bilinen bölgelerde yer alan 10 farklı kasaptan tesadüfi olarak seçilen geleneksel yöntemle üretilmiş dana sucuk örneklerinde birbirini doğrulayan ELISA ve Gerçek Zamanlı PCR teknikleri kullanılarak tavuk eti varlığının aranması; böylece yerel olarak üretim yapan işletmelerin Türk Gıda Kodeksi Et ve Et ürünleri Tebliği'ne tür beyanı yönünden uygunluğunun araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca örneklerin nem içerikleri, pH, su aktivitesi, renk ve tekstürel özelliklerinin incelenmesi de hedeflenmiştir.

Analiz sonuçlarına göre, sucuk örneklerinin pH değerlerinin oldukça değişken olduğu belirlenmiş ve örnekler arasında, pH değeri çok yüksek ve çok düşük olan sucuk örneklerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Isıl işlem uygulanarak üretim yapılan 3. işletme (5.76) ve 9. işletme (6.50)'ye ait sucuk örneklerinin pH değerlerinin ve geleneksel üretim yapılan 9. Kasap (5.63) ve 10. kasap (6.20)'a ait sucuk örneklerinin pH değerlerinin, Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2012/74)'nde, fermente sucuk (pH değeri en yüksek 5.4) ve ısıl işlem görmüş sucuk (pH değeri en yüksek 5.6) için belirtilen değerlerden yüksek olduğu görülmüştür.

Sucuk örneklerinin ortalama nem içerikleri %32.72 ile %47.86 arasında değişmektedir. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2012/74)'nin fermente sucuk tanımında, fermente sucukların nem oranının %40 ve altında olması gerektiği ifade edilmişken, aynı tebliğde ısıl işlem görmüş sucukların nem oranı ise en fazla %50 olarak sınırlandırılmıştır. İşletme onayı bulunan işletmelerde üretilen sucuk örneklerinin (2. işletme hariç) ısıl işlem

uygulanarak üretildiği ve örneklerin ilgili tebliğde belirtilen değerin altında nem içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Geleneksel yöntemlerle üretim yapan ve işletme onayı bulunmayan kasapların ise 7 tanesine ait sucuk örneklerinin nem içeriklerinin tebliğde belirtilen değerlerin üzerinde kaldığı tespit edilmiş ancak bazı değerlerin sınıra yakın olduğu görülmüştür. Sucuk örneklerinin nem içerikleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan sucuk örneklerinin ortalama su aktivitesi değerleri 0.8580-0.9100 arasında bulunmuştur. Sucuk örneklerinin ortalama su aktivitesi değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Bulunan su aktivite değerlerinin gerçekleştirilen diğer araştırma sonuçlarıyla uyumlu olduğu görülmüştür.

Sucuk örneklerinin renk ölçümlerinden elde edilen bulgulara göre çalışmada kullanılan sucuk örneklerinin ortalama dış yüzey L*, a*, b*, C* ve H* değerleri ve iç yüzey L*, a*, b*, C* ve H* değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Ayrıca çalışmada kullanılan bütün sucuk örneklerinin iç yüzey L*, a*, b* değerlerinin dış yüzey L*, a*, b* değerlerinden sayısal olarak yüksek olduğu görülmektedir.

Çalışmanın temel amacı olan Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA yöntemleriyle tavuk eti varlığı aranmasında, 3. işletme ve 8. işletmeye ait sucuk örneklerinin 2. ve 3. tekerrürleri ile, 6. kasap, 7. kasap, 8. kasap ve 9. kasaplara ait sucuk örneklerinde Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA yöntemleriyle tavuk eti tespit edilmiştir. Çalışmada 5. İşletmeye ait örneklerin her bir tekerrüründe, 3 numaralı işletmenin 1. tekerrüründe ve 8 numaralı işletmenin 1. tekerrüründe ELISA yöntemiyle tavuk eti varlığına rastlanmışken, Gerçek Zamanlı PCR yöntemiyle yapılan analizlerde tavuk eti varlığı tespit edilememiştir. Bu nedenle bu örnekler yeniden ELISA ve Gerçek Zamanlı PCR teknikleri ile analize tabi tutulmuş ve tekrar çalışılan 3. işletmeye ait 1. tekerrür, 5. işletmeye ait tüm tekerrürler ve 8. işletmeye ait 1. tekerrür sucuk örneklerinde birbirini doğrulayan sonuçlar elde

edilerek tavuk eti varlığı tespit edilmiştir. Gerçek Zamanlı PCR tekniğinin her ne kadar aşırı hassasiyetinden bahsedilse de kullanılan örnek miktarının son derece düşük olması (100 mg) örneğin yeterince temsil edilebilirliğini azaltmaktadır. ELISA yönteminin PCR yönteminden 10 kat kadar daha az hassas olması bilinmesine karşın ELISA yönteminde kullanılan örnek miktarı (20 g), Gerçek Zamanlı PCR yöntemine göre örneği daha fazla temsil ettiğinden çalışmadaki sonucu etkilediği düşünülmektedir. Ayrıca örneklerden mitokondrial DNA ektrakte edilmekte bu da sucuk gibi yağ oranı fazla olan ürünlerde zor olabilmektedir.

Her ne kadar miktar tayini yapılamasa da, çalışmada örneklerin Ct değerleri ve optik dansite değerleri dikkate alınarak Adana piyasasında 10 adet işletmenin 3'üne ait sucuk örneklerinde düşük denecek miktarda ve 10 adet kasabın 4'ünde yüksek miktarda tavuk eti tespit edildiği söylenebilir.

Çalışmada sonuç olarak birbirini doğrulayan ELISA ve Gerçek Zamanlı PCR tekniklerinin et tür tayininde kullanımının, özellikle tavuk eti aranmasında başarılı sonuçlar vereceği görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Beni yüksek lisans yapmaya ve bu konuda çalışmaya yüreklendiren, bilgi birikimini en iyi şekilde bana aktarmaya çalışan değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hakan BENLİ'ye,

Jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren ve sundukları katkılar ile çalışmamın zenginleşmesini sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Hüseyin ERTEN ve Doç. Dr. Osman İrfan İLHAK 'a,

Çalışmam sırasında sık sık bilgi alışverişinde bulunduğum ve yardımlarını gördüğüm Konya Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nden Sayın Sedat KARACA'ya, Arş.Gör. Elif Tuğçe AKSUN'a ve iş arkadaşım Gülhis KOKANGÜL'e,

Bu tezin yapılması için maddi destek sağlayan Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Hayatımın her anında beni destekleyen sevgili anne ve babama, tez çalışmam boyunca her türlü desteğini esirgemeyen sevgili eşim Fatih BARUTÇU'ya ve zamanlarından aldığım hayatımın anlamı üç evladım Alper, Ömer ve Zeynep'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET III
TEŞEKKÜR VII
İÇİNDEKİLER VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ X
ŞEKİLLER DİZİNİ XII
SİMGELER VE KISALTMALAR XIV
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 5
2.1. Sucuk 5
2.1.1. Sucuk Üretim Yöntemleri 5
2.1.1.1. Fermente Sucuk 5
2.1.1.2. Isıl İşlem Görmüş Sucuk 7
2.2. Farklı Et Türlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler 9
2.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) 9
2.2.2. ELISA Yöntemi 12
2.3. Et ve Et ürünlerinde PCR ile Yapılan Tür Tayini Çalışmaları 14
2.4. Et ve Et ürünlerinde ELISA yöntemi ile Yapılan Tür Tayini Çalışmaları . 16
3. MATERYAL VE METOD 21
3.1. Materyal 21
3.2. Metod 22
3.2.1. pH Tayini 22
3.2.2. Nem Tayini 22
3.2.3. Su Aktivitesi (a_w) 22
3.2.4. Renk Ölçümü 23
3.2.5. Tekstür Analizi 23

3.2.6. Gerçek Zamanlı PCR....24
3.2.6.1. Örneklerin Hazırlanması ve Tartımı....24
3.2.6.2. DNA Ekstraksiyonu....25
3.2.6.3. DNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi....26
3.2.6.4. Gerçek Zamanlı PCR İşlemi....26
3.2.6.4.(1). Test Prosedürü: 27
3.2.6.5. Sonuçların Değerlendirilmesi....28
3.2.7. ELISA Metodu....28
3.2.7.1. Kit İçeriği ve Hazırlanması....29
3.2.7.2. Örnek Ekstraksiyonu....30
3.2.7.3. ELISA Test Prosedürü....30
3.2.7.4. ELISA Okuyucusu....31
3.2.8. İstatistiksel Analiz....32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA....33
4.1. pH Tayini....34
4.2. Nem Tayini (%)....35
4.3. Su Aktivitesi Tayini (a_w)....36
4.4. Renk Ölçümü....37
4.5. Sucuk Örneklerinin Tekstürel Özellikleri....40
4.5.1. Sertlik (Hardness) Değeri....40
4.5.2. İç Yapışkanlık (Cohesiveness) Değeri....42
4.5.3. Sakızımsılık (Gummniness) Değeri....43
4.5.4. Çiğnenebilirlik (Chewiness) Değeri....43
4.6. Gerçek Zamanlı PCR Bulguları....44
4.7. ELISA Bulguları....49
4.8. Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA Bulgularının Karşılaştırılması....51
5. SONUÇLAR....55
KAYNAKLAR....57
ÖZGEÇMİŞ....67
EKLER....68

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 3.1. İşletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinden ve işletme onay belgesi bulunmayan 10 adet kasap dükkanından temin edilen ısıl işlem uygulanarak veya geleneksel yöntemle üretilmiş sucuk örneklerinin bölgesel dağılımı 21
Çizelge 3.2. Macherey-Nagel Genomik DNA from blood kit prosedürüne göre kullanılan çözeltiler ve diğer malzemeler 25
Çizelge 3.3. Tavuk tür tayin kit (SNP Biyoteknoloji Tavuk Tür Tayin Kiti) içeriği 26
Çizelge 3.4. Seçilen PCR program özellikleri.....28
Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan ELISA cihazına ait bazı teknik özellikler.....29
Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan ELISA kitine ait bazı teknik özellikler.....29
Çizelge 4.1. Sucuk örneklerine ait ortalama pH, nem ve su aktivitesi değerleri 33
Çizelge 4.2. Sucuk örneklerine ait dış yüzey L***** (açıklık/koyuluk), a***** (kırmızılık), b***** (sarılık), kroma ve hue renk değerleri.....38
Çizelge 4.3. Sucuk örneklerine ait iç yüzey L***** (açıklık/koyuluk), a***** (kırmızılık), b***** (sarılık), kroma ve hue renk değerleri.....39
Çizelge 4.4. Sucuk örneklerinin tekstürel profil analizi sonuçları 41
Çizelge 4.5. İşletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinden ve işletme onay belgesi bulunmayan 10 adet kasaptan temin edilen 60 adet sucuk örneğinden elde edilen DNA'ların saflık ve miktar ölçümü sonuçları. 45
Çizelge 4.6. Toplam 60 adet sucuk örneğinin Gerçek Zamanlı PCR cihazındaki amplifikasyonlarına ait Ct değerleri 46
Çizelge 4.7. Toplam 60 adet sucuk örneğinin ve analize ait kontrollerin ELISA okuyucuda okunan optik dansite değerleri 50

Çizelge 4.8. Gerçek Zamanlı PCR ile analizi tekrarlanan sucuk örneklerine ait Ct değerleri.....51
Çizelge 4.9. ELISA yöntemi ile analizi tekrarlanan sucuk örnekleri ve kontrollerin sonuçları.....52

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 2.1. PCR temel aşamaları. 11
Şekil 2.2. ELISA yöntemleri 13
Şekil 3.1. Üç boyutlu kordinant üzerinde, L*,a*,b* değerlerinin gösterimi.....23
Şekil 3.2. Gerçek Zamanlı PCR analizi için hazırlanan plakanın Gerçek Zamanlı PCR cihazına verilmeden önceki görüntüsü 27
Şekil 3.3. ELISA plakanın reaksiyon durdurulduktan sonraki görüntüsü 31
Şekil 4.1. Çalışma 1'e ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrileri 47
Şekil 4.2. Çalışma 2'ye ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi sonuçları 47
Şekil 4.3. Çalışma 1'e ait internal kontrol amplifikasyon eğrisi 48
Şekil 4.4. Çalışma 2'ye ait internal kontrol amplifikasyon eğrisi 48

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
kg	: Kilogram
g	: Gram
L	: Litre
mL	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
PCR	: Polymerase Chain Reaction
TPA	: Texture Profile Analyze
TS	: Türk Standartları
mm	: Milimetre

1. GİRİŞ

Hayvansal kaynaklı proteinlerin tüketimi insan sağlığı açısından oldukça önem arz etmektedir. Et, yüksek biyolojik değerde oluşu, doyuruculuğu ve lezzet bileşenleri içermesi nedeniyle beslenmede önemli yer tutmaktadır (İnal, 1992). Aynı miktar bitkisel protein ile karşılaştırıldığında hayvansal proteinlerin daha yüksek esansiyel aminoasit miktarına sahip olduğu bilinmektedir. Hayvansal protein içeriği düşük diyetler, başta sinir ve bağışıklık sistemi olmak üzere tüm vücut fonksiyonlarının olumsuz etkilenmesine yol açmaktadır. Ortalama 70 kg ağırlığındaki sağlıklı bir insanın alması gereken günlük protein ihtiyacı 70 gr. kadar olup; bunun %40-50'si hayvansal kaynaklı proteinlerden karşılanmalıdır (Gürbüz, 2009).

Et ve et ürünleri genel olarak parça et, kıyma, sucuk, salam, sosis, pastırma olarak piyasada satışa sunulmaktadır. Et ürünleri taze ete kürleme, parçalama, emülsifikasyon, pişirme, dumanlama ve fermentasyon işlemlerinden bir veya birkaçının uygulanmasıyla elde edilen gıda maddeleridir. Ülkemizde en fazla tüketilen et ürünlerinin başında geleneksel bir ürün olan sucuk gelmektedir. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2012/74)'nde Fermente sucuk; "Büyükbaş ve küçükbaş hayvan etlerinin ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermentasyon ve kurutma işlemleri uygulanarak nem oranı %40 ve altına düşürülmüş, kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısıl işlem uygulanmamış fermente et ürünüdür" şeklinde tanımlanmıştır. Aynı Tebliğ'de, ısıl işlem görmüş sucuk ise; "Büyükbaş ve/veya küçükbaş hayvan etlerinin ve yağlarının veya kanatlı hayvan etleri ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermentasyon ve kurutma işlemleri uygulanarak nem oranı %50'nin altına düşürülmüş, kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısıl işlem uygulanmış et ürünü" olarak tanımlanmıştır (Anonymous, 2012).

Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın 2009 yılında yayınladığı Gıda Sanayi Envanteri'nde, fermente sucuk üretimi yapan 206 işyerinin toplam yıllık üretim miktarı 12146 ton, ısıl işlem görmüş sucuk benzeri ürün üreten 387 işyerinin toplam yıllık üretim miktarının ise 33535 ton olduğu bildirilmiştir. Aynı envanter çalışmasına göre sucuk üretiminin diğer et ürünlerinin üretim miktarlarından fazla olduğu görülmüştür (Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2009).

Et ve et ürünlerinin insan sağlığı açısından önemli bir yere sahip olması, artan insan nüfusuyla beraber et ihtiyacının da artmasına neden olmuştur. Bu durum, et fiyatlarının yükselmesine ve et ürünlerinde tağşiş girişimlerine zemin hazırlamıştır. Bazı üreticiler, gelir düzeyi düşük tüketicinin et satın alma ihtiyacını suistimal edecek şekilde, farklı türlerden elde edilmiş farklı kalitedeki etleri karıştırıp etiket üzerinde belirtmeden haksız bir çıkar sağlama yoluna girmişlerdir (Güllüce ve ark., 2011). Bu nedenle, gerek tüketici sağlığının korunması, gerekse tağşişin önlenmesi amacıyla et ürünlerinde yapılan denetimler büyük önem taşımaktadır.

Sucuk, düşük kaliteli ya da tüketicinin genelinin tüketmediği etlerin, üretim esnasında kullanılması potansiyeline sahip bir et ürünüdür (Kesmen ve ark., 2010). Sucuk üretiminde tağşiş amaçlı istenmeyen etlerin karıştırılmasının belirlenmesi açısından et tür tayini analizleri önem taşımaktadır.

Türk Gıda Kodeksi'nin 2012/74 no' lu Et ve Et Ürünleri Tebliği'nde değişiklik yapılmasına dair tebliğ'de (Tebliğ No.2015/7) "Kanatlı etleri ve kırmızı etlerin karışımından çiğ et, kıyma ve hazırlanmış et karışımları ile et ürünleri üretilemeyecek." ibaresi yer almıştır (Anonymous, 2015). Bu kapsamda da et ürünlerinde farklı et türlerinin belirlenmesi zorunluluk arz etmektedir.

Gıda ürünlerinde farklı et türlerinin kullanımına ilişkin hilelerin saptanması amacıyla hızlı, hassas ve güvenilir analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Etin kaynağını veya herhangi bir tağşiş yapılıp yapılmadığını belirlemek için immünolojik (Kamber ve Özalp, 2009), elektroforetik (Ekici ve Akyüz, 2003), serolojik (Arun

ve Uğur, 1999) ve genetik yöntemler (İlhak ve Arslan, 2007; Kesmen ve ark., 2009) kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden öne çıkanlar hassasiyetleri, doğrulukları, güvenilirlikleri ve hızlı sonuç vermeleri nedenleri ile Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA teknikleridir (Ayaz ve ark., 2006; Camma ve ark., 2012; Chisholm ve ark., 2005; Dincer ve ark., 1987; Fajardo ve ark., 2008; Giovannacci ve ark., 2004; Kotoura ve ark., 2012; Kesmen ve ark., 2009; Özpınar ve ark., 2013).

PCR, nükleik asitlerin tüpte uygun koşullarda çoğaltılması temeline dayanmaktadır. DNA iplikçikleri, dört temel bazın (Adenin, Sitozin, Guanin, Timin) değişik sırada veya yan yana gelmesiyle oluşur. Farklı türlerin DNA dizilimleri birbirine uymamakta ve bu durum canlılar arasında genetik farklılıklar oluşturmaktadır. PCR yönteminde ise DNA'nın bu özelliğinden yararlanılarak tür ayrımı yapılmaktadır (Arslan ve ark., 2004).

Gerçek Zamanlı PCR yöntemi ise, nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresan sinyalinin ölçülmesiyle kantitatif sonuç alınabilen bir PCR yöntemidir (Günel, 2009).

Gerçek Zamanlı PCR yönteminde, optik bir okuma sistemi ve sentetik oligonükleotidlerden oluşan problar kullanılmaktadır. Problar, PCR amplifikasyonu gerçekleşirken, çoğaltılmış olan hedef DNA zincirlerine bağlanarak floresan ışıma oluşturmaktadırlar. Bu işlemin gerçekleşmesi için hedef DNA'nın belirli dizisine uygun olacak şekilde dizayn edilmişlerdir (Kubista ve ark., 2006).

ELISA antikor-antijen ilişkisinden yararlanılarak antijene spesifik bağlanabilen bir enzimin aktivitesinin incelendiği protein bazlı immünolojik bir tekniktir (Kemeny, 1991: Atasever 2011'den). Yüzeye yapıştırılmış antikorlar örnekten elde edilen protein solüsyonuyla yıkanmakta ve aranan türe özgü antijenlerin antikorlara bağlanması sağlanmaktadır. Solüsyonun yıkanmasıyla antijen-antikor kompleksi dışındaki diğer proteinler ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Aranan antijene bağlanabilen bir enzimin eklenmesiyle birlikte ortamda bulunan substratlar parçalanmakta ve renk değişimi ölçülmektedir. Bu şekilde, ölçülen bu

renk değişimi, aranan türe ait proteinin varlığını kalitatif olarak göstermektedir (Anonymous, 2011).

Et tür tayini yöntemlerinden olan ELISA, pratik olması, az ekipman ihtiyacıyla ve DNA ekstraksiyon aşamasının olmamasıyla Gerçek Zamanlı PCR yöntemine göre daha avantajlı bir tekniktir ancak yüksek sıcaklıkta işlenmiş ürünlerde protein yapısı etkilendiğinden, DNA molekülüne bağlı PCR yönteminin türlerin tanımlanması için daha hassas bir yöntem olduğu belirtilmektedir (Asensio ve ark., 2008). Gerçek Zamanlı PCR yöntemi ise yüksek maliyetli ve tecrübeli personel gerektiren bir metot olup, yapılan literatür çalışmalarında ELISA metoduna göre en az on kata kadar daha hassas bir metot olduğu görülmüştür (Dooley ve ark., 2004; Kesmen ve ark., 2013; Yancy ve ark., 2009).

Analiz yöntemlerindeki hassasiyet sebebiyle üretim esnasında farklı bir et türü bulaşıklığı nedeniyle bazen üreticilerin zor duruma düştüğü görülmektedir. Bu anlamda üreticilerin üretim sürecindeki bulaşma olasılığını elimine etmeleri gerekmektedir. Ancak bu durumun yarattığı sıkıntılardan dolayı et tür tayini analizi yapan kamu ve özel laboratuvarlar tavuk ve hindi eti aranmasında ELISA yöntemini kullanıp, doğrulama olarak Gerçek Zamanlı PCR yöntemini kullanma yaklaşımına gitmişlerdir. Tek tırnaklı hayvan eti (at, eşek) ve domuz eti aranmasında tolerans payı olmamasından dolayı Gerçek Zamanlı PCR yöntemiyle sonuç verilmeye devam edilmektedir.

Bu çalışmada, Adana İli'nde yerel üreticilerden ve kasaplardan tesadüfi olarak temin edilen sucuk örneklerinde birbirini doğrulayan ELISA ve Gerçek Zamanlı PCR teknikleri kullanılarak tavuk eti varlığının aranması; böylece yerel olarak üretim yapan işletmelerin Türk Gıda Kodeksi Et ve Et ürünleri Tebliği'ne (Tebliğ No:2012/74) tür beyanı yönünden uygunluğunun araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca örneklerin nem içerikleri, pH, su aktivitesi, renk ve tekstürel özelliklerinin incelenmesi de hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Sucuk

Geleneksel Türk sucuğu, TS 1070 Türk Sucuğu standardında tanımlandığı şekli ile, et ve yağın kıyma makinası veya kuterde kıyılması, çeşitli baharatlar, tuz ve katkı maddelerinin ilave edilmesi ve elde edilen karışımın, doğal veya yapay kılıflara doldurulmasını takiben belirli sıcaklık ve bağıl nemli ortamda belirli bir süre olgunlaştırılmasıyla elde edilen bir et ürünüdür (TSE, 2012). Sucuk en eski işlenmiş gıda ürünlerinden biridir ve tarihte M.Ö. 8. yüzyılda bazı kaynaklarda sucuktan bahsedilmekte olup en kayda değer kaynak Homer'in *Odyssey* adlı eseridir (Pearson ve Gillett, 1999).

2.1.1. Sucuk Üretim Yöntemleri

2.1.1.1. Fermente Sucuk

Fermente sucuk, belli oranlardaki et ve yağ bileşenlerinin, kürleme maddeleri, tuz ve baharatlar ile karıştırılmasını takiben doğal veya yapay kılıflar içeresinde, belirli koşullarda ve sürede olgunlaştırılması ve kurutulması sonucunda, nem değeri %40'ın altına düşürülmüş et ürünü olarak tanımlanmaktadır (Anonymous 2012, Gökalp ve ark., 1997).

Fermente sucuk üretiminde uygun hammadde seçimi en önemli unsurlardan biridir. Sucuk üretiminde orta yaşlı kasaplık hayvan etleri kullanılmalı, aşırı derecedeki yağlar etten uzaklaştırılmalı ve etin mikrobiyal yükü fazla olmamalıdır. Sucuk yapılacak etlerin kritik pH değeri 5.9 olmalıdır. Yağ olarak kabuk ve kuyruk yağı kullanılmakta ve sucukta et/yağ oranı iyi ayarlanmalıdır. Kıyma haline getirilen karışım karıştırma makinalarında karıştırılıp dolum makinasına alınmaktadır (Gökalp ve ark., 1997)

Dolumdan sonra askıya alınan sucuklar klima odalarına alınmadan önce dolum yerinde 13-15 °C lerde 10-12 saat dinlenmeye alınmaktadır ve daha sonra fermentasyon ve olgunlaştırma işlemi gerçekleştirilmektedir (Öztan, 2005).

Ülkemizde sucukların olgunlaştırılması küçük işletmelerde daha çok doğal koşullarda yapılıp büyük işletmelerde sıcaklık, bağıl nem ve hava sirkülasyonunun kontrol edilebileceği klima odalarında yapılmaktadır. Doğal koşullarda olgunlaştırmada sucuklar kılıflara dolum aşamasından sonra birbirlerine temas etmeyecek şekilde çardaklara asılarak ve rutubet düşük olduğu takdirde su ile ıslatılarak 7-15 gün arasında olgunlaşmaya bırakılmaktadırlar. Büyük işletmelerde ise sucukların olgunlaştırılması 15-25 °C'ler arasında, hava sirkülasyonu 0.5-1.5 m/saniye ve bağıl nemin %75-95 arasında değişen koşulların sağlanabildiği klimatize odalarda gerçekleşmektedir (Anar, 2010).

Fermente sucuk üretiminde en kritik aşama olgunlaşma aşaması olup arzu edilen tat, lezzet aroma ve renk gibi kriterler ile olgunlaşma esnasındaki mikrobiyolojik, enzimatik, fizikokimyasal özellikler bu aşamada oluşmaktadır (Öztan, 2005).

Olgunlaşma esnasında ortamın bağıl nemi, sıcaklığı ve hava sirkülasyonu gibi dış etkenler ve sucuk hamuruna katılan tuz, şeker, yağ miktarı, sucuk kılıfının kalibrasyonu gibi iç etkenler önemli rol oynamaktadır (Anar, 2010).

Sucuk hamurunun kılıflara doldurulmasından sonra başlayan pH düşüşü, şeker miktarı ve oda sıcaklığının yüksek olması durumunda hızlanmaktadır. Sucuğun kıvamı da önemli bir kalite kriteri olup sucuğun dilimlenebilir olması pH'ın 5.2-5.3'lere düşmesiyle şekillenmektedir. Bu nedenle, sucukta pH düşüşü izlenmeli ve 5.1'lerin altına düşürülmemelidir. Satışa sunulan kaliteli bir sucukta pH 5.1-5.2 arasında olmalıdır (Anar, 2010, Gökalp ve ark., 1997).

Sucuğun olgunlaşması sırasında su aktivitesi değeri düşmeye devam etmektedir. Su aktivitesinin düşme hızı üzerinde olgunlaşma sıcaklığı, bağıl nem, hava sirkülasyonu ve bağırsak kalınlığı etkilidir. İstenmeyen mikroorganizmaların inhibisyonu su aktivitesinin düşmesi ile sağlanmaktadır (Anar, 2010).

Sucuk üretiminde fermentasyon ve kurutma aşamalarında nem kaybına bağlı olarak ağırlık kaybı olmaktadır. Sucuğun nem oranı ile ağırlık kaybı arasında önemli bir negatif korelasyon olduğu bildirilmiştir (Gökalp ve ark., 1997). Ağırlık

kaybı, kuruma sonucunda sucuktan buhar olarak uzaklaşan suyun hesaplanmasıyla bulunmaktadır (Anar, 2010).

2.1.1.2. Isıl İşlem Görmüş Sucuk

Isıl işlem görmüş sucuk, et ve yağ bileşenlerinin kıyılarak baharatlarla karıştırılması sonrası doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermentasyon ve/veya ısıl işlem uygulanıp nem oranı %50'nin altına düşürülmüş et ürünleri olarak tanımlanmaktadır (Anonymous, 2012).

Isıl işlem görmüş sucuk üretiminde dolum işleminden sonra kısa bir olgunlaştırmayla pH 5.2—5.3'lere indikten sonra değişik sıcaklıklarda ısıl işlem uygulaması yapılıp (40 ºC'de 6-8 saat veya 55 ºC de 45-60 dakika gibi) üretim kısa sürede tamamlanmaktadır (Öztan, 2005). Isıl işlemle birlikte fermantasyonu gerçekleştiren bakteriler inhibe edilmekte ve pH daha fazla düşmediği için fermente sucuğa özgü tat ve aromalar yeterince gelişmemektedir (Denktaş, 2010).

Geleneksel Türk sucuğunun en önemli aşamalarından biri olan fermantasyon aşaması zaman ve işgücü gerektirdiğinden sucuk üretiminde ısıl işlem uygulaması yaygınlaşmış böylece daha kısa sürede üretilen, ekonomik bir sucuk üretim yöntemi geliştirilmiştir (Ertaş, 2006).

Aşağıda örnekleri verilen, piyasada satılan sucuklar üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, ülkemizde üretilen sucukların kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik açıdan önemli farklılıklar gösterdiği ve çoğu zaman standart ve tebliğlere uygun olmayan sucukların satışa sunulabildiği görülmektedir.

Şenol (1996) tarafından fermente sucuklarda bozulmaya neden olan faktörlerin incelenmesi üzerine yapılan çalışmada, 30 örneğin 5'inde pH değeri 5.0'den küçük (%16.6), 15'inde pH değeri 5.0-5.5 arasında (%50), 7'sinde pH değeri 5.5-6.0 arasında (%23.3), 3'ünde ise pH değeri 6.0'ın üzerinde (%10) bulunmuştur. Aynı şekilde rutubet değerleri 30 sucuk örneğinin %26.6'sında (8 adet) %40'ın altında, %40'ında (12 adet) %40-45 arasında, %23.3'ünde (7 adet) %45-50 arasında ve %10'unda (3 adet) %50'in üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Sancak ve ark. (1996), Van piyasasından temin ettikleri 50 adet fermente sucukla yaptıkları çalışmada sucuk örneklerinden 8 adedinin (%16) rutubet yüzdesini 20-30 arasında, 25 adedinin (%50) rutubet yüzdesini 30-40 arasında, 12 adedinin (%24) rutubet yüzdesini 40-50 arasında ve 5 adedinin (%10) rutubet yüzdesini 50-60 arasında saptamışlardır. Sucuk örneklerinin pH değerleri 25 örnekte (%50) 5.4'ten küçük, 13 örnekte (%26) 5.4-5.8 arasında ve 12 örnekte (%24) 5.8'in üzerinde bulunmuştur. Su aktivitesi (a_w) değerlerine bakıldığında ise; 10 örnekte (%20) 0.90'ın altında, 23 örnekte(%46) 0.91-0.94 aralığında ve 17 örnekte (%34) 0.95-0.98 arasında olduğu bildirilmiştir.

Doğu ve ark. (2002)'nın Afyon ilinde faaliyet gösteren 5 adet et işletmesinden 15'er günlük periyodlarla aldıkları örneklerde, pH değerleri 4.76-6.90 arasında, nem içerikleri ise %42.26-53.68 (ort.%47.58) arasında bulunmuştur. Yapılan araştırmada nem içerikleri açısından işletmelerin kendi arasında ve farklı üretim tarihlerinde alınan örnekleri arasında önemli düzeyde farklılık olduğu ve üretimde standardizasyonun olmadığı sonucuna varılmıştır. Sucuklardaki yüksek nem içeriğinin Afyon bölgesinde uygulanan hızlı üretim metodlarından, bazik polifosfat katılmasından ve ürünlerin tam olgunlaştırılmadan piyasaya sürüldüğünden kaynakladığı sonuçlarına ulaşılmıştır.

Köse (2010) tarafından Tokat'ta yapılan çalışmada 12 sucuk örneğinin 6'sının nem içeriği %40'ın üzerinde bulunmuştur. Sucukların pH değerleri 5.08-5.66 arasında bulunmuştur. İncelenen sucukların su aktivitesi değerleri arasında önemli düzeyde fark olduğu bildirilmiştir. Sucuk gruplarında renk değerleri (L* a* b*) arasındaki önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir.

Poçan ve ark. (2015), Konya'da ticari olarak satışa sunulan fermente ve ısıl işlem görmüş sucukların pH, renk ve tekstürel özelliklerini belirledikleri çalışmalarında; fermente sucuk örneklerinin pH değerleri 4.92-5.37, ısıl işlem görmüş sucuk örneklerinin pH değerleri ise 4.92-5.68 arasında bulunmuştur. Fermente sucukların iç kesit yüzeyi a* değerleri, ısıl işlem görmüş sucukların iç kesit yüzeyi a* değerlerinden genel olarak yüksek bulunmuştur, sucukların dış

kesit yüzeyi a* değerleri ise düşük bulunmuştur. Fermente ve ısıl işlem görmüş sucuklarda kullanılan hammaddelerin (et, yağ, baharatlar, katkı maddeleri), üretim boyunca uygulanan işlemlerin (sıcaklık, fermentasyon süresi, çevre sıcaklığı) ve tüketime kadar olan süreçteki bekleme koşullarının değişik firmaların ürettiği sucukların fizikokimyasal ve tekstürel özellikleri arasında farklılık yarattığı sonucuna ulaşılmıştır.

Pehlivanoğlu ve ark. (2015) tarafından ülkemiz piyasasında fermente sucuk olarak satılan ürünlerin kalite özelliklerinin karşılaştırılması ve geleneksel sucukla karşılaştırılmasıyla ilgili yapılan çalışmada, pH değerlerinin, örneklerin 22 adedinde 4.7-5.4 arasında ve 8 adedinde 5.4-6 arasında olduğu, rutubet değerlerinin ise örneklerin 6 adedinde %35-40 arasında, 11 adedinde %40-45 arasında ve 12 adedinde %45-55 arasında olduğu bildirilmiştir.

2.2. Farklı Et Türlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Literatürde, farklı et türlerinin gıda ürünlerinde kullanılmasından kaynaklı hilelerin ortaya çıkarılmasında kullanılabilecek bir çok analiz yöntemi bildirilmektedir. Bu yöntemler arasında, etin kaynağını veya herhangi bir tağşiş yapılıp yapılmadığını belirlemek için immünolojik (Kamber ve Özalp, 2009), elektroforetik (Ekici ve Akyüz, 2003), serolojik (Arun ve Uğur, 1999) ve genetik yöntemler (İlhak ve Arslan, 2007, Kesmen ve ark., 2009) sıralanabilmektedir. Bu yöntemlerden hassasiyetleri, doğrulukları, güvenilirlikleri ve hızlı sonuç vermeleri nedenleri ile öne çıkan iki yöntem ise Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA teknikleridir (Ayaz ve ark., 2006; Camma ve ark., 2002; Chisholm ve ark., 2005; Dincer ve ark., 1987; Fajardo ve ark., 2004; Giovannacci ve ark., 2008; Kesmen ve ark., 2009; Kotoura ve ark., 2012; Özpınar ve ark., 2013).

2.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi, ilk olarak 1985 yılında Kary Mullis ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. "*Thermus aquaticus*" bakterisinden

saflaştırılan ısıya dayanıklı *Taq* polimerazın kullanımı ile birlikte enzimin her döngüde eklenme gereği ortadan kalkarak PCR için otomatik termal döngü cihazları geliştirilmeye başlanmıştır (Somma ve Querci 2006).

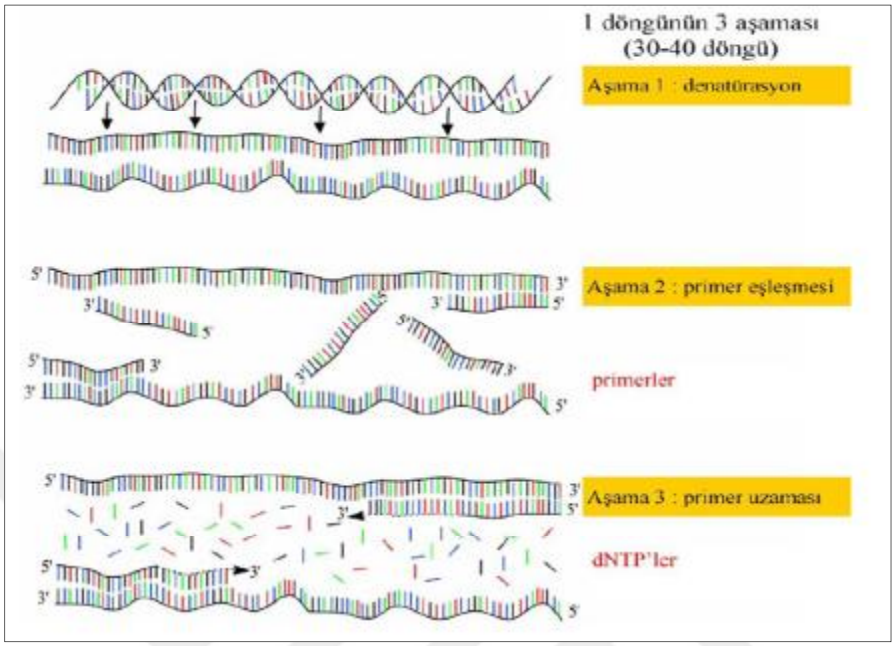
PCR, hücre içinde DNA'nın kendini eşlemesi mekanizmasına dayanmaktadır. DNA'nın çoğaltılması için PCR tepkimesinde olması gereken bileşenler; hedef DNA, aranan türe özgü primerler, *Taq* DNA polimeraz enzimi, deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP*)*, Mg^{+2} tamponu ve DNA içermeyen sudur. Bu yöntem, çift zincirli DNA'nın yüksek sıcaklıklarda çözülerek tek sarmal haline gelmesi, primer olarak kullanılan iki oligonükleotidin hedef DNA'ya bağlanması, Mg^{+2} iyonlarının varlığında katalizör olan *Taq* DNA polimeraz ile primerlere nükleotid eklenmesi ve DNA zincirinin uzaması işlem döngülerinin bir çok tekrarından oluşmaktadır (Somma ve Querci 2006).

Bir PCR döngüsü denatürasyon, primerlerin bağlanması ve uzama olarak adlandırılan üç aşamadan (Şekil 2.1) oluşmaktadır (Watson ve ark., 1992).

(i) Denatürasyon: Kalıp DNA'nın çift sarmal yapısındaki DNA iplikçiklerinin , 90-96 ºC'de birbirinden ayrıldığı aşamadır (Watson ve ark., 1992).

(ii) Primer Eşleşmesi: Bu aşamada, özgün primerler uygun sıcaklıkta orijinal kalıp DNA'nın açılan zincirlerinin kendi baz dizilerine karşılık gelen bölgelere bağlanmaktadır (TÜBİTAK, 2003).

(iii) Primer uzaması:DNA zincirleri üzerine yapışan primerlerin 5'–3' eksonükleaz aktivitesine sahip *Taq* DNA polimeraz enzimi vasıtasıyla uzatılmasıdır. *Taq* DNA Polimeraz enzimi, uygun tampon ve dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP*)* varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlamaktadır. Böylece kalıp DNA ipliğine tamamlayıcı olan yeni DNA molekülü sentezlenmektedir. Art arda tekrarlayan denatürasyon, primerlerin bağlanması ve primerlerin uzaması aşamalarıyla DNA parçaları üssel olarak artmaktadır (Arı, 2004).



Şekil 2.1. PCR temel aşamaları (Anonymous, 1999).

Gerçek Zamanlı PCR yöntemi ise, PCR sonucu oluşan nükleik asit ürünlerinin çift zincirli DNA arasına giren floresan bir boya veya floresan ile işaretli problar vasıtasıyla gerçek zamanlı olarak bilgisayar monitöründen izlenebilmesidir. Gerçek Zamanlı PCR'da oluşan ürün miktarı reaksiyon boyunca oluşan ürün miktarıyla orantılı olarak artan floresan boyanın verdiği sinyalin bilgisayarda izlenmesiyle belirlenmektedir (Kubista ve ark., 2006).

Gerçek Zamanlı PCR yönteminin prensibi *Taq* DNA polimerazın 5'– 3' eksonükleaz aktivitesine dayanmaktadır. Çifte işaretli prob olarak bilinen Taqman prob ise *Taq* DNA polimeraz tarafından hidrolize edilerek ışıma yapan, çoğaltılmak istenen DNA bölgesine uygun bir sentetik oligonükleotidtir. Taqman probun 5' ucunda bir bildirici (reporter) boya, 3' ucunda ise bir söndürücü (quencer) boya bulunmaktadır. PCR esnasında enzim aktivitesi ile birlikte bildirici ve söndürücü arasında bulunan prob parçalanarak ayrılmakta ve baskılamanın ortadan kalkması ile ışıma meydana gelmektedir. Amplifikasyon miktarı arttıkça

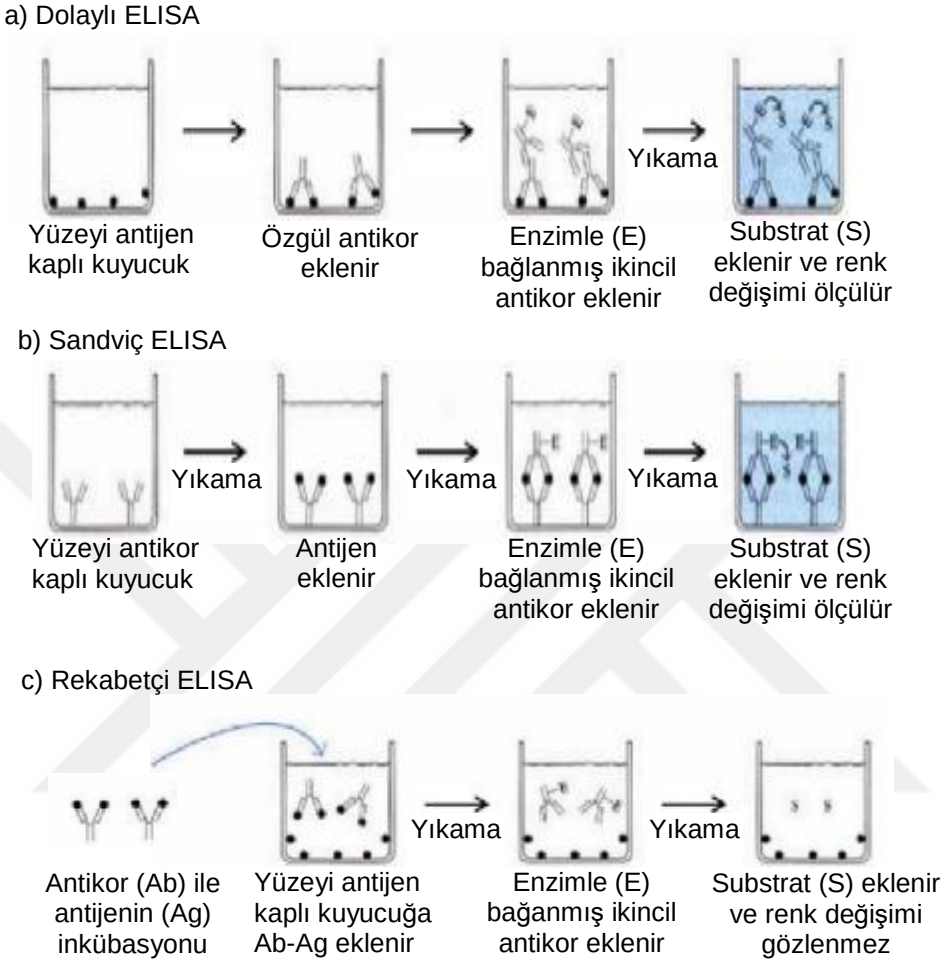
bildirici boyanın açığa çıkmasıyla birlikte ışıma doğrusal olarak artmakta ve artan floresanın bilgisayar monitöründen eş zamanlı olarak takibi gerçekleşmektedir (Anonymous, 2016).

2.2.2. ELISA Yöntemi

ELISA 1971 yılında Stockholm Üniversitesinden Peter Perlmann ve Eva Engvall tarafından geliştirilmiştir (Engvall, 2010).

ELISA tekniği ile et türlerinin ayırt edilmesinde, türe özgü poliklonal (PAbs) ve monoklonal (MAbs) olmak üzere iki tip antikor kullanılmaktadır. Monoklonal antikorun avantajlarından dolayı çiğ ve pişmiş etlerde tür tespitine yönelik ticari kitler geliştirilmiştir (Günşen ve ark., 2006, Ayaz, 2006).

ELISA testi üç farklı yöntemle gerçekleştirilmektedir. Şekil 2.2'de bu yöntemler şematik olarak gösterilmiştir. Yüzeyi antikor kaplı kuyucuklar örnekten ekstrakte edilen protein solüsyonuyla yıkanıp aranan türe özgü antijenlerin antikorlara bağlanması sağlamaktadır. Solüsyonun yıkanmasıyla antijen-antikor kompleksi dışındaki diğer proteinler ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Aranan antijene bağlanabilen bir enzimin eklenmesiyle birlikte ortamda bulunan substratlar parçalanmakta ve renk değişimi spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (Anonymous, 2011).



Şekil 2.2. ELISA yöntemleri (Eyquem, 2004)

Çalışmada kullanılacak olan sandviç ELISA yöntemi hızlı, kolay, güvenilir ve ekonomik olmasının yanı sıra, tüm et türlerine uygulanabilme (çiğ veya pişmiş), karışık etlerde tür tayini sağlama ve tüm sınıflara spesifik olma özelliği taşımaktadır (Hsieh, 2004).

2.3. Et ve Et ürünlerinde PCR ile Yapılan Tür Tayini Çalışmaları

İlhak (2004) tarafından at, köpek, kedi, sığır, koyun, domuz ve keçi hayvan türleri ve bunların farklı oranlarındaki karışımlarıyla yapılan PCR çalışmasında %5, %2.5, %1 ve %0.5 oranlarındaki farklı et karışımlarının 30 döngülük PCR işlemi sonucunda başarıyla tespit edildiği, %0.1 oranındaki farklı tür et karışımlarının ise 35 döngülük PCR işlemi ile tespit edildiği bildirilmiştir.

Arslan ve ark. (2004) tarafından 8 farklı tür kanatlı hayvan eti kullanılarak (tavuk, hindi, martı devekuşu ördek, kaz, bıldırcın, keklik) PCR tabanlı 'Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) yöntemiyle yapılan tür tayini çalışmasında, kullanılan 2 farklı primerin sonuçlarına göre, 1. primerin tüm türlerin tayininde başarılı olduğu, 2. primerin ise tavuk ve kaz etini tespit edemediği bildirilmiştir.

Dooley ve ark. (2004) tarafından İngiltere'de yapılan deneysel çalışmada domuz, tavuk, hindi, sığır, koyun eti türlerinin tespitine yönelik spesifik Gerçek Zamanlı PCR çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Karışım çiğ et ile aranan türlerden belli oranlarda yapılan karışımlarda, sığır, koyun ve domuz eti için tespit limitinin %0.5 civarında olduğu belirlenmiştir. Bu oranın tavuk ve hindi etinin tespitinde %0.1 düzeyinin altına indiği bildirilmiştir.

İngiltere'de yapılan başka bir deneysel çalışmada ise, Chisholm ve ark. (2005) tarafından ticari et ürünlerinde çok düşük miktarlardaki at ve eşek etinin tespiti için PCR yöntemi kullanılmıştır. Her iki et türünün de yüksek hassasiyette tespit edilebildiği sonucuna ulaşılmıştır.

İlhak ve Arslan (2007) tarafından at, köpek, kedi, sığır, domuz ve keçi etine özgü primerler kullanılarak yapılan PCR çalışmasında sığır, koyun ve keçi etlerinin herbirine domuz, at, kedi ve köpek etlerinden %5, %2.5, %1, %0.5 ve %0.1 oranlarında karışım yapılıp tür tespitinin kolay ve kısa zamanda gerçekleştiği bildirilmiştir.

Kesmen ve ark. (2010) tarafından yapılan bir başka PCR çalışmasında sığır ve koyun etlerine farklı seviyelerde(%0.0, %0.1, %0.5, %1 ve %5) at, eşek ve

domuz etleri karıştırılarak yapılan sucuk örneklerinde aranan türlerin tespitin tüm seviyelerde başarı ile gerçekleştiği bildirilmiştir.

Jonker ve ark. (2008) Holllanda'da yaptıkları bir çalışmada, 150 adet et örneğine farklı et türlerini (hindi, sığır, domuz, tavuk, hindi) farklı oranlarda karıştırıp, bu et türlerini Gerçek Zamanlı PCR yöntemi ve DNA hibridizasyon yöntemleriyle tespit etmeye çalışmışlardır. Bu türlerin Gerçek Zamanlı PCR yöntemiyle %0.05 seviyesinin altında tespit edildiği belirlenmiştir. Bu çalışmada Gerçek Zamanlı PCR yönteminin DNA hibridizasyonu yöntemine kıyasla yüksek hassasiyet ve spesifite gösteren bir yöntem olduğu ifade edilmiştir.

Kesmen ve ark. (2009) çiğ ve pişmiş et ürünlerindeki farklı et türlerinin tanımlanmasında Gerçek Zamanlı PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada; eşek, at, domuz türlerinin mitokondrial ND2, ND5 ve atp 6-8 genlerine özgü primerler ve Taqman probları dizayn edilmiş ve yöntemin performansını test etmişlerdir. Sonuçlarda, eşek ve domuza spesifik primer-prob sistemlerinde ve hedef olmayan türlerde (sığır, tavuk, hindi) çapraz reaksiyon gözlenmemiştir. Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan Taqman problar ile, çiğ ve pişmiş et ürünlerinde farklı et türlerinin tanımlanması için hızlı ve hassas bir yöntem olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Camma ve ark. (2012) tarafından İtalya'da yapılan başka bir deneysel çalışmada ise hindi, tavuk, domuz, sığır, koyun etlerinin tespitiye ilgili spesifik Gerçek Zamanlı PCR protokolleri geliştirilmiştir. İlgili et türlerinin tespit limiti 0.02 pg-0.08 pg DNA arasında bulunmuştur. Çalışmada kullanılan Gerçek Zamanlı PCR protokollerinin tümü, her bir tür diğer türe %1 oranında karıştırıldığında aranan türün başarılı bir şekilde belirlenmesini sağladığı bildirilmiştir.

Kesmen ve ark. (2013) çiğ ve ısıl işlem görmüş et ürünlerinde olası martı eti kullanıma karşı var olan tüketici endişesine yönelik olarak, spesifik primerler ve Taqman prob dizayn ettikleri Gerçek Zamanlı PCR çalışması ile, çiğ ve ısıl işlem görmüş et karışımlarında %0.1 oranında martı etinin tespitini gerçekleştirmişlerdir.

Ayrıca diğer et türleriyle çapraz reaksiyon gelişmeden 100 pg seviyesinde martı etinin tespitinin mümkün olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Ulca ve ark. (2013) tarafından İstanbul'da yapılan bir çalışmada ticari PCR kitlerinin performansları değerlendirilmiştir. 42 adet et ürününde Gerçek Zamanlı PCR tekniği ile yapılan çalışmada 4 üründe domuz etine rastlanmıştır.

Kesmen ve ark. (2014) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise çiğ ve pişmiş et karışımlarında domuz ve eşek etinin tespiti ve kantifikasyonunun optimizasyonu için hızlı ve yüksek spesifiklikte Taqman bazlı dubleks Gerçek Zamanlı PCR metodu geliştirilmiştir. Sonuç olarak hedef et türlerinin çiğ ve fırınlanmış ürünlerde %0.001 oranında, otoklavlanmış et karışımlarında ise %0,01 oranında tespit edildiği sonucuna ulaşılmıştır.

Perestam ve ark. (2017), Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA yöntemlerini, hassasiyet, spesifite, maliyet, zaman ve kullanım kolaylığı yönünden kıyaslayarak işlenmiş et ürünlerinde sığır ve domuz türlerinin aranmasını gerçekleştirmişlerdir. Sonuçlar karşılaştırıldığında Gerçek Zamanlı PCR yöntemi paralel örneklerin tutarlılığı açısından %96.7, ELISA yöntemi ise %95.6 başarı sağlamıştır.Her iki metot da et türlerinin tanımlanmasında başarılı bulunmuştur. Gerçek Zamanlı PCR çalışması daha az maliyetli bulunurken, ELISA, kısa zaman alması ve pratikliği ile ön plana çıkmıştır. Sonuç olarak Gerçek Zamanlı PCR çalışmaları işlenmiş et ürünlerinde tür tespitinde düşük tespit limiti gerektiği durumlarda uygun bulunurken, ELISA çalışmalarının diğer özellikleri yönünden daha avantajlı olduğu belirtilmiştir.

2.4. Et ve Et ürünlerinde ELISA yöntemi ile Yapılan Tür Tayini Çalışmaları

Dinçer ve ark. (1987) tarafından İngiltere'de yapılan bir çalışmada iki amaç hedeflenmiştir. Birinci amaç ile et örneklerinde, farklı et türlerini tespit edebilen rekabetçi ve dolaylı ELISA yöntemlerinin geliştirilmesi ve kıyaslanması, diğer amaç ile ise kürleme ve pişirmenin et türlerinin tespitindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Her iki ELISA prosedürü ile et karışımlarında, %5'in

altındaki domuz ve koyun etinin tespit edilebildiği belirlenmiştir. Ancak pişirme işleminin, domuz etinin tespitini olumsuz etkilediği ortaya konulmuştur. Kürleme ve pişirme işlemi ise, ELISA prosedüründe %70-74 oranında koyun etinin sinyalini düşürmüştür. Sonuç olarak, her iki ELISA prosedürünün de çiğ ve kürlenmiş et ürünlerinde et orijininin belirlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir. Çiğ ve kürlenmiş etlerin pişirilmesinin ise tür orijininin belirlenmesini önemli ölçüde olumsuz etkilediği ifade edilmiştir.

Berger ve ark. (1988), ELISA yönteminin hayvana özgü serum proteinlerine karşı antikorlar kullanılarak farklı et türlerinin tanımlanmasında kullanıldığını bildirmişlerdir. Pişmiş ve konserve et ürünlerinde yaptıkları çalışmada, kanatlı etinin arandığı ELISA uygulaması ile tavuk ve hindi eti 126 ppm seviyesinde tespit edilebilmişken, domuz etinin arandığı ELISA uygulaması ile ise 250 ppm seviyesinde domuz eti tespit edildiği bildirilmiştir.

Martin ve ark. (1991) tarafından İngiltere'de gerçekleştirilen bir çalışmada ise, sığır ve domuz eti karışımında %1-100 oranındaki tavuk etinin tespiti için monoklonal sandviç ELISA testinin başarıyla kullanıldığı bildirilmiştir.

Macedo Silva ve ark. (2000), İngiltere'de düşük maliyetli etlerin hamburger etinde kullanımının gündeme gelmesi sonucunda, bu tağşişin belirlenebilmesi için Dot-ELISA (dotimmunobindingassay) yöntemini kullanmışlardır. Sığır, tavuk, at ve domuz etlerine ait antiserum üretilip, her tür için %0.6'nın altındaki et türünün tespitini gerçekleştirmişlerdir. Analiz edilen ticari hamburger etlerinin hiçbirinde tağşişe rastlanmamıştır.

Giovannacci ve ark. (2004) tarafından Fransa'da 40 ticari konserve ürünü ile yapılan bir çalışmada, ileri seviyede işlenmiş gıdalarda ELISA yönteminin düşük miktarlardaki et türlerinin (domuz, sığır, kanatlı ve koyun) tayininde kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Ayaz ve ark. (2006)'nın Ankara'da 100 adet fermente et ürününde ELISA yöntemiyle farklı et türlerinin aranıp etiketlerine uygunluklarının araştırılmasıyla

ilgili yaptıkları çalışmada, örneklerin %22'sinde etiketlerine uygun et içeriğinin olmadığı tespit edilmiştir.

Günşen ve ark. (2006), Bursa ve İstanbul bölgesindeki çeşitli satış noktalarından temin edilen 410 et ve et ürünününde ELISA yöntemi kullanılarak yaptıkları tür tayini çalışmasında 67 örneğin (%16.3) etiket bilgileriyle uyumlu olmadığı, toplam 79 adet (%19.2) örneğin hileli olduğu sonucuna varmışlardır.

Asensio ve ark. (2008), yaptıkları derleme çalışmasında et ve et ürünlerinde maliyeti daha ucuz olan farklı et türlerinin kullanılmasının piyasada geniş bir problem haline dönüştüğü ve DNA bazlı yöntemlerin ve ELISA tekniklerinin et tür tayinlerinde en sık kullanılan yöntemler olduğu bildirilmiştir. DNA bazlı yöntemlerin daha hassas ve spesifik olmasına karşın pahalı laboratuvar ekipmanları ve teknik bilgi gerektirdiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak ELISA tekniği ile hassas ve yüksek spesifiklikte ve genetik yöntemlere göre daha pratik olmasından dolayı daha fazla miktarda örnek çalışılabileceği bildirilmiştir.

Ülkemizde Aydın ve İzmir Bölgesinde 2009 yılı içerisinde yapılan bir araştırmada, çeşitli satış noktalarından tesadüfi örnekleme yoluyla temin edilen 100 adet ısıl işlem görmüş et ürünü (sucuk, salam, sosis, hazır köfte vb.) analiz edilerek, et örneklerinde, tavuk, sığır, domuz, at ve deve eti varlığının ELISA metodu kullanılarak tespiti amaçlanmıştır. İncelenen örneklerden, etiket bilgilerinde %100 dana eti ibaresi bulunan 37 örneğin %29.72'sinde kanatlı etine rastlandığı; etiket bilgilerinde değişik yüzdelerde dana piliç eti karışımı yazılı 34 örneğin %50'sinde dana etinin negatif olduğu; etiket bilgilerinde %100 piliç veya %100 hindi yazılı örneklerin hiçbirinde domuz ve at etine rastlanmadığı bildirilmiştir (Atasever, 2011).

Özşensoy ve ark. (2015) tarafından 7 farklı satış noktasından rastgele örnekleme yöntemiyle alınan sucuk, salam, sosis ve köfte örneklerinde tür tayininin tespiti Agar Gel Immunodiffusion (AGID), ELISA ve PCR yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Analizde kullanılan AGID, ELISA ve PCR yöntemlerinde aynı örnekler sığır eti yönünden pozitif bulunmuştur. ELISA sonuçlarına göre üç

örneğin (2 salam ve 1 sucuk) sığır eti bakımından negatif olduğu saptanmıştır. PCR sonuçlarına göre ise bu üç örneğinde içinde olduğu toplam 11 farklı örnekte küçük ruminant (koyun / keçi) kalıntısı tespit edilmiştir. Ayrıca farklı 3 örnekte ise kanatlı (tavuk) kalıntısı tespit edilmiştir. Kullanılan üç yöntemle tüm örneklerde domuz, at, kedi kalıntısına rastlanmamıştır.

Yalçın ve Alkan (2012) tarafından Mersin ve Adana piyasasından toplanan 140 adet et ve et ürününde (45 adet et, 45 adet kıyma, 20 adet fermente sucuk, 30 adet hamburger köfte) Uhlenhuth presipitasyon halka, ELISA ve AGID metotları kullanılarak domuz ve at eti varlığı araştırılmıştır. İncelenen 140 örneğin 4'ünde (%2.9) at eti tespit edilmiştir. Analizde kullanılan üç yöntemle de aynı örnekler at eti açısından pozitif bulunmuştur.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Bu çalışmada Adana İlinde Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2012/74 ve Tebliğ No: 2015/7) uyarınca Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan sucuk üretimi için işletme onay belgesi bulunan 10 işletmeden ısıl işlem uygulanarak veya geleneksel yöntemle üretilmiş ve işletme onay belgesi olmadığı halde Adana'da sucuk üretiminin yoğun olarak yapıldığı bilinen bölgelerde yer alan 10 farklı kasaptan tesadüfi olarak seçilen, geleneksel yöntemle üretilmiş dana sucuk örnekleri kullanılmıştır. Bu amaçla, farklı üretim tarihleri dikkate alınarak 3 tekerrürlü olacak şekilde sucuk örnekleri üretim noktalarından temin edilip, polietilen torbalarda ağızları kapalı olarak soğuk zinciri bozulmadan laboratuvara getirilmiş ve buzdolabı koşullarında + 4 ºC'de muhafazaya alınmıştır. Alınan örneklerin bölgesel dağılımı Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. İşletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinden ve işletme onay belgesi bulunmayan 10 adet kasap dükkanından temin edilen ısıl işlem uygulanarak veya geleneksel yöntemle üretilmiş sucuk örneklerinin bölgesel dağılımı

Örnek No	Üretim Tipi	Üretim yeri	Örnek No	Üretim Tipi	Üretim yeri
1.İşletme	Isıl işlem	Pozantı	1.Kasap	Geleneksel	Salbaş
2.İşletme	Geleneksel	Seyhan	2.Kasap	Geleneksel	Salbaş
3.İşletme	Isıl işlem	Çukurova	3.Kasap	Geleneksel	Salbaş
4.İşletme	Isıl işlem	Seyhan	4.Kasap	Geleneksel	Salbaş
5.İşletme	Isıl işlem	Sarıçam	5.Kasap	Geleneksel	Salbaş
6.İşletme	Isıl işlem	Seyhan	6.Kasap	Geleneksel	Yüreğir
7.İşletme	Isıl işlem	Seyhan	7.Kasap	Geleneksel	Yüreğir
8.İşletme	Isıl işlem	Çukurova	8.Kasap	Geleneksel	Yüreğir
9.İşletme	Isıl işlem	Seyhan	9.Kasap	Geleneksel	Yüreğir
10.İşletme	Isıl işlem	Yüreğir	10.Kasap	Geleneksel	Salbaş

3.2. Metod

3.2.1. pH Tayini

Sucuk örneklerinden 10 g alınarak, 90 ml saf su ilave edilmiş ve masa tipi bir parçalayıcı-karıştırıcı (blender) ile örnekler homojenize edilmiştir. Karışımın pH'sı uygun tampon çözeltilerle kalibre edilen pH metre (Mettler Toledo, USA) kullanılarak ölçülmüştür (Gökalp ve ark., 2001).

3.2.2. Nem Tayini

Sucuk örnekleri parçalayıcı-karıştırıcı (blender) ile öğütülerek homojenize edilmiştir. Etüvde (Memmert, Universal oven tech., Almanya) 100°C'de 2 saat kurutulan steril aluminyum tartım kapları soğuması için desikatöre alınmıştır. Homojenize edilmiş olan sucuk örnekleri, desikatörde soğutulan tartım kaplarına hassas terazi (Sartorius TE214S, ABD) kullanılarak 5g (0.0001 hassasiyetle) olacak şekilde tartılmış ve 100 ºC'ye ayarlı etüvde 16 saat kurumaya bırakılmıştır. Kurutma sonrası sucuk örnekleri desikatöre alınıp soğutulduktan sonra tartımları alınmıştır. Örneklerdeki ağırlık kaybı değeri üzerinden % nem içeriği hesaplanmıştır (AOAC, 2000).

Hesaplamada kullanılan formül:

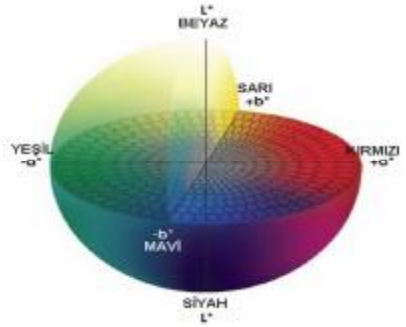
$$\%\text{Nem}=\left[\frac{\text{Ağırlık kaybı}}{\text{Örnek ağırlığı}}\right]\times 100$$

3.2.3. Su Aktivitesi (a_w)

Homojenize edilmiş sucuk örneklerinin a_w değerleri, sıcaklığı 25ºC'ye ayarlı Novasina LabMaster su aktivitesi cihazı (Novasina, Novasina AG, İsviçre) kullanılarak ölçülmüştür. Örneklerin konulduğu özel plastik kapların kapakları açılarak cihazın ölçme kabinine yerleştirilmiş ve a_w değeri belirlenmiştir.

3.2.4. Renk Ölçümü

Sucuk örneklerinin renk ölçümleri Konika Minolta Chroma Meter CR-400 (Japonya) cihazı ile yapılmıştır. Cihaz, renk okumadan önce cihaza ait standart kalibrasyon skalası ile kalibre edilmiştir. Örneklerin dış yüzeylerindeki 3 farklı noktadan ve iç kesitlerindeki 3 farklı noktadan L*, a* ve b* değerleri ölçülmüş, $C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$ ve $h = \tan^{-1}(b^*/a^*)$ formülleri ile kroma (C*) ve hue (H*) değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler 3 boyutlu koordinat sistemi ile ifade edilmektedir. L* değeri parlaklıktan koyuluğa gidişi belirtirken dikey eksende yer almakta, +a* değeri kırmızılığa, -a* değeri yeşilliğe, +b* değeri sarılığa, -b* değeri ise maviliğe gidişi ifade etmektedir (Lee ve ark. 2001).



Şekil 3.1. Üç boyutlu kordinant üzerinde, L*,a*,b* değerlerinin gösterimi (Konica, 2007).

3.2.5. Tekstür Analizi

Sucuk örneklerinin tekstür ölçümleri, oda sıcaklığında, tekstür analiz cihazı (TA.XT2, Godalming, Surrey, Birleşik Krallık) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sucuk örneklerinden 1 cm kalınlığında ve 3 cm çapında olacak şekilde 3 örnek alınıp, 3.0 mm/s (ön-test), 1.0 mm/s (test) ve 3.0 mm/s (son test) sabit bir hızda aşağı doğru hareket eden 50 mm çapında probun (TA-25, 2" dia. cyl., alum., İngiltere) altına yerleştirilerek ölçümler yapılmıştır. Tekstür analiz cihazında sertlik, iç yapışkanlık, sakızımsılık, çiğnenebilirlik değerleri hesaplanmıştır (Kargozari ve ark., 2014).

3.2.6. Gerçek Zamanlı PCR

Gerçek Zamanlı PCR yöntemi ile tavuk tür tayini için, kullanılacak olan tüm kapaklı tüpler ve cam malzemeler otoklavlanarak hazır hale getirilmiştir. Çalışılacak örnekler kodlanıp, kullanılacak kitin (Macherey-Nagel Genomik DNA from Blood Kit, Macherey Nagel, Almanya) prosedürüne göre otoklavlanmış olan PCR tüplerine tartımları yapılmıştır (Anonymous, 2016a). Her bir tartımdan sonra eldiven değiştirilip, ortam %10'luk sodyum hipokloridle dezenfekte edilmiştir. Her tekerrürde aynı işlemler tekrar edilmiştir. Tartılan örnekler, örnek hazırlama odasından alınıp DNA eksraksiyon odasında DNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Elde edilen DNA'ların Biospect Nano spektrofotometre cihazında (Shimadzu, Japan) saflık ve konsantrasyonları (ng/ µl) ölçülüp Gerçek Zamanlı PCR (Applied Biosystems 7500 Fast, Thermoscientific, USA) cihazında (Çizelge 3.2.) kalitatif olarak tavuk türü varlığı analizine tabi tutulmuştur (Anonymous, 2016b).

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan Gerçek Zamanlı PCR cihazına ait bazı teknik özellikler

Gerçek Zamanlı PCR	Applied Biosystems 7500 Fast
Lazer/Lamba	Tungsten halojen lamba
Dedektör	CCD Kamera
Sıcaklık aralığı	4-100 °C
Multipleks kapasitesi	5
Örnek kanalı	96 plakalık
Reaksiyon hacmi	10-30 µl
Dinamik aralık	9 log

3.2.6.1. Örneklerin Hazırlanması ve Tartımı

Örnek hazırlama odasında her bir sucuk örneğinin en az 5 farklı noktasından bistüri yardımıyla 100 mg civarı örnek PCR tüplerinin içine konulup hassas terazide (Chyo, JL-200, YMC Co. Ltd., Japan) tartımları alınmıştır. Her bir örnekten sonra DNA bulaşmasını önlemek amacıyla kullanılan eldiven değiştirilip, ortam %10'luk sodyum hipoklorid ile dezenfekte edilmiştir.

3.2.6.2. DNA Ekstraksiyonu

Gerçek Zamanlı PCR'da hedef olarak kullanılmak üzere sucuk örneklerinden DNA'ların ekstrakte edilmesi ve saflaştırılması amacıyla Macherey-Nagel Genomik DNA from blood (Katalog Numarası: 740951.250) kiti kullanılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce kit prosedürüne göre kullanılan çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltiler ve kullanılan diğer malzemeler Çizelge 3.2'de listelenmiştir.

Çizelge 3.2. Macherey-Nagel Genomik DNA from blood kit prosedürüne göre kullanılan çözeltiler ve diğer malzemeler

Doku lizis tampon çözeltisi	Kullanıma hazır.
Proteinaz K solüsyonu (enzim)	30 mg Proteinaz K'ya 1.35 ml su eklenerek hazır hale getirilmiştir
Bağlanma tampon çözeltisi	Kullanıma hazır.
Yıkama tampon çözeltisi 1	Kullanıma hazır.
Yıkama tampon çözeltisi 2	12 ml yıkama çözeltisi konsantresine 48 ml etanol (%99.5) eklenerek hazır hale getirilmiştir.
Elüsyon tampon çözeltisi	Kullanıma hazır
Filtreli tüpler (spin kolon)	Kullanıma hazır
Atık tüpler	Kullanıma hazır

Örnek hazırlama odasında 100 mg civarı tartılan örnekler üzerine 350 µl Lizis tampon çözeltisi ve 25 µl enzim (Proteinaz K) konularak enzimin aktivasyon sıcaklığı olan 65 ºC'de kuru blok ısıtıcı (Boeco, TDB-100, Germany) kullanılarak 30 dakika inkübe edilmişlerdir. İnkübasyondan sonra tüpler mikrospin santrifüjde (Boeco, microspin 12, Germany) 13000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilip, yaklaşık 250 µl süpernatant alınıp 1,5 ml'lik temiz bir tüpe aktarılmıştır. Örnekler üzerine 250 µl %95'lik etil alkol eklenip vortekslendikten sonra spin kolonlara aktarılmıştır ve 11.000 rpm de 1 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Atık tüpler temizi ile değiştirilip spin kolonlara 500 µl yıkama tampon çözeltisi 1 eklenmiş ve 11000 rpm de 1 dakika tekrar santrifüj edilmiştir. Alt tüp temizi ile değiştirilip spin

kolonlara 600 µl yıkama tampon çözeltisi 2 eklenmiştir. Daha sonra tekrar 11000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

Bir sonraki aşamada ise, spin kolonlar temiz tüplere yerleştirilip üzerlerine önceden ısıtılmış elüsyon tampon çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında 1-2 dakika beklenip 11000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra spin kolonlarda tutulan DNA'lar elüsyon çözeltisi ile birlikte tüplere aktarılmış olup spin kolonlar atılmıştır.

3.2.6.3. DNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Ekstrakte edilen DNA'ların miktar ve saflığını belirlemek amacıyla Nanodrop Spektrofotometre cihazında 260 ve 280 nm dalga boylarında ölçüm yapılmıştır. DNA çözeltilerinin maksimum emilimi 260 nm'de, protein çözeltilerinin ise 280 nm'de olmaktadır. 260 ve 280 nm dalga boylarındaki ölçümün birbirine oranı (A260/A280) nükleik asitlerin saflık değerini vermektedir (Somma, 2006).

3.2.6.4. Gerçek Zamanlı PCR İşlemi

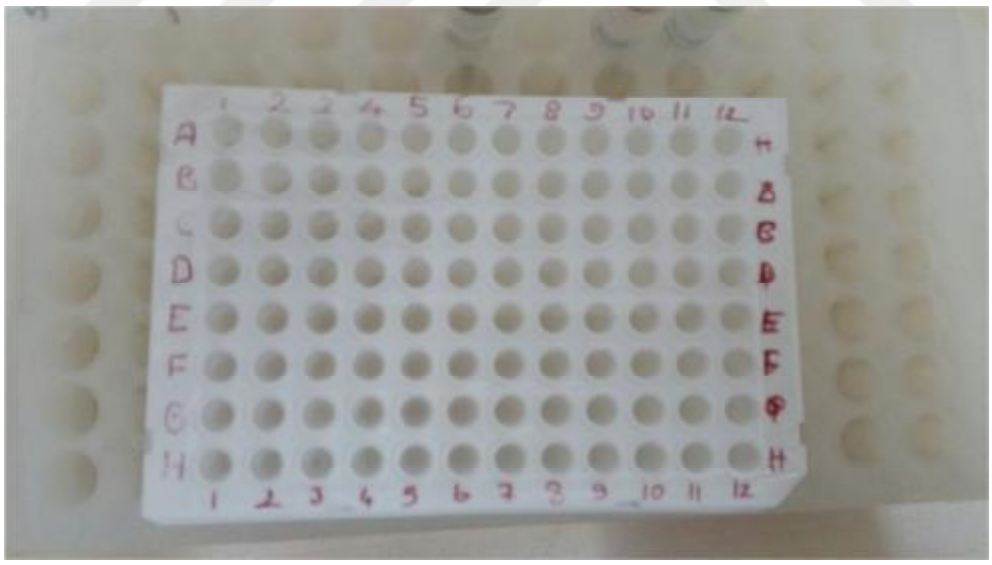
Örneklerden izole edilen DNA'lar, kullanılacak olan kitin (SNP Biyoteknoloji Tavuk Tür Tayin Kiti, SNP Biyoteknoloji, Türkiye) bileşenleriyle (Çizelge 3.3) muamele edilip, Gerçek Zamanlı PCR cihazında, kitin PCR protokolüne göre analize tabi tutulmuştur.

Çizelge 3.3. Tavuk tür tayin kit (SNP Biyoteknoloji Tavuk Tür Tayin Kiti) içeriği

Kit içeriği	Açıklama
Tavuk Mastermiks	Tavuk türüne özgü primer ve probları ve Taq DNA polimeraz ve internal kontrol içerir
Pozitif kontrol DNA	Pozitif test sonucu vereceği bilinen ve pozitif sonuç vermesi beklenen reaksiyon kontrolüdür
Negatif kontrol DNA	Negatif kontrol, içinde test edilen malzeme hariç bütün reaksiyon içeriğini barındıran kontroldür

3.2.6.4.(1). Test Prosedürü:

Kitin içeriğindeki mastermiks reaktifleri oda sıcaklığında (22 ºC) yaklaşık yarım saatte çözdürülüp vorteksle karıştırılmıştır. Analiz işlemi 2 grup halinde gerçekleştirilmiş olup; 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 9., 10.işletmeler ile 1., 2., 3., 4., 5. kasapların sucuk örnekleri Çalışma 1; 6.,7., 8., 9. ve 10. kasapların sucuk örnekleri ise Çalışma 2 olarak adlandırılmıştır. Gerçek Zamanlı PCR plakasında çalışılacak örneklerin ve ayrıca pozitif ve negatif kontrollerin her biri için belirlenen kuyucuklara 20.5 µl tavuk mastermiksi eklenmiştir. Örnekler için belirlenen kuyucuklara 4.5 µl DNA eklenmiştir. Plakada belirlenen kuyucuklara pozitif ve negatif kontroller de eklendikten sonra plakanın üzeri optik kapak film ile dikkatlice kapatılmış ve plaka plate santrifüjde (Nüve, NF 400, Türkiye) düşük hızda (10000 xg) santrifüj edilmiştir. Bir sonraki aşamada ise plaka Gerçek Zamanlı PCR cihazının termal blok kısmının içerisine yerleştirilip cihaz çalıştırılmıştır. Şekil 3.2'de hazırlanan plakanın görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.2. Gerçek Zamanlı PCR analizi için hazırlanan plakanın Gerçek Zamanlı PCR cihazına verilmeden önceki görüntüsü

Termal döngü protokolü, DNA molekülünün erimesi ve enzimatik olarak çoğalması için gereken reaksiyonu gerçekleştirmeye yarayan, tekrar eden ısıtma ve soğutma döngülerinden oluşan PCR programı/protokolüdür (Anonymous, 2017). Seçilen Gerçek Zamanlı PCR programının özellikleri Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Seçilen PCR program özellikleri

İlk Denatürasyon	95 ºC	10 dk	30 döngü
Denatürasyon	95 ºC	15 sn.	
Primer Bağlanması ve Sentez	60 ºC	1 dk.	
Soğutma	40 ºC	1 dk	

3.2.6.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

PCR işlemi bittikten sonra hedef gen boyası olan FAM (494 ve 515 nm dalga boylarında emilim yapan boya) ve internal kontrol boyası olan HEX (535 ve 555 nm dalga boylarında emilim yapan boya) ile elde edilen amplifikasyonlara bakılıp sonuçlar negatif veya pozitif olarak değerlendirilmiştir. Aranan tavuk türüne ait pikler için FAM boyasında görülmesi gereken Ct (eşik döngüsü) değer aralığı $12 \leq x \leq 28$ olmalıdır. Ct değeri Gerçek Zamanlı PCR çalışmalarında floresan sinyal miktarının gözlenebilmesi için gereken minimum döngü sayısını ifade etmektedir (Anonymous, 2017). İnternal kontrol pikleri ise HEX boyası ile analiz edilmekte ve tüm kuyucuklarda gözlenmesi gerekmektedir. İnternal kontrol Ct değerlerinin ise $24 \leq x \leq 28$ aralığında olması gerekmektedir. Eğer internal kontrol çalışmıyorsa DNA eksikliği, Hot Start Taq DNA Polimeraz eksikliği ya da yetersizliği veya testte inhibitör varlığı söz konusudur (Anonymous, 2016).

3.2.7. ELISA Metodu

ELISA metodu ile tür tayininde 20 sucuk örneğinin 3 tekerrürünün ekstraksiyonu yapılarak türe özgü sandviç tipi ELISA test kiti (ELISA-TEK® Cooked Meat Poultry Species Kit, ELISA Technologies, Inc., USA) ile kanatlı

etinin tespiti yapılmıştır. ELISA okuyucuda (Thermo, Multiscan spektrum, USA) örneklerin absorbans değerleri ölçülüp sonuçlar değerlendirilmiştir (Anonymous, 2011). Çalışmada kullanılan ELISA okuyucuya ait bazı teknik özellikler Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan ELISA cihazına ait bazı teknik özellikler

ELISA Okuyucu	Marka:Thermo, Model: Multiscan Spectrum
Işık Kaynağı	10 w Xenon flash lamp
Dedektör	Fotodiyodlar
Dalga boyu aralığı	200-1000 nm

3.2.7.1. Kit İçeriği ve Hazırlanması

Çalışmada kullanılan ELISA-TEK® Cooked Meat Poultry Species Kit içeriği Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan ELISA kitine ait bazı teknik özellikler

Antikor kaplı Mikroplaka modülü	Kullanıma hazır
Pozitif kontrol (%100)	Kullanıma hazır
Pozitif kontrol (%1)	%100'lük pozitif kontrolden %0.9'luk serum fizyolojik ile sulandırılarak hazırlanır.
Negatif kontrol (%100)	Kullanıma hazır
Kanatlı türüne spesifik antiserum biotinilat	Kullanıma hazır
Streptavidin peroksidaz konjugat	Kullanıma hazır
ABTS (2,2-azino-di-[3-ethyl-benzothiazoline-6 sulfonic asid] diammonium salt) solüsyonu ve Peroksidaz Sitrat Buffer	ABTS solüsyonu, peroksidase sitrat buffer ile 1/25 oranında seyreltilerek substrat hazırlanmıştır.
Reaksiyonu durduracak solüsyon	Kullanıma hazır
Yıkama solüsyonu konsantresi	Distile su ile 1/10 oranında seyreltilerek kullanılmıştır.

3.2.7.2. Örnek Ekstraksiyonu

Rende yardımıyla küçültülen sucuk örneklerinden 250 ml'lik kapaklı pyrex şişelere yaklaşık 20 gr örnek tartılmıştır. Örneklere önceden hazırlanan %0.9'luk sodyum klorür çözeltisinden, 40 ml eklenerek, mikrodalga fırında (Vestel, MD 700 W, Türkiye) 2 dakika ısıl işleme tabi tutulmuştur. Mikrodalga fırından alınan örnekler oda sıcaklığına gelene kadar yaklaşık yarım saat soğumaya bırakılmıştır. Oda sıcaklığına gelen örneklerin üst fazından 1.5 ml'lik kapaklı tüplere yaklaşık 1 ml kadar alınmıştır. Tüpler 13.000 rpm devirde 2 dakika santrifüj (Eppendorf, 5424, USA) edilmiştir. Santrifüjden alınan örneklerde dipte katı kısmın çöktüğü üst fazda yağ tabakasının kaldığı orta kısımda ise istediğimiz berrak kısmın (süpernatant) oluştuğu görülmüştür. Örneklere ait süpernatantlardan, temiz 1.5 ml'lik tüplere yaklaşık 1 ml kadar alınıp örnek ekstraktları elde edilmiştir. Ekstrakte edilen örnekler analiz öncesi + 4 ºC'de bir gün muhafaza edilmiştir (Anonymous, 2011).

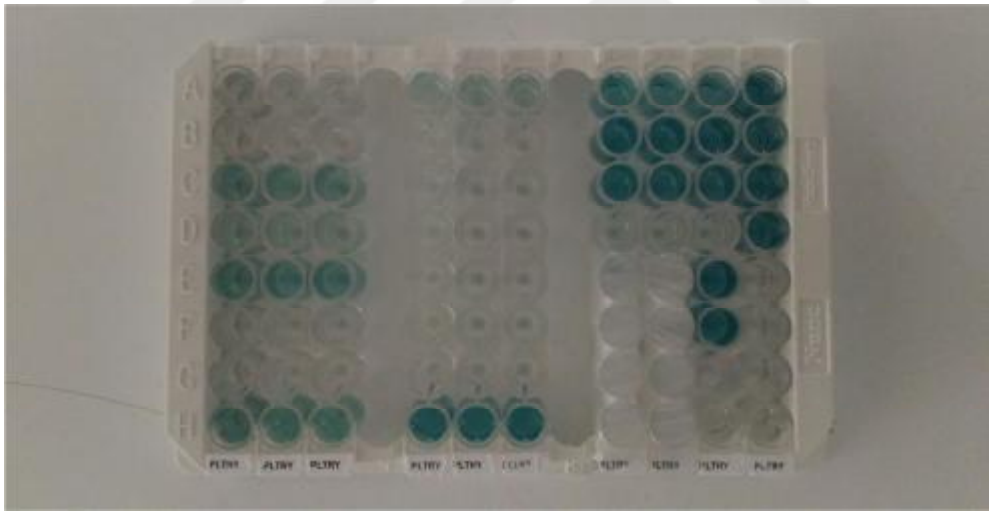
3.2.7.3. ELISA Test Prosedürü

Örneklerden elde edilen ekstraktlar, kullanılacak olan ELISA test kiti prosedürüne göre aşağıdaki belirtilen işlem basamaklarından geçirilerek, ELISA okuyucuda 414 ve 492 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür (Anonymous, 2011).

Kullanılacak tüm kit içeriği oda sıcaklığına (22-24 ºC) getirilmek üzere buzdolabından çıkarılmıştır. Çalışılacak örnek sayısınca (60 örnek, 2 negatif kontrol, 6 pozitif kontrol, 2 blank kontrol) strip(şerit), kitin içeriğindeki mikroplaka çerçevesine yerleştirilmiştir. Stripteki kullanılmayan kuyucuklar şeffaf film ile kapatılmıştır. 12A, 12B, 12C ve 12D, 11E, 11F no'lu kuyucuklara 100 µl pozitif kontrol, 11G, 11H, 12G, 12H no'lu kuyucuklara 100 µl negatif kontrol, E12 ve F12 nolu kuyucuklara kör kontrol olarak %0.9'luk sodyum klorür çözeltisi ve çalışılacak kuyucuklara her bir örnekten elde edilen 100 µl ekstrakt ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında bir saat inkübasyondan sonra yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkama

yapılmıştır. Yıkama işleminden sonra tüm kuyucuklara 25 µl aranan türe (kanatlı) ait spesifik antiserum biotinilat aktarılmıştır. Oda sıcaklığında bir saat inkübasyondan sonra yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkama yapılmıştır. Yıkama işleminden sonra tüm kuyucuklara Streptavidin peroksidaz konjugat ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında yarım saat inkübasyondan sonra yıkama solüsyonu ile 6 kez yıkama yapılmıştır. Yıkama işleminden sonra tüm kuyucuklara 50 µl substrat (ABTS solüsyonu) aktarılmıştır. Oda sıcaklığında yarım saat inkübasyondan sonra reaksiyonu sonlandırmak için bütün kuyucuklara 25 µl reaksiyonu sonlandıracak solüsyon eklenip ELISA okuyucu'da 414 ve 492 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür.

ELISA plakanın reaksiyon durdurulduktan sonraki görüntüsü Şekil 3.3'de verilmiştir.



Şekil 3.3. ELISA plakanın reaksiyon durdurulduktan sonraki görüntüsü

3.2.7.4. ELISA Okuyucusu

ELISA sonuçları Thermo marka optik okuyucu (Multiscan spectrum,USA) ile 414 ve 492 nm dalga boyunda değerlendirilmiştir. Testin geçerliliği için 414 nm dalga boyunda, pozitif kontrolün optik dansitesinin (OD) 0.600'den yüksek ve

negatif kontrollerin ortalama optik dansitesinin (OD) 0.060'den düşük olması gerekmektedir. Bu koşulların sağlandığı durumda örnek ekstraktından elde edilen OD değeri 0.250'yi aştığı takdirde örnek pozitif kabul edilmiştir (Anonymous, 2011).

3.2.8. İstatistiksel Analiz

Çalışılan sucuk örneklerine ait bulgular SPSS sürüm 20 (IBM SPSS Statistics, Armonk, NY, ABD) yazılımı ile varyans analizine tabi tutulmuş olup farklılıkların belirlenmesi amacıyla Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinden ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasaptanalınan sucuk örneklerine ait ortalama pH, nem ve su aktivitesi değerleri Çizelge 4.1'dedir.

Çizelge 4.1. Sucuk örneklerine ait ortalama pH, nem ve su aktivitesi değerleri

Sucuk	Sucuk tipi	pH	Nem (%)	Su aktivitesi (a_w)
1.İşletme	Isıl işlem	$4.84 \pm 0.06^{ef*}$	45.05 ± 0.47^{abcd}	0.8820 ± 0.0044^{cd}
2.İşletme	Geleneksel	4.92 ± 0.10^{ef}	41.76 ± 6.20^{cdefg}	0.8780 ± 0.0111^{de}
3.İşletme	Isıl işlem	5.76 ± 0.47^{bc}	41.74 ± 1.18^{cdefg}	0.8833 ± 0.0067^{bcd}
4.İşletme	Isıl işlem	5.11 ± 0.16^{def}	44.72 ± 1.57^{abcd}	0.8860 ± 0.0046^{bcd}
5.İşletme	Isıl işlem	4.86 ± 0.05^{ef}	36.54 ± 2.63^{h}	0.8880 ± 0.0053^{bcd}
6.İşletme	Isıl işlem	5.07 ± 0.15^{def}	44.15 ± 1.60^{abcde}	0.9020 ± 0.0046^{abc}
7.İşletme	Isıl işlem	5.20 ± 0.33^{cdef}	46.52 ± 0.65^{a}	0.9047 ± 0.0055^{ab}
8.İşletme	Isıl işlem	4.66 ± 0.03^{f}	45.94 ± 1.56^{ab}	0.8997 ± 0.0045^{abc}
9.İşletme	Isıl işlem	6.50 ± 0.43^{a}	47.86 ± 0.61^{a}	0.9100 ± 0.0053^{a}
10.İşletme	Isıl işlem	5.01 ± 0.02^{ef}	42.58 ± 0.62^{bcdef}	0.8897 ± 0.0032^{abcd}
1.Kasap	Geleneksel	4.64 ± 0.01^{f}	38.07 ± 1.87^{gh}	0.8890 ± 0.0036^{abcd}
2.Kasap	Geleneksel	5.40 ± 0.12^{cde}	32.72 ± 0.46^{i}	0.8580 ± 0.0200^{e}
3.Kasap	Geleneksel	5.02 ± 0.01^{ef}	39.32 ± 0.84^{fgh}	0.8877 ± 0.0015^{bcd}
4.Kasap	Geleneksel	4.72 ± 0.18^{f}	44.72 ± 1.34^{abcd}	0.8890 ± 0.0046^{abcd}
5.Kasap	Geleneksel	4.70 ± 0.07^{f}	41.57 ± 1.01^{defg}	0.8963 ± 0.0035^{abcd}
6.Kasap	Geleneksel	4.68 ± 0.03^{f}	45.40 ± 0.19^{abc}	0.8923 ± 0.0038^{abcd}
7.Kasap	Geleneksel	4.86 ± 0.02^{ef}	42.74 ± 0.66^{bcdef}	0.8943 ± 0.0070^{abcd}
8.Kasap	Geleneksel	5.02 ± 0.04^{ef}	45.92 ± 0.55^{ab}	0.9043 ± 0.0038^{ab}
9.Kasap	Geleneksel	5.63 ± 0.27^{bcd}	40.84 ± 0.36^{efg}	0.8920 ± 0.0070^{abcd}
10.Kasap	Geleneksel	6.20 ± 0.05^{ab}	42.43 ± 0.28^{bcdef}	0.8967 ± 0.0059^{abcd}

*: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

4.1. pH Tayini

Sucuk üretiminde fermantasyon ve olgunlaştırma aşamalarında, laktik asit bakterileri öncelikli enerji kaynakları olan glukozu, pH azalmasını sağlayan ana bileşik olan laktik aside dönüştürmektedirler (Bover-Cid ve ark. 2001). Sucuklarda laktik asit bakterilerinin laktik asit üretimiyle pH değeri düşmekte, su kaybı hızlanıp ürün daha çabuk kurumakta, nitrit parçalanması, istenen renk ve aroma oluşumu hızlanmakta ve mikrobiyal bozulmalar önlenmektedir (Gökalp ve ark., 1997). Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2012/74)'ne göre fermente sucukta pH değeri en yüksek 5.4; ısıl işlem görmüş sucukta ise pH değeri en yüksek 5.6 olmalıdır (Anonymous, 2012).

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen sucuk örneklerine ait ortalama pH değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1'deki değerlerde de görüldüğü gibi sucuk örneklerinin ortalama pH değerleri 4.64 ile 6.50 arasında değişmektedir. Sucuk örneklerinin ortalama pH değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Farklılığının belirlenmesi amacıyla yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda en yüksek pH değerine sahip sucuk örneği, onay belgesi bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 9. işletmeye (6.50), en düşük pH değerlerinin ise sırasıyla, işletme onayı bulunmayan ve geleneksel yöntemle üretim yapan 1. kasaba (4.64), işletme onayı bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 8. işletmeye (4.66), işletme onayı bulunmayan ve geleneksel yöntemle üretim yapan 6., 5. ve 4. kasaplara (4.68, 4.70, 4.72) ait olduğu belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre, sucuk örneklerinin pH değerlerinin oldukça değişken olduğu belirlenmiş ve örnekler arasında, pH değeri çok yüksek ve çok düşük olan sucuk örneklerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Isıl işlem uygulanarak üretim yapılan 3. işletme (5.76) ve 9. işletme (6.50)'ye ait sucuk örneklerinin pH değerlerinin ve geleneksel üretim yapılan 9. kasap (5.63) ve 10. kasap (6.20)'a ait sucuk örneklerinin pH

değerlerinin, Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2012/74)'nde, fermente sucuk (pH değeri en yüksek 5.4) ve ısıl işlem görmüş sucuk (pH değeri en yüksek 5.6) için belirtilen değerlere göre yüksek olduğu görülmüştür.

Kesimden hemen sonra etin pH değeri 7.1-7.3 arasında olup, 6-8 saat sonra pH değeri 5.6-5.7'lere düşmektedir. Çalışılan bazı sucuk örneklerinde ölçülen yüksek pH değerinin, hammadde olarak rigor mortis yani ölüm sertliğini tamamlamamış veya pH'sı ve su tutma kapasitesi yüksek olan DFD (Kuru Sert Koyu) et kullanımından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Benzer şekilde Doğu ve ark. (2002), Afyon ilinde faaliyet gösteren 5 adet et işletmesinden 15'er günlük periyodlarla aldıkları sucuk örneklerinin pH değerlerinin 4.76 ile 6.90 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Erkmen ve ark. (2004) ise Gaziantep çevresindeki yerel market ve kasaplardan aldığı 50 adet sucuk örneği ile yaptıkları çalışmada sucukların pH değerlerinin 4.53 ile 6.74 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Benli (2017)'nin 36 sucuk örneğiyle yaptığı bir çalışmada sucukların pH değerlerinin 4.69 ile 6.56 arasında yer aldığı ve yüksek değişkenlik gösterdiği ifade edilmiştir.

4.2. Nem Tayini (%)

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen sucuk örneklerine ait ortalama nem değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1'deki değerlerin de gösterdiği gibi sucuk örneklerinin ortalama nem içerikleri %32.72 ile %47.86 arasında değişmektedir. Sucuk örneklerinin nem içerikleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Farklılığının belirlenmesi amacıyla yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda işletme onayı bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 7. işletme (46.52) ile 9. işletmeye (47.86) ait sucuk örneklerinin en yüksek nem içeriğine sahip olduğu,

işletme onayı bulunmayan ve geleneksel yöntemle üretim yapan 2. kasaba (%32.72) ait sucuk örneklerinin ise en düşük nem içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2012/74)'ndeki tanımında fermente sucukların nem oranı %40 ve altında, ısıl işlem görmüş sucukların ise nem oranı en fazla %50 olarak sınırlandırılmıştır. İşletme onayı bulunan işletmelerde üretilen sucuk örneklerinin (2. işletme hariç) ısıl işlem uygulayarak üretim yaptığı ve örneklerin ilgili tebliğde belirtilen değerin altında nem içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Geleneksel yöntemlerle üretim yapan ve işletme onayı bulunmayan kasapların ise 7 tanesine ait sucuk örneklerinin nem içeriklerinin tebliğde belirtilen değerlerin üzerinde kaldığı tespit edilmiş ancak bazı değerlerin sınıra yakın olduğu görülmüştür.

Benzer şekilde, Köse (2010)'nin bildirdiğine göre, 2 işletme ve 10 kasaptan alınan sucuklarla gerçekleştirilen bir çalışmada, 12 örneğin 6'sının nem oranlarının %40'ın üzerinde olduğu belirtilmiştir.

Pehlivanoğlu ve ark. (2015) ülkemiz piyasasında fermente sucuk olarak satılan ürünlerin karakteristik özelliklerinin araştırılması amacıyla yaptıkları bir çalışmada, nem değerlerinin, 6 örnekte %35-40 arasında, 11 örnekte %40-45 arasında ve 12 örnekte ise %45-55 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

4.3. Su Aktivitesi Tayini (a_w)

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen sucuk örneklerine ait ortalama su aktivitesi (a_w) değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1'deki değerlerin gösterdiği gibi sucuk örneklerinin ortalama su aktivitesi değerleri 0.8580-0.9100 arasında bulunmuştur. Et ve et ürünlerinde su aktivitesi, kalite, mikrobiyal güvence ve dayanıklılık ile ilişkilidir. a_w yanında pH, sıcaklık, redoks potansiyel ve nitrit florada etkili olmaktadır. Sucuklar

kurutulmaları sonucunda çok farklı a_w değerlerine sahip olabilmektedir. Bu değerlerin genellikle 0.72–0.90 aralığında değiştiği bildirilmektedir (Özay ve ark., 1993).

Çalışmada kullanılan sucuk örneklerinin ortalama su aktivitesi değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$). Farklılığın belirlenmesi amacıyla yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda en düşük a_w değeri 2. kasaba ait geleneksel yöntemle üretilen sucuk örneğinde ölçülürken (0.85), en yüksek a_w değeri ise 9. işletmeye ait ısıl işlem uygulanarak üretilen sucuk örneğinde (0.91) tespit edilmiştir. Benzer şekilde Gök (2006) tarafında piyasadan temin edilen 12 adet sucuk örneğinde a_w değerlerinin 0.843–0.958 aralığında olduğu belirtilmiştir. Bir başka çalışmada ise Gencelep ve ark. (2008), farklı illerdeki yerel üretici ve kasaplardan aldıkları sucuk örneklerinin a_w değerlerinin 0.761 ile 0.960 aralığında olduğunu bildirmişlerdir.

4.4. Renk Ölçümü

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen sucuk örneklerinin dış ve iç yüzey L***** (açıklık/koyuluk), a***** (kırmızılık), b***** (sarılık)), kroma (C*) ve hue (H*) renk değerleri Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Sucuk örneklerinin ortalama dış yüzey L*, a*, b*, C* ve H* değerleri sırası ile 37.20- 47.76, 5.31-18.55, 14.31-28.31, 15.27-32.10 ve 49.99-69.63 aralığında değişmektedir. Çalışmada kullanılan sucuk örneklerinin ortalama dış yüzey L*, a* ,b*, C* ve H* değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Sucuk örneklerinin ortalama iç yüzey L*, a*, b*, C* ve H* değerleri ise sırası ile 42.81- 52.44, 14.25-26.36, 24.34-37.18, 30.78-42.09 ve 50.78-65.62 aralığında değişmektedir (Çizelge 4.3). Çalışmada kullanılan sucuk örneklerinin ortalama iç yüzey L*, a*, b*, C* ve H* değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3 incelendiğinde, çalışmada kullanılan bütün sucuk örneklerinin, iç yüzey L*, a* ve b* değerlerinin dış yüzey L*, a* ve b* değerlerinden sayısal olarak yüksek olduğu görülmektedir. Benzer şekilde Poçan ve ark. (2015) tarafından, ticari olarak satışa sunulan fermente ve ısıl işlem görmüş sucuk örnekleri kullanarak yapılan bir çalışmada, sucuk örneklerinin iç yüzey L* değerlerinin, dış yüzey L* değerlerinden yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Sucuk örneklerine ait dış yüzey L***** (açıklık/koyuluk), a***** (kırmızılık), b***** (sarılık), kroma (C*) ve hue (H*) renk değerleri

Örnek	Üretim Şekli	Dış L*****	Dış a*****	Dış b*****	Dış Yüzey Kroma (C***)**	Dış Yüzey Hue (H***)**
1.İşletme	Isıl İşlem	43.67+1.38^{bcd*}	14.66±0.82^{cd}	25.14±3.03^{abc}	29.12±2.97^{abcd}	59.59±2.00^{cde}
2.İşletme	Geleneksel	41.02+3.28^{cdefg}	13.97±3.89^{d}	21.01±4.45^{de}	25.31±5.53^{cdef}	56.48±4.74^{efgh}
3.İşletme	Isıl İşlem	44.68±5.37^{abc}	17.32±2.51^{ab}	21.57±4.43^{cde}	27.69±4.95^{bcde}	50.92±2.57^{ijk}
4.İşletme	Isıl İşlem	41.18±1.33^{bcdef}	18.55±1.35^{a}	22.54±1.37^{bcd}	29.21±1.71^{abc}	50.55±1.72^{ik}
5.İşletme	Isıl İşlem	44.44±1.76^{abc}	17.14±0.96^{ab}	26.49±1.71^{ab}	31.56±1.84^{ab}	57.07±1.24^{def}
6.İşletme	Isıl İşlem	47.76±2.84^{a}	15.64±0.48^{bcd}	27.80±1.44^{a}	31.90±1.24^{ab}	60.59±1.57^{bcd}
7.İşletme	Isıl İşlem	44.97±1.18^{ab}	15.09±1.04^{bcd}	28.31±2.50^{a}	32.10±2.46^{a}	61.87±1.97^{bc}
8.İşletme	Isıl İşlem	40.53±1.50^{defg}	14.41±0.79^{cd}	18.99±1.83^{de}	23.85±1.86^{ef}	52.73±1.67^{hijk}
9.İşletme	Isıl İşlem	39.68±2.70^{efg}	16.34±1.89^{abc}	19.55±3.00^{de}	25.50±3.40^{cdef}	49.99±2.34^{k}
10.İşletme	Isıl İşlem	37.75±1.20^{fg}	13.92±0.89^{d}	18.56±1.10^{e}	23.21±1.29^{f}	53.12±1.40^{ghijk}
1.Kasap	Geleneksel	38.61±1.68^{efg}	14.38±1.12^{cd}	21.27±2.31^{cde}	25.69±2.33^{cdef}	55.82±2.45^{efgh}
2.Kasap	Geleneksel	37.20±1.88^{g}	14.42±0.91^{cd}	21.53±2.21^{cde}	25.95±1.91^{cdef}	56.05±3.19^{efgh}
3.Kasap	Geleneksel	39.21± 1.94^{efg}	13.91±0.55^{d}	21.33±1.73^{cde}	25.49±1.46^{cdef}	56.79±2.40^{efg}
4.Kasap	Geleneksel	39.42±2.74^{efg}	13.86±1.09^{d}	21.23±2.10^{cde}	25.37±2.24^{cdef}	56.82±1.68^{efg}
5.Kasap	Geleneksel	41.10±1.70^{bcdef}	11.13±0.62^{e}	22.88±1.59^{bcd}	25.45±1.65^{ab}	64.02±1.00^{b}
6.Kasap	Geleneksel	42.48±2.16^{bcde}	14.47±0.87^{cd}	20.25±1.34^{de}	24.91±1.41^{def}	54.42±1.80^{fghı}
7.Kasap	Geleneksel	41.27±1.84^{bcdef}	5.31±0.56^{f}	14.31±1.24^{f}	15.27±1.33^{g}	69.63±1.16^{a}
8.Kasap	Geleneksel	41.54±1.51^{bcdef}	13.87±0.83^{d}	20.08±1.63^{de}	24.43±1.37^{ef}	55.28±2.78^{fgh}
9.Kasap	Geleneksel	39.84±2.16^{defg}	15.78±0.60^{bcd}	21.78±1.60^{cde}	26.91±1.40^{cdef}	54.01±2.09^{fghıj}
10.Kasap	Geleneksel	44.91±1.65^{abc}	16.73±2.96^{abc}	26.38±2.07^{ab}	31.24±2.14^{ab}	57.58±1.39^{def}

*: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.3. Sucuk örneklerine ait iç yüzey L* (açıklık/koyuluk), a* (kırmızılık), b* (sarılık), kroma ve hue renk değerleri

Örnek	Üretim Şekli	İç L*	İç a*	İç b*	İç Yüzey Kroma (C*)	İç Yüzey Hue (H*)
1.İşletme	Isıl İşlem	49.62±2.00^{abcd*}	20.93±1.00^{cd}	35.60±2.69^{ab}	41.31±2.73^{ab}	59.50±1.24^{bcd}
2.İşletme	Geleneksel	50.53±3.06^{abc}	18.59±1.83^{cdef}	29.66±6.75^{cdef}	35.09±6.45^{defg}	57.33±4.29^{cde}
3.İşletme	Isıl İşlem	46.68±4.65^{cdef}	21.32±1.83^{bc}	26.23±2.92^{ef}	33.82±3.36^{efg}	50.82±1.30^{g}
4.İşletme	Isıl İşlem	43.78±3.59^{ef}	26.36±1.94^{a}	32.76±2.03^{abc}	42.09±2.07^{a}	51.18±2.58^{g}
5.İşletme	Isıl İşlem	52.44±1.81^{a}	19.97±1.70^{cde}	33.76±1.93^{def}	39.24±2.32^{abcde}	59.42±1.61^{cd}
6.İşletme	Isıl İşlem	51,62±2.14^{abc}	18.53±1.44^{cdef}	28.99±3.64^{cdef}	34.45±3.52^{efg}	57.24±2.86^{cde}
7.İşletme	Isıl İşlem	51.73±2.48^{ab}	17.39±1.67^{efg}	37.18±1.57^{a}	41.06±2.03^{abc}	64.97±1.47^{a}
8.İşletme	Isıl İşlem	48.55±1.46^{abcde}	24.12±1.36^{ab}	29.80±4.20^{cdef}	38.39±3.86^{abcdef}	50.78±3.22^{g}
9.İşletme	Isıl İşlem	43.90±3.56^{ef}	18.83±2.10^{cdef}	24.34±1.83^{f}	30.78±2.63^{g}	52.36±1.69^{fg}
10.İşletme	Isıl İşlem	51.24±0.94^{abc}	17.47±2.01^{ef}	30.87±4.09^{bcde}	35.48±4.49^{cdefg}	60.44±1.24^{bc}
1.Kasap	Geleneksel	50.58±2.30^{abc}	20.02±1.42^{cde}	29.63±3.69^{cdef}	35.78±3.75^{bcdefg}	55.80±2.02^{def}
2.Kasap	Geleneksel	42.81±3.33^{f}	18.49±1.67^{cdef}	26.30±1.72^{ef}	32.19±1.73^{g}	54.89±2.97^{efg}
3.Kasap	Geleneksel	47.49±2.74^{abcdef}	19.52±1.30^{cdef}	32.97±2.48^{abc}	38.33±2.56^{abcdef}	59.34±1.67^{cd}
4.Kasap	Geleneksel	47.34±2.94^{bcdef}	18.00±1.17^{def}	29.11±2.79^{cdef}	34.26±2.57^{efg}	58.16±2.63^{cde}
5.Kasap	Geleneksel	46.63±2.64^{cdef}	14.25±1.93^{g}	28.92±2.80^{cdef}	32.27±3.16^{g}	63.80±2.29^{ab}
6.Kasap	Geleneksel	49.40±5.50^{abcd}	19.00±2.25^{cdef}	27.19±5.24^{def}	33.20±5.47^{fg}	54.71±2.74^{efg}
7.Kasap	Geleneksel	49.33±1.49^{abcd}	16.46±3.61^{fg}	36.26±2.29^{ab}	39.97±2.29^{abcd}	65.62±5.16^{a}
8.Kasap	Geleneksel	46.88±2.85^{bcdef}	20.65±2.09^{cd}	31.88±2.25^{abcd}	38.01±2.79^{abcdef}	57.10±2.04^{cde}
9.Kasap	Geleneksel	45.12±2.36^{def}	20.54±1.73^{cde}	28.57±1.74^{cdef}	35.20±2.12^{defg}	54.31±2.04^{efg}
10.Kasap	Geleneksel	48.02±3.38^{abcde}	18.19±1.44^{cdef}	28.49±2.46^{cdef}	33.83±2.47^{efg}	57.39±2.41^{cde}

*: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

Poçan ve ark. (2015)'in çalışmasında fermente sucukların iç yüzey a* değerleri ise ısıl işlem görmüş sucukların iç yüzey a* değerlerinden genel olarak yüksek bulunmuştur. Fermente ve ısıl işlem görmüş sucuklarda kullanılan hammaddelerin (et, yağ, baharatlar, katkı maddeleri), üretim boyunca uygulanan işlemlerin (sıcaklık, fermentasyon süresi, çevre sıcaklığı) ve tüketime kadar olan

süreçteki bekleme koşullarının değişik firmaların ürettiği sucukların fizikokimyasal ve tekstürel özellikleri arasında farklılık yarattığı sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te görüldüğü üzere ısıl işlem görmüş sucukların L*, a* ve b* C* ve H* değerleri geleneksel yöntemle üretilen sucukların L*, a*, b*, C* ve H* değerlerinden çok farklı olmamakla birlikte bu durumun sebebinin ısıl işlemin renk üzerine etkisinden çok ürün bileşimi, kullanılan katkılar ve fermentasyondan koşullarından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Üren ve Babayiğit, (1997) ise 11 farklı üreticiden temin ettikleri sucukların b***** değerlerinin 11.5–26.2 aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Ertaş, (2006) ise sucuklarda ısıl işlem uygulamasının araştırıldığı bir çalışmada geleneksel olarak üretilen sucukların b* değerlerinin 9.60 ile 11.97 arasında olduğunu bildirmiştir.

4.5. Sucuk Örneklerinin Tekstürel Özellikleri

Çalışma kapsamında sucuk örneklerinin tekstürel profil analizi gerçekleştirilmiş ve örnekler sertlik, iç yapışkanlık, sakızımsılık, çiğnenebilirlik özellikleri açısıdan istatiktiksel değerlendirmeye tabi tutulmuşlardır (Çizelge 4.4).

4.5.1. Sertlik (Hardness) Değeri

Sertlik, gıdanın herhangi bir etkiye karşı koyma gücü olarak tanımlanmaktadır (Ertaş ve Doğruer, 2010). Başka bir tanımda ise, örneği sıkıştırmak için uygulanan maksimum güç olarak ifade edilmektedir (Kargozari, 2014).

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen sucuk örneklerinin ortalama sertlik değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Sucuk örneklerinin sertlik değeri 1940 g ile 3913 g arasında değişmektedir. Çalışmada kullanılan sucuk örneklerinin sertlik değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Farklılığının belirlenmesi amacıyla yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda işletme onayı bulunmayan ve

geleneksel yöntemle üretim yapan 5. kasaba (1940 g) ve işletme onayı bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 7.işletmeye (1965 g) ait sucuk örneklerinin en düşük sertlik değerine sahip olduğu, işletme onayı bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 5. işletmeye (3913 g) ait sucuk örneklerinin ise en yüksek sertlik değerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Sucuk örneklerinin tekstür profil analizi sonuçları

Sucuk	Sertlik (g)	İç yapışkanlık	Sakızımsılık (g)	Çiğnenebilirlik (g.mm)
1.İşletme	2255±8.27^{ij*}	0.41±0.03^{ghij}	103±1.79^{o}	737.50±7.20^{gh}
2.İşletme	3520±9.62 ^{c}	0.50±0.01^{efg}	1051±17.60^{d}	661.65±1.91^{l}
3.İşletme	2157±67.27^{kl}	0.34±0.02^{j}	643±3.29^{i}	764.15±7.86^{de}
4.İşletme	3692±26.43^{b}	0.67±0.04^{cd}	1207±1.37^{c}	630.34±8.74^{m}
5.İşletme	3913±26.29^{a}	0.85±0.04^{a}	1466±12.05^{a}	366.1±13.89^{o}
6.İşletme	2371±2.88^{gh}	0.53±0.05^{ef}	846±7.17^{g}	720.48±2.20^{hıj}
7.İşletme	1965±4.25^{m}	0.38±0.02^{ij}	462±9.64^{k}	802.22±0.98^{bc}
8.İşletme	2443±38.73^{g}	0.72±0.04^{bc}	840±1.61^{g}	719.11±3.32^{ij}
9.İşletme	2226±7.44^{jk}	0.49±0.04^{efgh}	353±4.80^{m}	812.42±0.87^{bc}
10.İşletme	2328±7.30^{hı}	0.78±0.03^{ab}	744±0.67^{h}	745.91±3.39^{fg}
1.Kasap	3348±20.69^{d}	0.53±0.04^{ef}	990±7.00^{e}	684.9±3.31^{k}
2.Kasap	3210±53.82^{e}	0.64±0.06^{cd}	930±19.88^{f}	704.82±1.44^{j}
3.Kasap	2669 ± 40.68^{f}	0.34±0.05^{j}	492±5.70^{j}	768.8±4.40^{d}
4.Kasap	2264±38.26^{ij}	0.44±0.03^{fghıj}	418±11.09^{l}	795.62±9.81^{c}
5.Kasap	1940±18.20^{m}	0.36±0.03^{j}	126±5.19^{o}	848.97±4.19^{a}
6.Kasap	2449±21.75^{g}	0.56±0.01^{de}	851±0.68^{g}	722.70±2.14^{hı}
7.Kasap	2097±11.12^{l}	0.48±0.06^{efghı}	316±1.04^{n}	815.57±2.44^{b}
8.Kasap	2252±4.32^{ij}	0.39±0.03^{hıj}	653±0.41^{ı}	760.69±1.62^{def}
9.Kasap	2373±9.86^{gh}	0.43±0.00^{fghıj}	744±5.92^{h}	747.3±2.03^{fg}
10.Kasap	3760±56.11^{b}	0.74±0.04^{abc}	1347±2.37^{b}	486.58±7.92^{n}

*: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

Bozkurt ve Bayram (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, sucukların olgunlaşma sürecinde sertlik değerinin 352 g'den 8846 g'ye yükseldiği bildirilmiştir. Bu artışın nedeninin olgunlaşma sırasında pH düşüşü ile meydana gelen protein koagülasyonundan kaynaklı olabileceği ifade edilmiştir.

4.5.2. İç Yapışkanlık (Cohesiveness) Değeri

İç yapışkanlık, bir gıdanın yüzeyi ile gıda ile temas eden damak, dil, diş, gibi yüzeylerin arasındaki çekim kuvvetini engellemek için gerekli olan güçtür (Ertaş ve Doğruer, 2010). İç yapışkanlık değeri birimsiz olup, ardı ardına iki sıkıştırma sonucu elde edilen değerlerin birbirine oranı ile tespit edilmektedir. (Kargozari, 2014).

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen sucuk örneklerinin ortalama iç yapışkanlık değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere sucuk örneklerinin iç yapışkanlık değeri 0.34 ile 0.85 arasında değişmektedir. Çalışmada kullanılan sucuk örneklerinin iç yapışkanlık değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Farklılığının belirlenmesi amacıyla yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda işletme onayı bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 3. işletmeye (0.34), işletme onayı bulunmayan ve geleneksel yöntemle üretim yapan 3. ve 5. kasaplara (0.34, 0.36) ait sucuk örneklerinin en düşük iç yapışkanlık değerine sahip olduğu, işletme onayı bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 5. işletmeye (0.85) ait sucuk örneklerinin ise en yüksek iç yapışkanlık değerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Poçan ve ark. (2015), 7 sucuk örneği üzerinde yaptıkları araştırmada, sucukların iç yapışkanlık değerlerinin 0.31 ile 0.71 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

4.5.3. Sakızımsılık (Gummniness) Değeri

Sakızımsılık, yarı katı et örneğini yutulmaya hazır hale getirmek için, çiğnemeye yönelik uygulanan kuvvet olarak tanımlanmaktadır (Kargozari ve ark., 2014).Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen sucuk örneklerinin ortalama sakızımsılık değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere sucuk örneklerinin sakızımsılık değeri 103 g ile 1466 g arasında değişmektedir. Çalışmada kullanılan sucuk örneklerinin sakızımsılık değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Farklılığın belirlenmesi amacıyla yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda işletme onayı bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 1. işletmeye (103 g) ve işletme onayı bulunmayan ve geleneksel yöntemle üretim yapan 5. kasaba (126 g) ait sucuk örneklerinin en düşük sakızımsılık değerine sahip olduğu, işletme onayı bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 5. İşletmeye (1466 g) ait sucuk örneklerinin ise en yüksek sakızımsılık değerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Bozkurt ve Bayram (2006) yaptıkları bir çalışmada, sucukların olgunlaşma sürecinde sakızımsılık değerinin 226'dan 5679'a yükseldiğini bildirmişlerdir.

4.5.4. Çiğnenebilirlik (Chewiness) Değeri

Çiğnenebilirlik (g.mm) gıda maddesinin yutulması için harcanan enerji, çiğneme sayısı ve süresi ile ilgili bir özelliktir (Ertaş ve Doğruer, 2010).

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen sucuk örneklerinin ortalama çiğnenebilirlik değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere sucuk örneklerinin çiğnenebilirlik değeri 366 g.mm ile 848 g.mm arasında değişmektedir. Çalışmada kullanılan sucuk

örneklerinin çiğnenebilirlik değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Farklılığın belirlenmesi amacıyla yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda işletme onayı bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 2. işletmeye (366 g.mm) ait sucuk örneklerinin en düşük çiğnenebilirlik değerine sahip olduğu ve işletme onayı bulunmayan ve geleneksel yöntemle üretim yapan 5. kasaba (848 g.mm) ait sucuk örneklerinin en yüksek çiğnenebilirlik değerine sahip olduğu belirlenmiştir.

4.6. Gerçek Zamanlı PCR Bulguları

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen toplam 60 adet sucuk örneğinde Gerçek Zamanlı PCR yöntemi ile tavuk eti varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla örnekler DNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. DNA ekstraksiyonu sonucunda elde edilen DNA'ların saflık ve miktar ölçümleri Çizelge 4.5'te verilmiştir.

DNA çözeltilerinin maksimum emilimi 260 nm'de, protein çözeltilerinin ise 280 nm'de olmaktadır. 260 ve 280 (A260/A280) nm dalga boylarındaki ölçümün birbirine oranı nükleik asitlerin saflık değerini vermektedir (Somma, 2004). Sucuk örneklerinden ekstrakte edilen DNA'ların miktar ve saflığını belirlemek amacıyla 260/280 nm dalga boyunlarında gerçekleştirilen ölçümlerde bütün örneklerin saflıklarının ve miktarlarının beklenilen aralıklarda yer aldığı belirlenmiştir.

Bir sonraki aşamada ise, sucuk örneklerinden elde edilen DNA'lar Gerçek Zamanlı PCR cihazında tavuk türüne özgü kit kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz işlemi 2 grup halinde gerçekleştirilmiş olup; 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 9., 10.işletmeler ile 1., 2., 3., 4., 5. kasapların sucuk örnekleri Çalışma 1; 6.,7., 8., 9. ve 10. kasapların sucuk örnekleri ise Çalışma 2 olarak adlandırılmıştır. Gerçek Zamanlı PCR cihazında tavuk eti varlığının aranmasında kullanılan pozitif kontrol Ct (Cycle Threshold) değeri ise Çalışma 1 için 15.68 ve Çalışma 2 için 16.45 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. İşletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinden ve işletme onay belgesi bulunmayan 10 adet kasaptan temin edilen 60 adet sucuk örneğinden elde edilen DNA'ların saflık ve miktar ölçümü sonuçları.

İşletme No	Tekerrür No	A260/A280	DNA Miktarı (ng/µl)	Kasap No	Tekerrür No	A260/A280	DNA Miktarı (ng/µl)
1.işletme	1	1.82	42.58	1.Kasap	1	1.85	40.06
1.işletme	2	1.85	45.60	1.Kasap	2	1.80	38.80
1.işletme	3	1.76	48.07	1.Kasap	3	1.85	36.84
2.işletme	1	1.88	39.92	2.Kasap	1	1.91	40.97
2.işletme	2	1.78	31.45	2.Kasap	2	1.87	40.90
2.işletme	3	1.80	42.60	2.Kasap	3	1.88	45.90
3.işletme	1	1.79	23.54	3.Kasap	1	1.80	24.02
3.işletme	2	1.70	6.57	3.Kasap	2	1.80	30.60
3.işletme	3	1.75	38.62	3.Kasap	3	1.80	36.60
3.işletme	1	1.77	41.25	4.Kasap	1	1.87	26.78
4.işletme	2	1.79	42.68	4.Kasap	2	1.92	34.64
4.işletme	3	1.81	22.44	4.Kasap	3	1.82	33.60
5.işletme	1	1.94	37.51	5.Kasap	1	1.88	45.90
5.işletme	2	1.96	38.71	5.Kasap	2	1.66	29.67
5.işletme	3	1.92	44.18	5.Kasap	3	1.86	37.60
6.işletme	1	1.94	39.06	6.Kasap	1	1.90	67.32
6.işletme	2	1.89	37.80	6.Kasap	2	1.80	42.44
6.işletme	3	1.95	36.66	6.Kasap	3	1.79	34.43
7.işletme	1	1.86	40.05	7.Kasap	1	1.78	44.40
7.işletme	2	1.81	18.74	7.Kasap	2	1.84	48.24
7.işletme	3	1.87	35.60	7.Kasap	3	1.88	38.90
8.işletme	1	1.82	34.80	8.Kasap	1	1.89	32.55
8.işletme	2	1.74	43.97	8.Kasap	2	1.98	22.96
8.işletme	3	1.72	22.31	8.Kasap	3	1.85	42.87
9.işletme	1	1.92	42.60	9.Kasap	1	1.78	36.60
9.işletme	2	1.90	40.00	9.Kasap	2	1.93	38.89
9.işletme	3	1.90	24.00	9.Kasap	3	1.92	10.92
10.işletme	1	1.92	33.82	10.Kasap	1	1.79	37.54
10.işletme	2	1.80	40.96	10.Kasap	2	1.84	40.44
10.işletme	3	1.82	42.58	10.Kasap	3	1.80	28.67

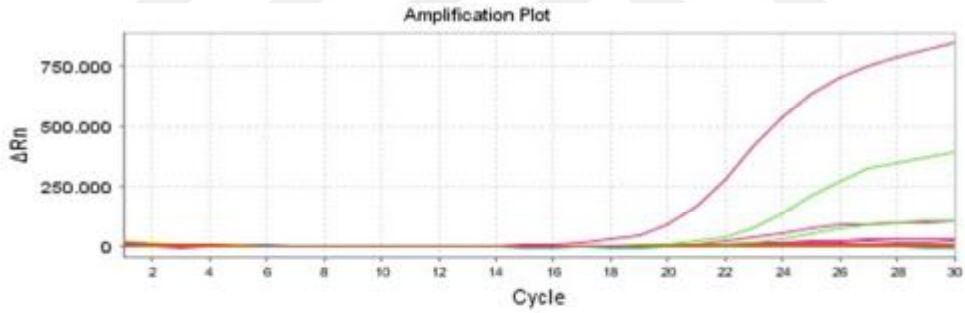
Analiz sonucunda tavuk eti varlığı tespit edilen ve edilemeyen örneklerin Ct değerleri Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Toplam 60 adet sucuk örneğinin Gerçek Zamanlı PCR cihazındaki amplifikasyonlarına ait Ct değerleri

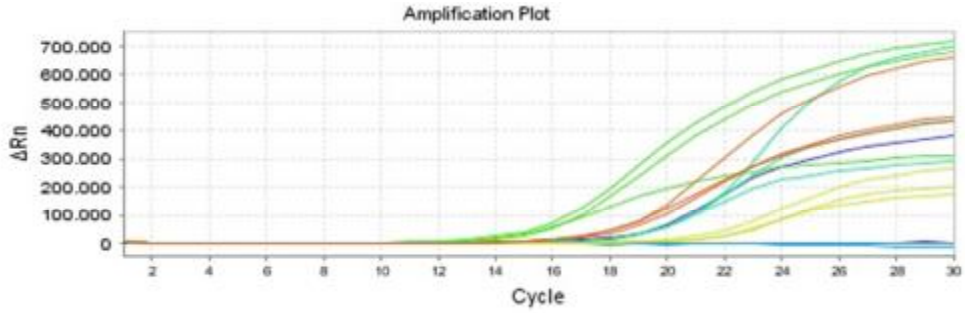
İşletme No	Tekerrür No	Ct değeri	Kasap No	Tekerrür No	Ct değeri
1.işletme	1	TE*	1.kasap	1	TE
1.işletme	2	TE	1.kasap	2	TE
1.işletme	3	TE	1.kasap	3	TE
2.işletme	1	TE	2.kasap	1	TE
2.işletme	2	TE	2.kasap	2	TE
2.işletme	3	TE	2.kasap	3	TE
3.işletme	1	TE	3.kasap	1	TE
3.işletme	2	19.53	3.kasap	2	TE
3.işletme	3	21.46	3.kasap	3	TE
3.işletme	1	TE	4.kasap	1	TE
4.işletme	2	TE	4.kasap	2	TE
4.işletme	3	TE	4.kasap	3	TE
5.işletme	1	TE	5.kasap	1	TE
5.işletme	2	TE	5.kasap	2	TE
5.işletme	3	TE	5.kasap	3	TE
6.işletme	1	TE	6.kasap	1	15.35
6.işletme	2	TE	6.kasap	2	15.32
6.işletme	3	TE	6.kasap	3	15.34
7.işletme	1	TE	7.kasap	1	19.82
7.işletme	2	TE	7.kasap	2	20.14
7.işletme	3	TE	7.kasap	3	18.90
8.işletme	1	TE	8.kasap	1	13.34
8.işletme	2	20.44	8.kasap	2	11.80
8.işletme	3	22.31	8.kasap	3	12.48
9.işletme	1	TE	9.kasap	1	16.89
9.işletme	2	TE	9.kasap	2	16.94
9.işletme	3	TE	9.kasap	3	16.91
10.işletme	1	TE	10.kasap	1	TE
10.işletme	2	TE	10.kasap	2	TE
10.işletme	3	TE	10.kasap	3	TE

*TE: Tespit edilemedi

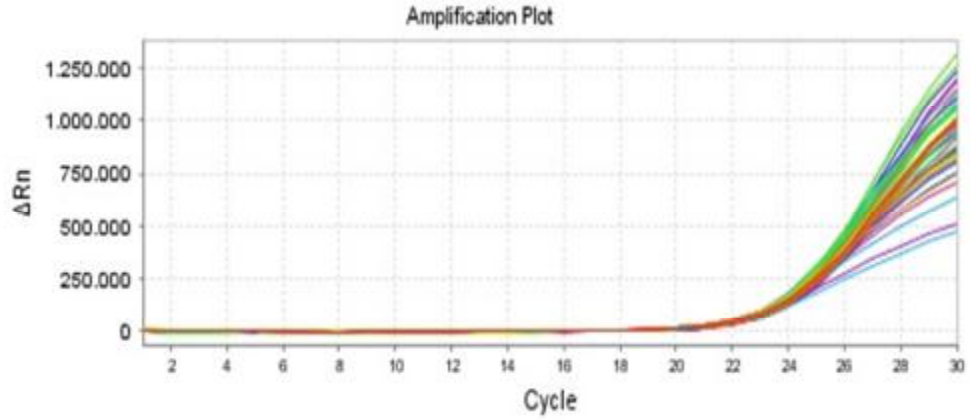
Çizelge 4.6'da görüldüğü üzere, Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin sucuk örneklerine ait Ct değerleri incelendiğinde; işletme onayı bulunan ve ısıl işlem uygulayarak üretim yapan 3. işletme ve 8. işletmeye ait sucuk örneklerinin 2. ve 3. tekerrürleri ile, işletme onayı bulunmayan ve geleneksel yöntemle üretim yapan 6. kasap, 7. kasap, 8. kasap ve 9. kasaplara ait sucuk örneklerinin Ct değerleri, tavuk eti varlığına işaret etmektedir. Sucuk örneklerinin Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon sonuçları Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de, çalışmada herhangi bir inhibisyon olmadığını gösteren internal kontrollerin amplifikasyon sonuçları ise Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Sucuk örneklerinin her birine ait amplifikasyon eğrileri Ek 1'de verilmiştir. Çalışmalara ait negatif ve pozitif kontrollerin amplifikasyon eğrileri ise Ek 2'de verilmiştir.



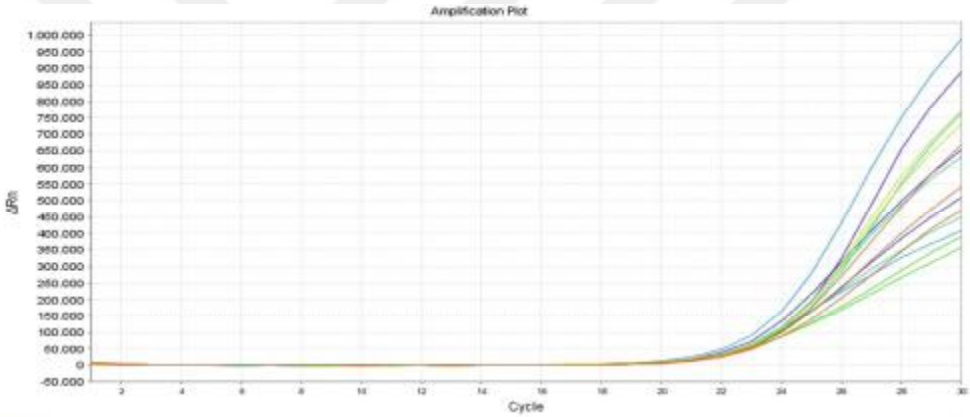
Şekil 4.1. Çalışma 1'e ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrileri



Şekil 4.2. Çalışma 2'ye ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi sonuçları



Şekil 4.3. Çalışma 1'e ait internal kontrol amplifikasyon eğrisi



Şekil 4.4. Çalışma 2'ye ait internal kontrol amplifikasyon eğrisi

Ayrıca, Gerçek Zamanlı PCR cihazı ile gerçekleştirilen analizler sonucunda, işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından, Yüreğir bölgesinde faaliyet gösteren 4'ünden (6. kasap, 7. kasap, 8. kasap ve 9. kasap) temin edilen sucuk örneklerinin bütün tekerrürlerinde tavuk eti varlığı tespit edilmiş olması ve bu örneklerin Ct değerleri incelendiğinde, kullanılan pozitif kontrol Ct değerlerine oldukça yakın olduklarının gözlenmesi bu örneklere, bulaşı olasılığından çok tağşiş amaçlı tavuk eti ilave edildiğine işaret etmektedir.

4.7. ELISA Bulguları

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen toplam 60 adet sucuk örneğinde ELISA yöntemi ile tavuk eti varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla sucuk örnekleri kanatlı etine özgü ELISA test kiti kullanılarak ELISA test prosedürüne tabi tutulmuştur. Sucuk örneklerinin test prosedürü sonrasında ELISA okuyucuda okunan optik dansite değerleri Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Üretici firma prosedürüne göre, testin geçerliliği için ELISA okuyucunun 414 nm dalga boyunda, pozitif kontrolün ortalama optik dansitesinin (OD) 0.600'den yüksek, negatif kontrolün ortalama optik dansitesinin (OD) 0.060'den düşük olması gerekmektedir. Bu koşulların sağlandığı durumda örnek ekstraktından elde edilen OD değeri 0.250'yi aşan örnekler pozitif kabul edilmiştir (Anonymous, 2011). Bu değerlendirmeye göre; Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen sucuk örneklerinden 3. işletme, 5. işletme ve 8. işletmeye ait sucuk örneklerinin tüm tekerrürleri ile 6., 7., 8. ve 9. kasaplara ait sucuk örneklerinde tavuk eti varlığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. Toplam 60 adet sucuk örneğinin ve analize ait kontrollerin ELISA okuyucuda okunan optik dansite değerleri

İşletme No	Tekerrür No	Optik dansite değeri	Kasap No	Tekerrür No	Optik dansite değeri
1.işletme	1	0.061	1.kasap	1	0.054
1.işletme	2	0.067	1.kasap	2	0.052
1.işletme	3	0.061	1.kasap	3	0.047
2.işletme	1	0.050	2.kasap	1	0.051
2.işletme	2	0.045	2.kasap	2	0.053
2.işletme	3	0.043	2.kasap	3	0.052
3.işletme	1	**0.467**	3.kasap	1	0.049
3.işletme	2	**0.485**	3.kasap	2	0.046
3.işletme	3	**0.458**	3.kasap	3	0.048
4.işletme	1	0.182	4.kasap	1	0.045
4.işletme	2	0.192	4.kasap	2	0.051
4.işletme	3	0.192	4.kasap	3	0.050
5.işletme	1	**0.557**	5.kasap	1	0.044
5.işletme	2	**0.587**	5.kasap	2	0.044
5.işletme	3	**0.595**	5.kasap	3	0.056
6.işletme	1	0.071	6.kasap	1	**1.128**
6.işletme	2	0.079	6.kasap	2	**1.012**
6.işletme	3	0.080	6.kasap	3	**1.130**
7.işletme	1	0.047	7.kasap	1	**0.757**
7.işletme	2	0.047	7.kasap	2	**0.712**
7.işletme	3	0.047	7.kasap	3	**0.765**
8.işletme	1	**0.569**	8.kasap	1	**1.377**
8.işletme	2	**0.579**	8.kasap	2	**1.385**
8.işletme	3	**0.555**	8.kasap	3	**1.345**
9.işletme	1	0.216	9.kasap	1	**1.229**
9.işletme	2	0.210	9.kasap	2	**1.166**
9.işletme	3	0.205	9.kasap	3	**1.213**
10.işletme	1	0.049	10.kasap	1	0.139
10.işletme	2	0.046	10.kasap	2	0.135
10.işletme	3	0.066	10.kasap	3	0.132
%100 pozitif kontrol(ortalama)					0.868
%1 pozitif kontrol(ortalama)					0.650
Negatif kontrol(ortalama)					0.045
Kör kontrol(ortalama)					0.044

4.8. Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA Bulgularının Karşılaştırılması

Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen toplam 60 adet sucuk örneğine ait Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA sonuçları karşılaştırıldığında 3. ve 8. işletmeye ait sucuk örneklerinin 2. ve 3. tekerrürleri ile 6., 7., 8. ve 9. kasaplara ait sucuk örneklerinin tüm tekerrürlerinde her iki yöntemle de tavuk etinin varlığı tespit edilmiştir.

Ancak 5. işletmeye ait sucuk örneğinin her bir tekerrürü, 3. işletmeye ait örneğin 1.tekerrürü ve 8. işletmeye ait örneğin 1.tekerrürlerinde ELISA yöntemiyle tavuk eti varlığına rastlanmışken, Gerçek Zamanlı PCR yöntemiyle yapılan analizlerde tavuk eti varlığı tespit edilememiştir. Bu nedenle bu örnekler yeniden ELISA ve Gerçek Zamanlı PCR teknikleri ile analize tabi tutulmuş ve tekrar çalışılan 3. işletmeye ait 1. tekerrür, 5. işletmeye ait tüm tekerrürler ve 8. işletmeye ait 1.tekerrür sucuk örneklerinde birbirini doğrulayan sonuçlar elde edilerek tavuk eti varlığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9). Çizelge 4.68'e ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrileri EK.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.8. Gerçek Zamanlı PCR ile analizi tekrarlanan sucuk örneklerine ait Ct değerleri

Örnek No	Tekerrür No	Ct değeri
3.işletme	1	22.08
5.işletme	1	25.60
5.işletme	2	25.22
5.işletme	3	25.07
8.işletme	1	24.02
Pozitif kontrol		20.98

Çizelge 4.9. ELISA yöntemi ile analizi tekrarlanan sucuk örnekleri ve kontrollerin sonuçları

Örnek No	Tekerrür No	Optik dansite değeri
3.işletme	1	0.463
5.işletme	1	0.551
5.işletme	2	0.539
5.işletme	3	0.593
8.işletme	1	0.528
%100 kanatlı pozitif kontrol ortalama		0.863
% 1 kanatlı pozitif kontrol ortalama		0.578
Kör kontrol ortalama		0.019

Her ne kadar Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA yöntemlerinin hassasiyetleri sırasıyla %0.1 ve %1'den daha düşük olsada, özellikle Gerçek Zamanlı PCR analizinde kullanılan örnek miktarının çok düşük olması (100 mg) ve ayrıca yüksek ısıl işlem, inhibitör içeriğin varlığı, hayvansal yağ oranın yüksek olması (Perestam ve ark., 2016), her iki yöntem ile et tür tayininin sınırlamalarını oluşturmaktadır. Benzer şekilde, Perestam ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, 30 ticari et ürününden, etiketinde domuz eti varlığı beyan edilen 20 örneğin 16'sında ELISA ve Gerçek Zamanlı PCR teknikleriyle domuz eti varlığı tespit ettikleri bildirmiştir. Geri kalan örneklerden birinde ELISA yöntemi ile domuz eti tespit edilirken Gerçek Zamanlı PCR yöntemi ile domuz eti tespit edilememiştir. Bu durumun, ürünün içeriğinde PCR için inhibitör olabilecek bitki bazlı içerikten kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Başka bir örnekte ise Gerçek Zamanlı PCR yöntemi ile domuz eti varlığı tespit edilirken, ELISA yöntemiyle domuz eti varlığı tespit edilememiştir. Sözkonusu durumun, örneğin domuz içeriğinin ELISA yönteminin tespit limitinin altında olmasından kaynaklı olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca ürün etiketlerinin doğruluğunun daha kesin sonuçları için her iki yöntemin birlikte kullanılmasının daha yararlı olacağını bildirmişlerdir.

Çalışmada, işletme onay belgesi bulunan veya bulunmayan üretim yerlerinin durumlarının ve bölgesel farklılıkların araştırılması hedeflenmemiş olsa da, elde edilen bulgular incelendiğinde, işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 4 adet kasaptan temin edilen sucuk örneklerinin Ct ve OD değerleri, bu üreticilerinin tağşiş amaçlı tavuk eti ilavesi yapmış olabileceğine işaret etmektedir. Diğer taraftan işletme onay belgesi bulunan işletmelerden tavuk eti varlığı tespit edilen 3 adet işletmenin Ct ve OD değerleri incelendiğinde ise daha çok bulaşı durumunun söz konusu olabileceği görülmektedir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada Adana ilinde işletme onay belgesi bulunan 10 adet sucuk işletmesinin satış noktasından ve işletme onay belgesi bulunmadığı halde üretim yapan 10 adet kasap dükkanından temin edilen ve dana sucuk olarak satışa sunulan sucuk örneklerinde Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA yöntemleriyle tavuk eti aranmış örneklerin pH değerleri, nem içerikleri, su aktivitesi, renk değerleri, ve tekstür profil analizleri gerçekleştirilmiştir.

Çalışmadan elde edilen bulgulara göre; sucuk örneklerinin pH değerleri oldukça değişken bulunmuştur ve 3. ve 9. işletmeler ile 9. ve 10. kasaplara ait sucuk örneklerinin tebliğdeki değerlere uymadığı görülmüştür.

Sucuk örneklerinin nem içerikleri değişken bulunmuş, geleneksel yöntemlerle üretim yapan ve işletme onayı bulunmayan kasapların genel olarak tebliğe uymadığı görülmüştür.

Örneklerin su aktivitesi değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Sucuk örneklerinin iç ve dış L* a* b* değerleri incelendiğinde, örnekler arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Çalışmada kullanılan bütün sucuk örneklerinin, iç yüzey L* a* b* değerlerinin dış yüzey L* a* b* değerlerinden sayısal olarak yüksek olduğu görülmektedir.

Sucuk örneklerinin tekstür profil analizlerinden sertlik, iç yapışkanlık, sakızımsılık ve çiğnenebilirlik değerleri incelenmiş olup örneklerin bu değerleri arasındaki fark istatiktiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Çalışmamızın temel amacı olan Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA yöntemleriyle tavuk eti varlığı aranmasında, 3. işletme ve 8. işletmeye ait sucuk örneklerinin 2. ve 3. tekerrürleri ile, 6. kasap, 7. kasap, 8. kasap ve 9. kasaplara ait sucuk örneklerinde Gerçek Zamanlı PCR ve ELISA yöntemleriyle tavuk eti tespit edilmiştir. Çalışmada 5. işletme örneğinin her bir tekerrüründe, 3 numaralı işletmenin 1. tekerrüründe ve 8 numaralı işletmenin 1. tekerrüründede ELISA

yöntemiyle tavuk eti varlığına rastlanmışken, Gerçek Zamanlı PCR yöntemiyle yapılan analizlerde tavuk eti varlığı tespit edilememiştir. Bu nedenle bu örnekler yeniden ELISA ve Gerçek Zamanlı PCR teknikleri ile analize tabi tutulmuş ve tekrar çalışılan 3. işletmeye ait 1. tekerrür, 5. işletmeye ait tüm tekerrürler ve 8. işletmeye ait 1.tekerrür sucuk örneklerinde birbirini doğrulayan sonuçlar edilerek tavuk eti varlığı tespit edilmiştir. Gerçek Zamanlı PCR tekniğinin her ne kadar aşırı hassasiyetinden bahsedilse de kullanılan örnek miktarının son derece düşük olması (100 mg) örneğin yeterince temsil edilebilirliğini azaltmaktadır. ELISA yönteminin PCR yönteminden 10 kat kadar daha az hassas olması bilinmesine karşın ELISA yönteminde kullanılan örnek miktarı (20 g) Gerçek Zamanlı PCR yöntemine göre örneği daha fazla temsil ettiğinden çalışmadaki sonucu etkilediği düşünülmektedir. Ayrıca örneklerden mitokondrial DNA ektrakte edilmekte bu da sucuk gibi yağ oranı fazla olan ürünlerde zor olabilmektedir.

Her ne kadar miktar tayini yapılamasa da, çalışmada örneklerin Ct değerleri ve optik dansite değerleri dikkate alınarak Adana piyasasında 10 adet işletmenin 3'üne ait sucuk örneklerinde düşük denecek miktarda ve 10 adet kasabın 4'ünde yüksek miktarda tavuk eti tespit edildiği söylenebilir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile birbirini doğrulayan ELISA ve Gerçek Zamanlı PCR tekniklerinin et tür tayininde kullanılmasının, özellikle tavuk eti aranmasında başarılı sonuçlar vereceği tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

Anar, Ş., 2010. Et Muayenesi ve Teknolojisi. Dora Yayıncılık, Bursa. 414s.

Anonymous, 1999. Principle of the PCR https://users.ugent.be/~avierstr/principles/pcr.html (Erişim Tarihi: 15 Şubat 2017)

Anonymous, 2011. ELISA-TEKTM Cooked Meat Specification Kits for the Identification of Animal Species Content in Cooked and Canned Meat and Poultry Products by Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay. ELISA Technologies, Inc,Florida, USA.

Anonymous, 2012. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği. Tebliğ No: 2012/74, Resmi Gazete, 5 Aralık 2012, Sayı: 28488.

Anonymous, 2015. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2012/74)'nde Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ Tebliğ No: 2015/7. Resmi Gazete, 13 Şubat 2015, Sayı: 29266

Anonymous, 2016a. http://www.snp.com.tr/Eklenti/89,tavuk-tur-tayin-real-time-pcr-kiti.pdf (Erişim Tarihi: 15 Şubat 2016)

Anonymous, 2016b. Macherey Nagel Genomik DNA from Blood User Manual. (Çevrimiçi Erişim Tarihi : 12.03.2017. http://www.mn-net.com/Portals/8/attachments/Redakteure_Bio/Protocols/Genomic%20DNA/UM_gDNABlood.pdf)

Anonymous, 2017. http://www.anatoliageneworks.com. (Erişim Tarihi: 28 Ocak 2017)

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International (17th ed.). AOAC International Suite Suit 500, 481 North Frederick Avenue Gaithersburg. Maryland, 2417-2877, USA.

Arslan, A., 2002. Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medipres Matbaacılık, Malatya, 20s.

Arslan, A., İlhak, İ., Bozkurt, Ö.P., Şeker, P., 2004. Kanatlı Hayvan Etlerinde Et Orijininin Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Yöntemiyle Tespiti. Avrasya Veteriner Bilimleri Dergisi, 20(4):11-16.

Arı Ş., 2004. DNA' nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Çoğaltılması (Editörler: G. Temizkan, N. Arda). Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Biyogem Yayınları, Nobel Tıp Kitabevleri, Yayın No:2, Bölüm 5, İstanbul, s.101-120.

Arun, O.O., Uğur, M., 1999. Sosislerdeki Etin Orijininin Belirlenmesinde Pseudoperoksidaz Boyama Tekniğinin Poliakriklamid Jel İzoelektrik Odaklama (PAGIF) Metodunda Kullanılması. Turkish Journal Of Veterinary And Animal Sciences, 23, 599-603.

Asensio, L., Gonzales, I., Garcia, T., Martin, R., 2008. Determination of Food Authenticity by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Food Control, 19:1-8.

Atasever, D., 2011. Isıl İşlem Görmüş Et Ürünlerinde ELISA Tekniği ile Farklı Et Türlerinin Tespiti. Doktora Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Aydın. 62s.

Ayaz Y, Ayaz, N.D., Erol I., 2006. Detection of Species in Meat and Meat Products Using Enzyme-linked Immunosorbent Assay. Journal of Muscle Foods, 17(2):214-20.

Benli, H., 2017. Some Chemical Characteristics of Sucuk and Salami Samples Available at Retail in Adana. Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology, 5(11): 1307-1311.

Berger, R.G., Mageau, R.P., Scwab, B., Johnston, R.W. 1988. Detection of Poultry and Pork in Cooked and Canned Meat Foods by Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. Journal-Association of Official Analytical Chemists, 71: 406-409.

Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C., 2001. Changes in Biogenic Amine and Polyamine Contents in Slightly Fermented Sausages Manufactured With And Without Sugar. Meat Science, 57:215-221.

Bozkurt H., Bayram M., 2006. Color And Texturel Attributes During Ripening. Meat Science, 73:344 – 350.

Camma, C., Di Domenico, M., Monaco, F., 2012. Development And Validation of Fast Real-Time PCR Assays for Species İdentification in Raw And Cooked Meat Mixtures. Food Control, 23(2):400-4.

Chisholm, J., Conyers, C., Booth, C., Lawley, W., Hird, H., 2005. The Detection of Horse and Donkey Using Real-Time PCR. Meat Science, 70(4):727-732.

Denktaş, S., 2010. Doğal Antimikrobiyallerin Isıl İşlem Görmüş Sucukların Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon, 90s.

Dincer, B, Spearow, J.L, Cassens, R.G, Greaser, M.L., 1987. The Effects of Curing and Cooking on the Detection of Species Origin of Meat-Products by Competitive and Indirect Elisa Techniques. Meat Science, 20(4):253-65.

Doğu, M., Çon, A.H., Gökalp, H.Y., 2002. Afyon İlinde Yüksek Kapasiteli Et İşletmelerinde Üretilen Sucukların Bazı Kalite Özelliklerinin Periyodik Olarak Belirlenmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 26(1):1-9.

Dooley, J.J., Paine, K.E., Garrett, S.D., Brown, H.M., 2004. Detection of Meat Species Using TaqMan Real-Time PCR Assays. Meat Science, 68(3):431-438.

Ekici, K., Akyüz, N., 2003. Farklı Hayvan Türlerine Ait Çiğ Etlerin SDS-PAGE Yöntemleriyle Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 14 (2): 78-82.

Engvall A., 2010. The ELISA, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Clinical Chemistry, 56-2: 319-320.

Erkmen O, Bozkurt H., 2004. Quality Characteristics of Retailed Sucuk (Turkish Dry-Fermented Sausage). Food Technology and Biotechnology. 42(1): 63-69.

Ertaş, H., 2006. Isıl İşlem Uygulanarak Üretilen Sucukların Bazı Kalite Özelliklerine Üretim Koşullarının Etkisi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Arastırma Projesi Kesin Raporu, Ankara.

Ertaş N., Doğruer Y., 2010. Besinlerde Tekstür. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 7(1):35-42.

Eyquem, F., 2004. Quantitative Detection of Roundup Ready Soybean by ELISA. User Manual.European Commission-Joint Research Center. (Edited by Quercı M.,Jermini, M. And Van Den Eede G.) Special Publication No.I.03.114. 2-22 pages (Çevrimiçi Erişim Tarihi: 15 Mart 2016 gmocrl.jrc.ec.europe.eu /capacitybuilding/manuals/Manual%20EN/Section 12.pdf).

Fajardo, V., Gonzalez, I., Martin, I., Rojas, M., Hernandez, P.E., Garcia, T., Martin, R., 2008. Real-Time PCR for Detection and Quantification of Red Deer (Cervus elaphus), Fallow Deer (Dama dama), and Roe Deer (Capreolus capreolus) in Meat Mixtures. Meat Science, 79(2):289-298.

Gencelep, H., Kaban, G., Aksu M.I., Oz, F., Kaya, M., 2008. Determination of Biogenic Amines in Sucuk. Food Control. 19(9): 868-872.

Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2009. Gıda Sanayii Envanteri. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara.

Giovannacci, I., Guizard, C., Carlier, M., Duval, V., Martin, J.L., Demeulemester, C., 2004. Species Identification of Meat Products by ELISA. International Journal of Food Science Technologies, 39(8):863-7.

Gök, V., 2006. Antioksidan Kullanımının Fermente Sucukların Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri. Yüksek lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, 136s.

Gökalp, H.Y., Kaya, M., Zorba, Ö., 1997. Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi Yayın No:786. Ziraat Fakültesi Yayın No:320. Ders Kitapları Serisi No:70. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Erzurum, 561s.

Gökalp, H.Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö., 2001. Et ve Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Labaratuvar Uygulama Kılavuzu. 4. Baskı, A. Ü. Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, 268s.

Güllüce, A., Kesmen, Z., Yetim, H., 2011. Isıl İşlem Uygulanmış Et Karışımlarında Real-Time PCR Tekniği ile Tür Tayini. 1. Ulusal Helal Gıda Kongresi, Ankara, s.196-197.

Günel, T., Aydınlı, K., 2009. Real-Time PCR" ve Uygulama Alanları. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2(2):43-45.

Günşen, U., Ovalı, B., Coşkun, Y., 2006. Çiğ Et ve Isıl işlem Görmüş Et Ürünlerinde ELISA Tekniği ile Farklı Türlerinin Tespiti. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 32(2):45-52.

Gürbüz, Ü., 2009. Mezbaha Bilgisi ve Pratik Et Muayenesi, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, 271s.

Hsieh, Pyh., 2004. Monoclonal Antibodies For The Detection Of Prohibited Animal Proteins In Rendered Meat And Feedstuffs, Florida Research Consortium Technology Transfer Conference St. Petersburg, Florida.

İlhak, O.İ., 2004. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Yöntemi ile Et Türlerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Elazığ, 64s.

İlhak, O.İ., Arslan, A., 2007. Identification of Meat Species by Polymerase Chain Reaction (PCR) Technique. Turkish Journal Of Veterinary And Animal Sciences, 31(3):159-163.

İnal, T., 1992. Besin Hijyeni:Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. 2. Baskı, Final Ofset, İstanbul,783s.

Jones, S.J., Patterson, R.L.S., 1985. Double-Antibody Elisa for Detection of Trace Amounts of Pig Meat in Raw Meat Mixtures. Meat science, 15(1):1-13.

Jonker, K.M., Tilburg, J.J.H.C., Hagele, G.H., De Boer, E., 2008. Species Identification in Meat Products Using Real-Time PCR. Food Additives Contaminants, 25(5):527-533.

Kamber, U., Özalp, E., 2009. Fermente Türk Sucuklarında Et Orijininin ELISA ile Belirlenmesi, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 6(1):21-29.

Kemeny, D.M., 1991. A Practical Guide to ELISA, Pergamon Pres, NY.

Kargozari, M., Moini, S., Basti, A.A., Emam-Djomeh, Z., Ghasemlou, M., Martin, R.I., Gandomi, H., Carbonell-Barrachina, A.A., Szumny, A., 2014. Development of Turkish Dry-Fermented Sausage (Sucuk) Reformulated with Camel Meat and Hump Fat and Evaluation of Physicochemical, Textural, Fatty Acid and Volatile Compound Profiles During Ripening LWT. Food Science and Technology, 59:849-858

Kesmen, Z., Çelebi, Y., Güllüce, A., Yetim, H., 2013. Detection of Seagull Meat in Meat Mixtures Using Real-Time PCR Analysis. Food Control, 34(1):47-49.

Kesmen, Z., Güllüce, A., Şahin, F., Yetim, H., 2009. Identification of Meat Species by TaqMan-Based Real-Time PCR Assay. Meat Science, 82(4):444-449.

Kesmen, Z., Güllüce A., Yılmaz, M.T., Yetiman, A.E., Yetim H., 2014. Taqman-Based Duplex Real-Time Polymerase Chain Reaction Approach for the Detection and Quantification of Donkey and Pork Adulterations in Raw and Heat-Processed Meats. International Journal of Food Properties, 17(3):629-638.

Kesmen, Z., Yetim, H., Şahin, F., 2010. Identification of Different Meat Species Used in Sucuk Production by PCR Assay. Gıda, 35(2):81-87.

Konica Minolta Sensing Inc., 2007. Precise Color Cominication Handbook, 19s.

Kotoura, S., Murakami-Yamaguchi, Y., Kizu, K., Nakamura, M., Fuchu, H., Miake, K., Sugiyama, M., Narita, H., 2012. Establishment of a Sandwich ELISA for the Determination of Beef Content in Processed Foods by Using Monoclonal Antibodies to Myoglobin. Food Agricultural Immunology, 23(3):289-301.

Köse, T., 2010. Tokat İlinde Üretilen Bez Sucukların Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 70s.

Kubista, M., Andrade, M., Bengtsson, J.M., Forootan, A., Jonak, J., Lind, K., Sindelka, R., Sjöback, R., Sjögreen, B., Strömbom, L., Ståhlberg, A., Zoric, N., 2006 The Real–Time Polymerase Chain Reaction. Molecular Aspects of Medicine, 27(2-3):95-125.

Lee, S.K., Kim, Y.S., Kim, J.Y., and Song, Y.H., 2001. Effect of Muscle pH and Display Conditions on Surface Color in Hanwoo (Korean Native Cattle) Beef. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 14(3):365-371.

Macedo-Silva, A., Barbosa S.F., Alkmin M.G., Vaz, A.J., Shimokami, M., Tenuta-Filho, A., 2000. Hamburger Meat Identification by dot-ELISA. Meat Science, 56(2):189-192.

Martin, R., Wardale, R.J., Jones, S.J., Hernandez, P.E., Patterson, R.L.S., 1991. Monoclonal Antibody Sandwich ELISA for the Potential Detection of Chicken Meat in Mixtures of Raw Beef and Pork. Meat Science, 30(1):23-31.

Özay, G., Pala, M., Saygı, B., 1993. Bazı Gıdaların Su Aktivitesi (aw) Yönünden İncelenmesi. Gıda Dergisi, 18(6), 377-383,

Özpınar, H., Tezmen, G., Gökçe, I., Tekiner, I.H., 2013. Detection of Animal Species in Some Meat and Meat Products by Comparatively Using DNA Microarray and Real Time PCR Methods. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19(2): 245-252.

Özşensoy, Y., Şahin, S., Özdenoğlu, B., 2015. Sivas İlinde Piyasaya Sunulan Et Ürünlerinde Farklı Yöntemler Kullanılarak Tür Tayininin Yapılması ve Histolojik İnceleme. 6.Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, Van.

Öztan, A., 2005. Et Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Mühendisleri Odası Yayınları, Ankara, 495s.

Pearson, A.M., Gillett, T.A., 1999. Processed Meats. Third Edition. An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland, 437s.

Pehlivanoğlu, H., Nazlı, B., İmamoğlu, H., Çakır, B., 2015. Piyasada Fermente Sucuk Olarak Satılan Ürünlerin Kalite Özelliklerinin Saptanması ve Geleneksel Türk Fermente Sucuğu ile Karşılaştırılması İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 41(2):191-198.

Perestam, A.T., Fujisaki, K.K., Nava, O., Hellbeg, R.S., 2017. Comparision of Real Time PCR and ELISA- Based Methods for the Detection of Beef and Pork in Processed Meat Products, Food Control 71:346-352.

Poçan, H.B., Babaoğlu, A.S., Ünal, K., Karakaya, M., 2015. Determination of Physicochemical and Textural Properties of Different Types of Sucuk Offered for Commercial Sale. Journal of New Results in Engineering and Natural Science, 4:1-10.

Sancak, Y.C., Kayaardı, S., Sağun, E., İşleyici, Ö., Sancak, H., 1996. Van Piyasasında Tüketime Sunulan Fermente Türk Sucuklarının Fiziksel, Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Organoleptik Niteliklerinin İncelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 7(1-2):67-73.

Somma, M., 2006. The Analysis of food samples for the Presence of Genetically Modified Organisms. User Manual, Section 4- Extraction and Purification of DNA. European Commission-Joint Research Center. (Edited by M. Querci, M. Jermini and G. Van den Eede.), Italy, 18 pages. http://gmotraining.jrc.it/user%20manual%20EN.htm.

Somma, M., Querci, M., 2006. The Analysis of food samples for the Presence of Genetically Modified Organisms. User Manual, Section 6- The Polymerase Chain Reaction (PCR), European Commission-Joint Research Center. (Edited M. Querci, M. Jermini and G. Van den Eede), Italy 29 pages. http://gmotraining.jrc.it/user%20manual%20EN.htm.

Şenol, A., Nazlı, B., 1996. Fermente Sucuklarda Bozulmalara Neden Olan Faktörlerin Tespiti Üzerine Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 22(2):355-370.

TSE, 2012. Türk Standardı 1070. Türk Sucuğu. Türk Standardları Enstitüsü, Ankara.

TÜBİTAK, 2003. Tübitak Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü Bitki biyogüvenlik Araştırmaları Uygulamalı Eğitim Programı-IV. 20-30 Mayıs 2003.(Yayımlanmamış)

Ulca, P., Balta, H., Cagın, I., Şenyuva, H.Z., 2013. Meat Species Identification and Halal Authentication Using PCR Analysis of Raw and Cooked Traditional Turkish Foods. Meat Science, 94(3):280-4.

United States Department Of Agriculture, 2005. Identification of Animal Species in Meat and Poultry Products, MLG 17.02.

Üren, A., Babayiğit, D., 1997. Colour Parameters of Turkish-type Fermented Sausage During Fermentation and Ripening. Meat Science, 45(4):539–549.

Watson, J.D., Gilman, M., Witkowskı, J., Zoler, M., Watson, J.D., 1992. The Polymerase Chain Reaction In: Recombinant NA. Second Edition, New York, s.79-98.

Yalçın, A., Alkan, G., 2012. Et ve Et ürünlerinde At ve Domuz eti varlığının Uhlenhuth Presipitasyon halka, Agar Jel Immunodifüzyon ve Enzyme-linked Immuno Sorbent Assay Metotları ile Araştırılması. Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 18(6):923-927.

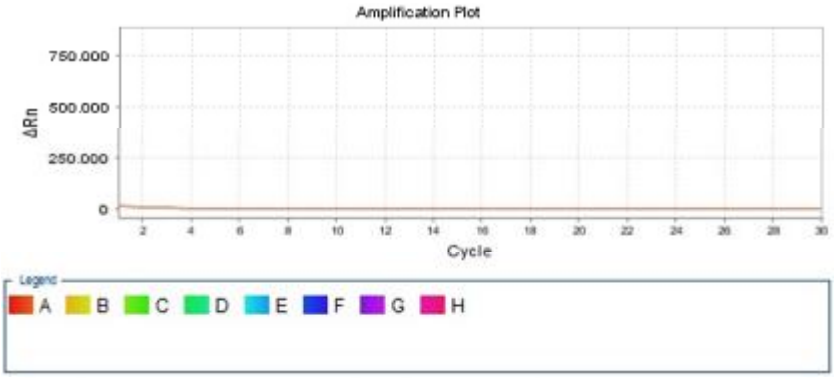
Yancy, H.F., Washington, J.D., Callahan, L., Mason, J.A., Deaver, C.M., Farrell D.E., Ha, T., Sespico, E., Falmlen, D., Myers, M.J., 2009. Development, Evaluation, and Peer Verification of a Rapid Real-Time PCR Method for the Detection of Animal Material. Journal of Food Protection, 72(11):2368-2374.

ÖZGEÇMİŞ

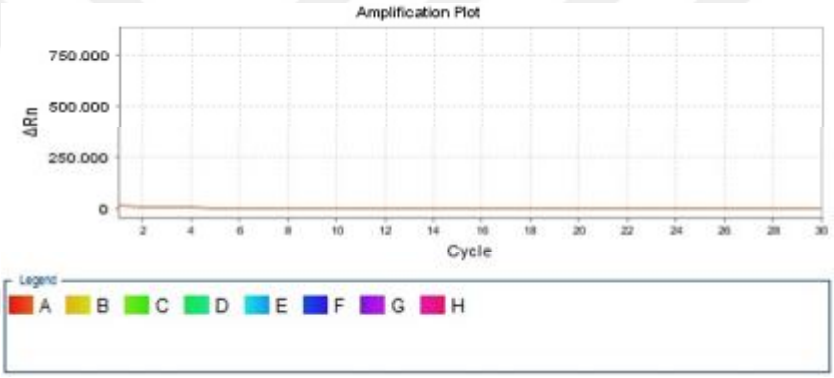
1978 yılında Batman'da doğdu. Orta öğrenimini Mersin'de tamamladı. 1996 yılında giriş yaptığı Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği'ni 2000 yılında bitirdi. 2000-2004 yılları arasında gıda üzerine özel sektör tecrübesi edindikten sonra 2004 yılında Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nda "Gıda Mühendisi" olarak göreve başladı. 2004-2007 yılları arasında Batman İl Tarım Gıda ve Hayvancılık Müdürlüğünde, 2007-2010 yılları arasında Adana Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğünde, 2010-2012 yıllarında Gaziantep Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğünde, 2012-2013 yıllarında Adana İl Tarım Gıda ve Hayvancılık Müdürlüğünde ve sonrasında Adana Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğünde görevler yaptı. Halen Adana Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğünde Gıda mühendisi olarak görev yapmaktadır. Evli ve üç çocuk annesidir.

EKLER

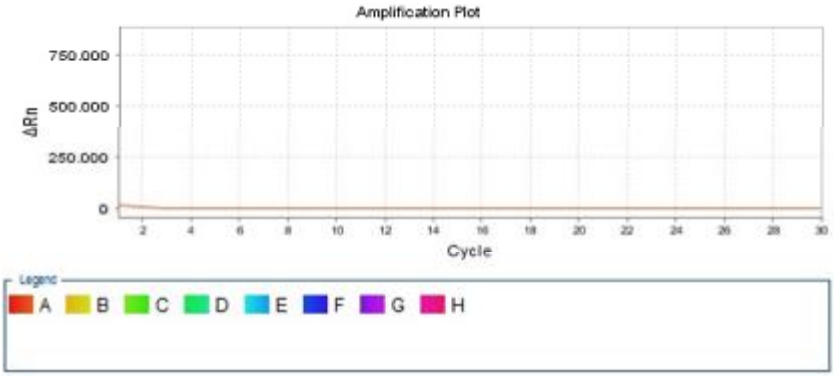
EK 1



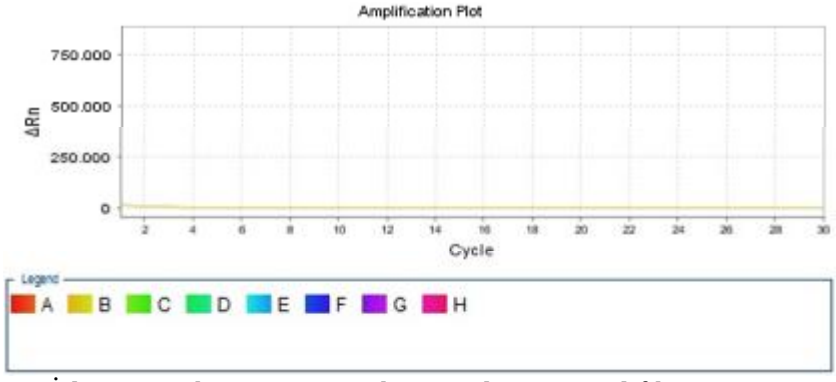
1.İşletme 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



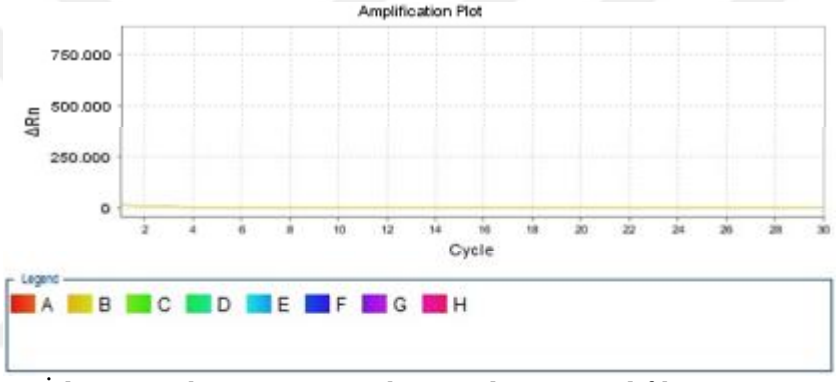
1.İşletme 2. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



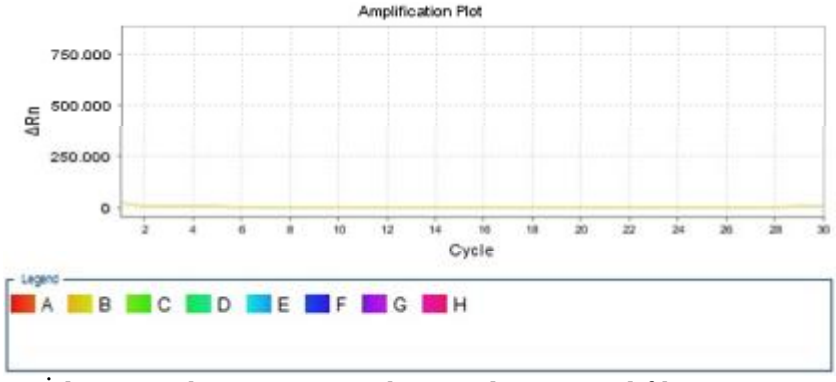
1.İşletme 3. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



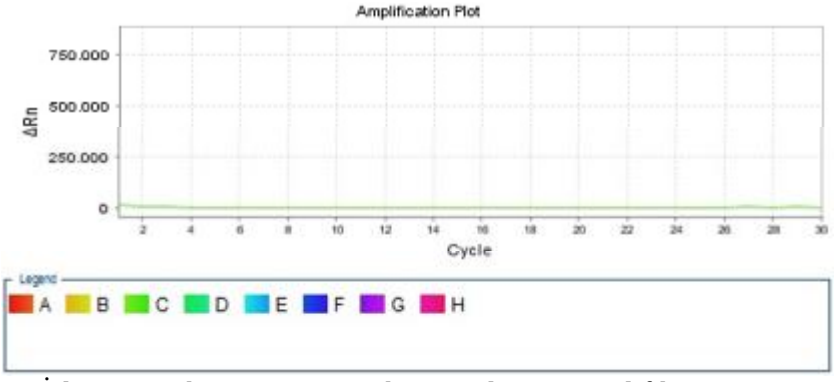
2.İşletme 1. tekerrür ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



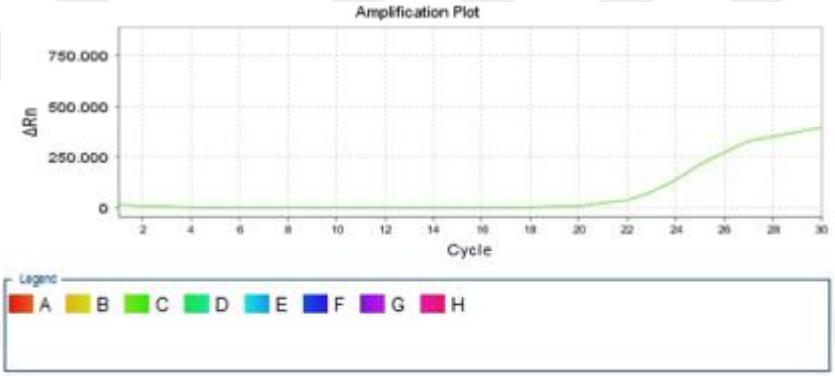
2.İşletme 2. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



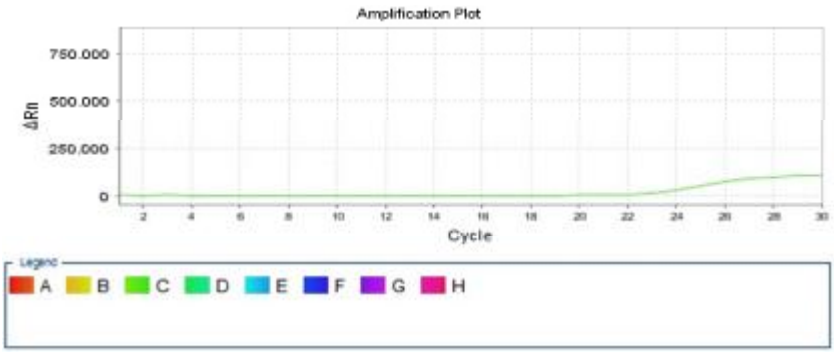
2.İşletme 3. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



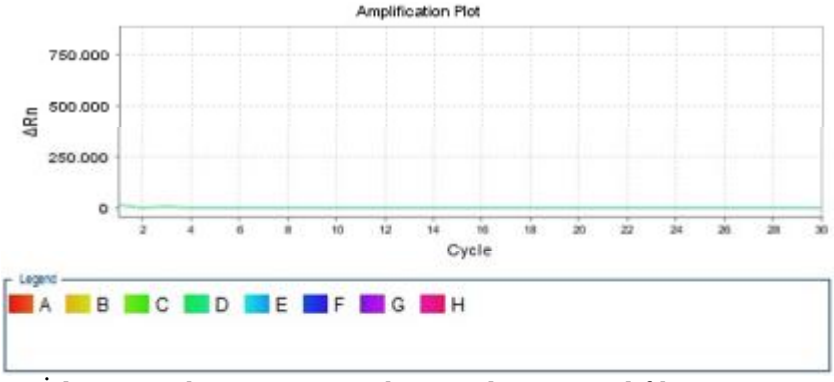
3.İşletme 1. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



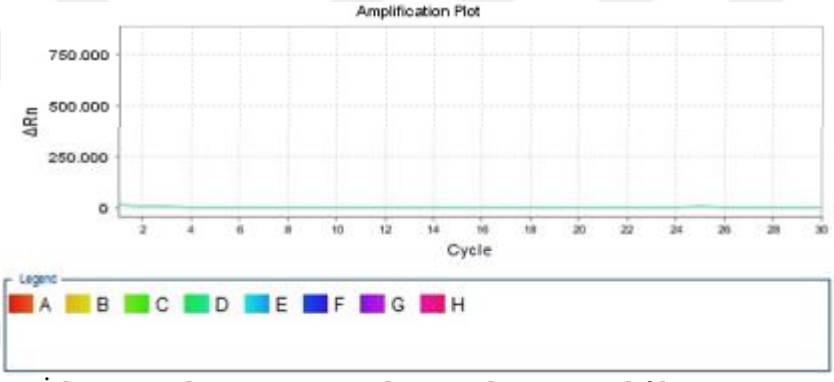
3.işletme 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



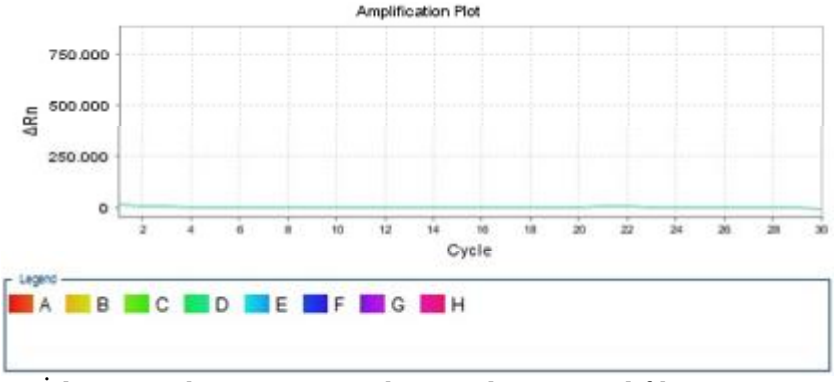
3.işletme 3. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



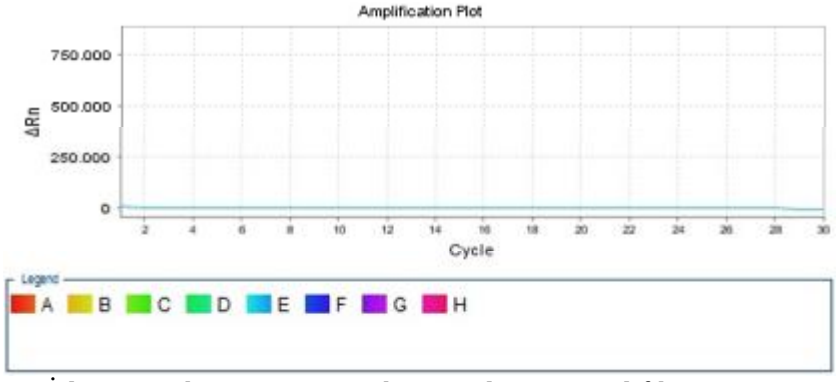
4.İşletme 1. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



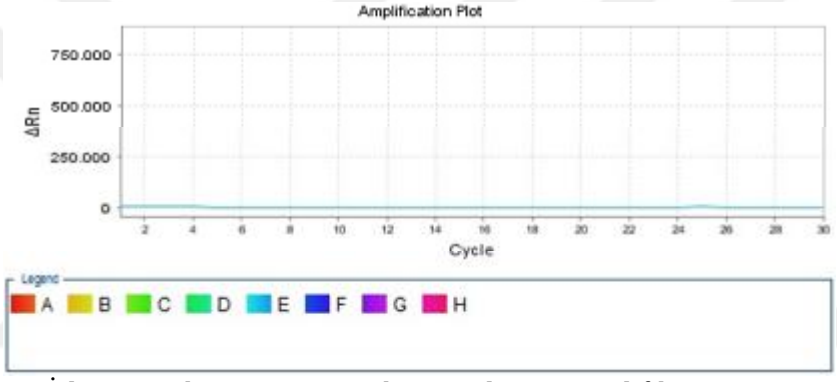
4.İşletme 2. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



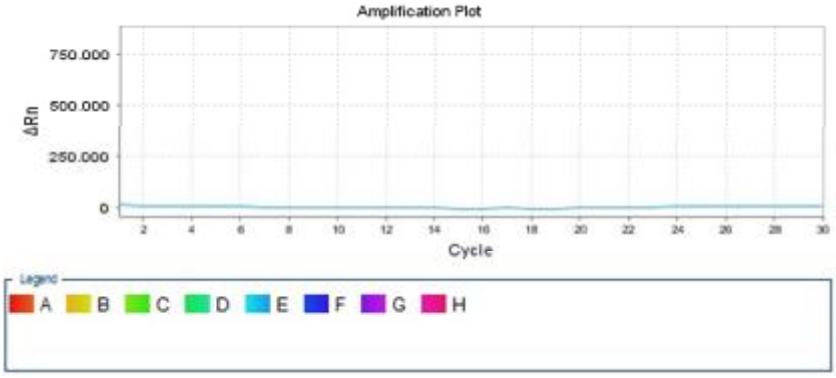
4.İşletme 3. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



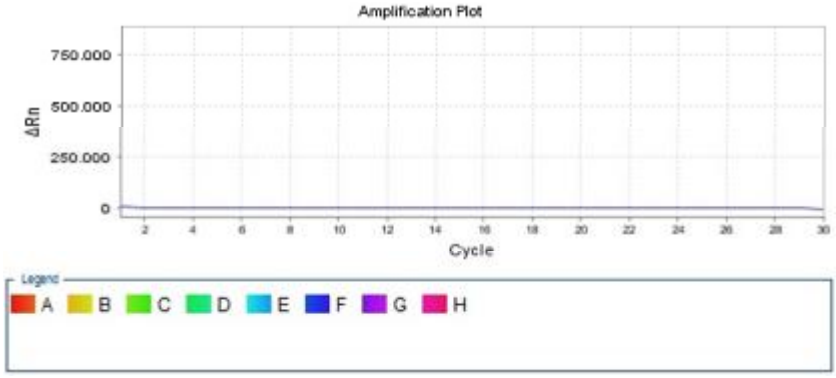
5.İşletme 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



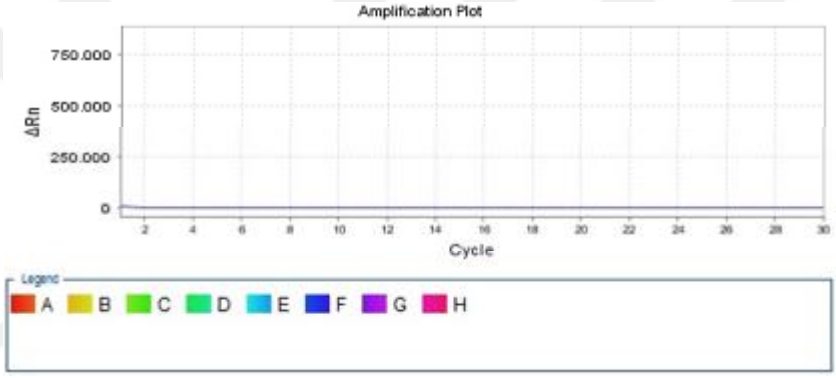
5.İşletme 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



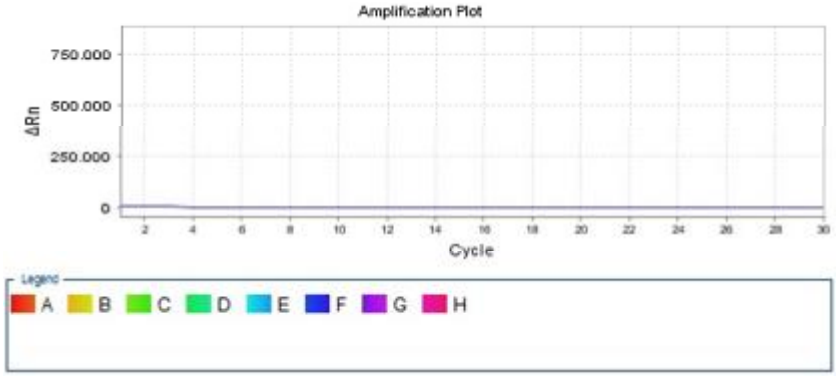
5.işletme 3. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



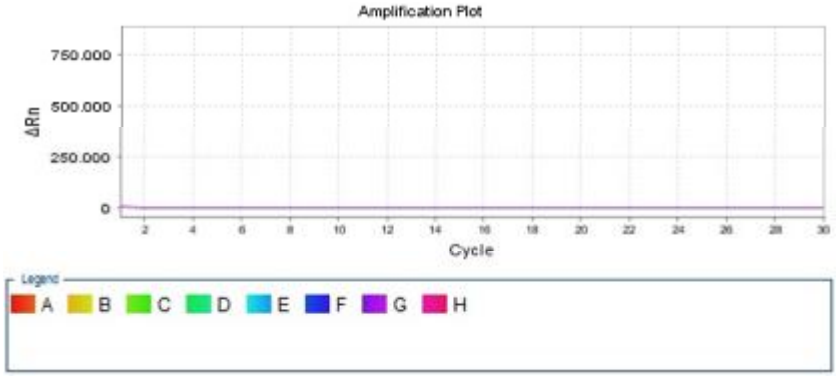
6.işletme 1. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



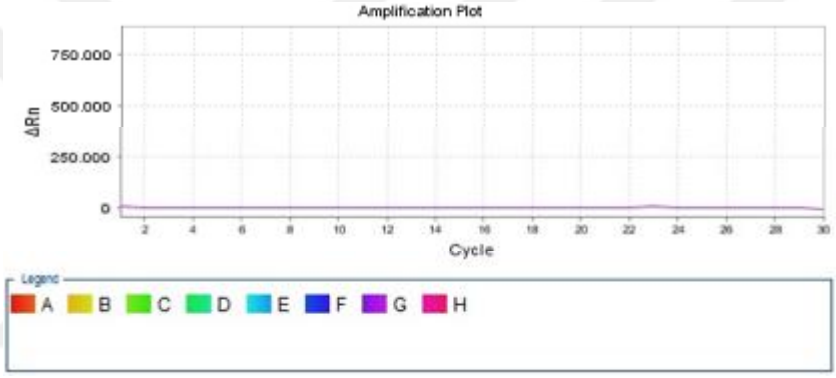
6.işletme 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



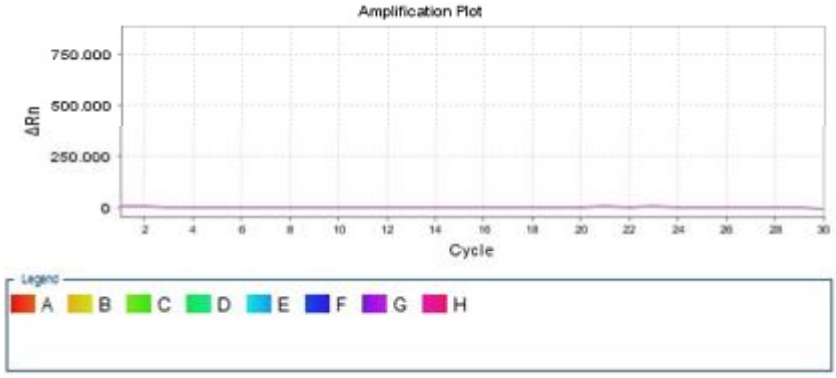
6.işletme 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



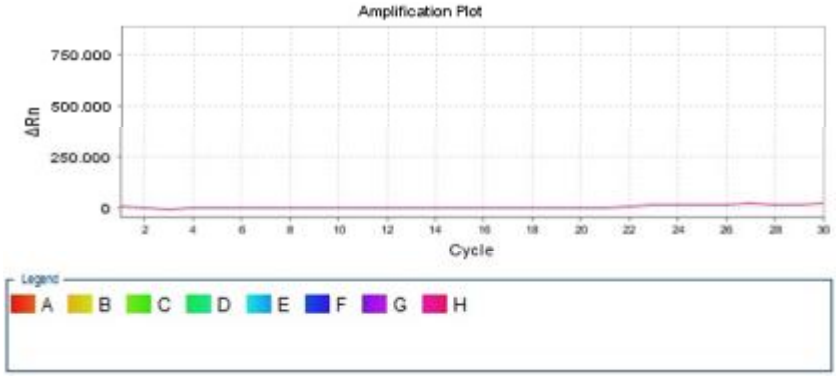
7.işletme 1. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



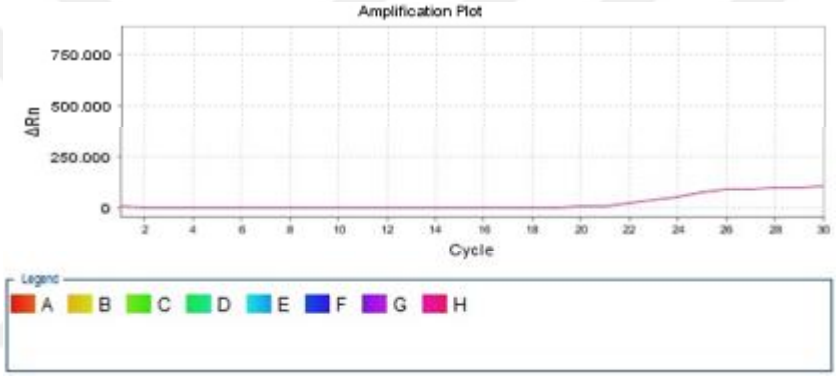
7.işletme 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



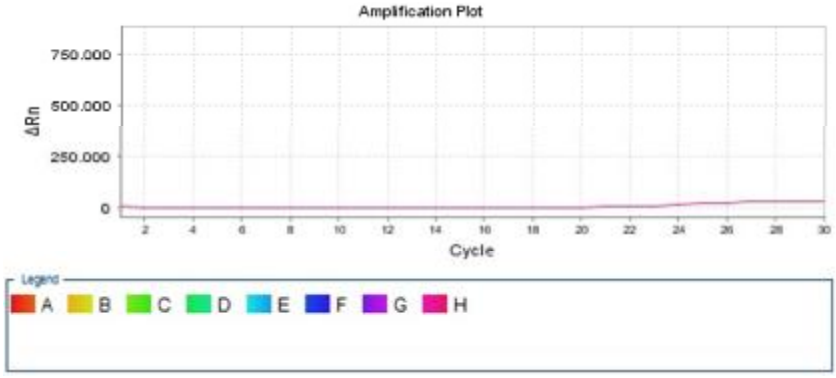
7.işletme 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



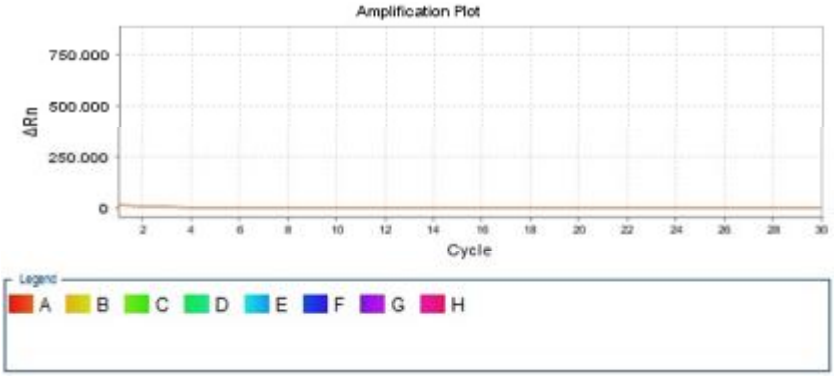
8.işletme 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



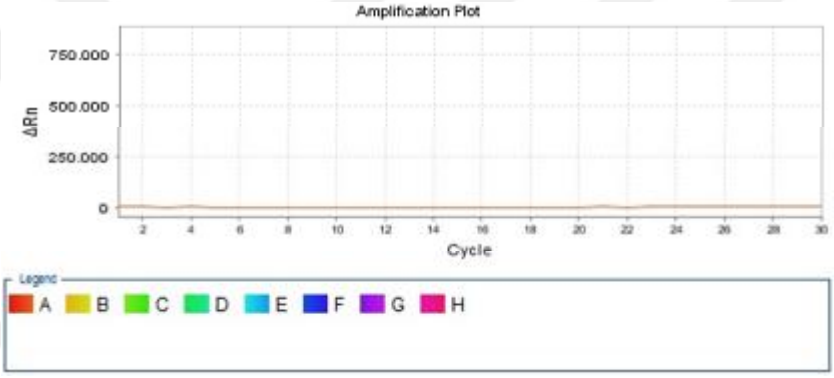
8.işletme 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



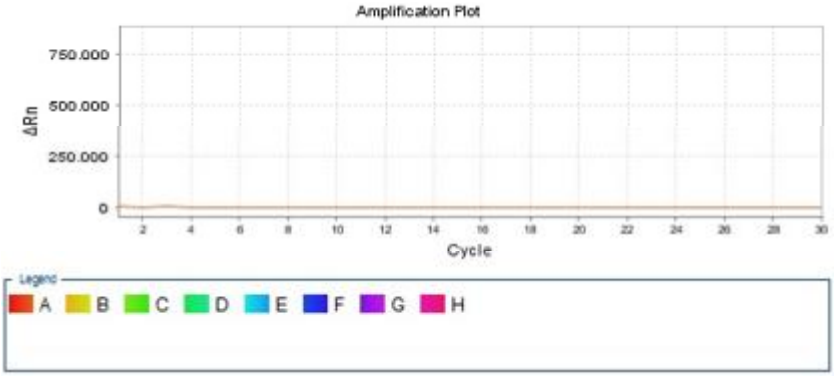
8.işletme 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



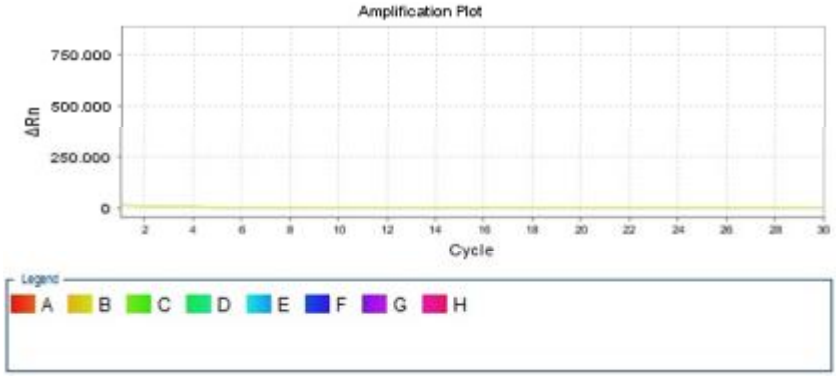
9. işletme 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



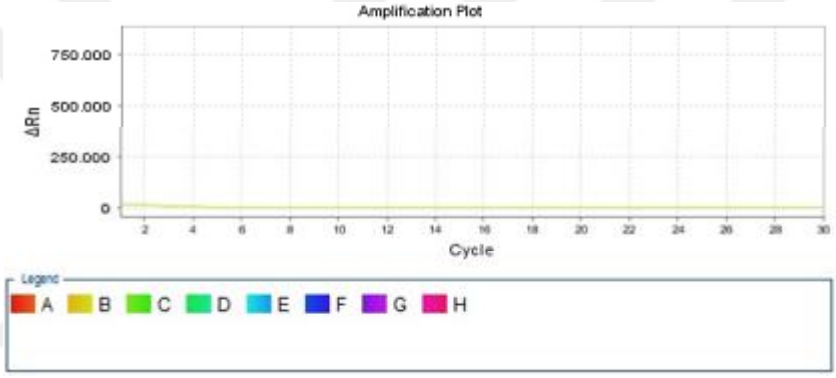
9. işletme 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



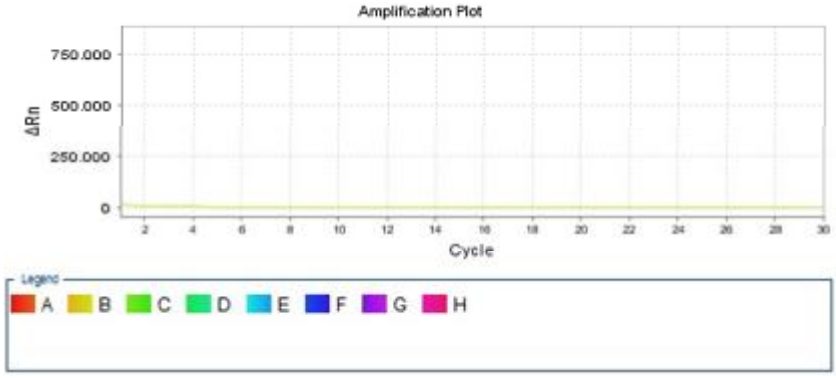
9. işletme 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



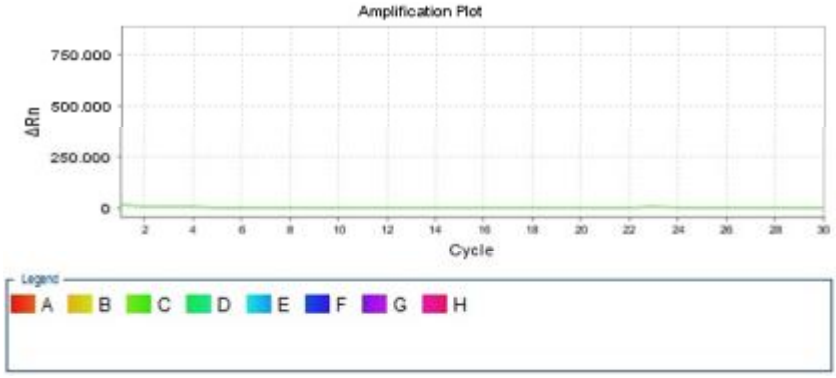
10. işletme 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



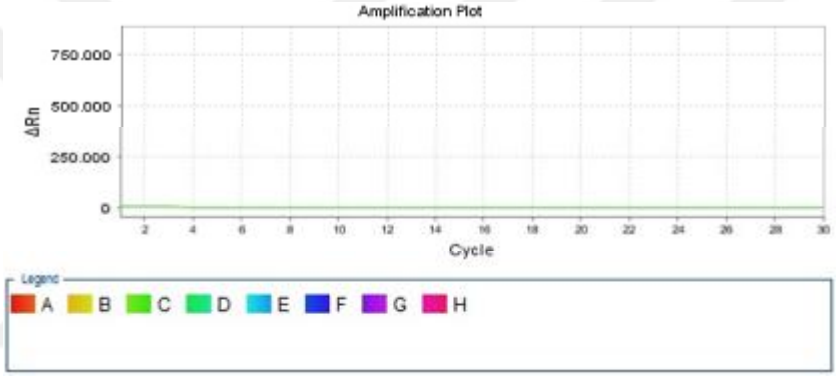
10. işletme 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



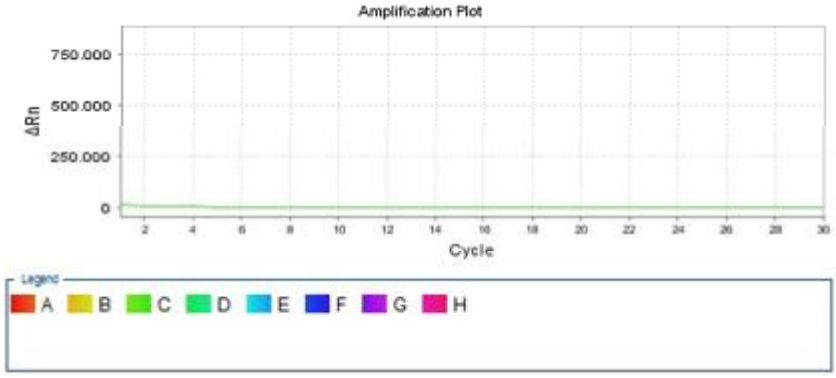
10. işletme 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



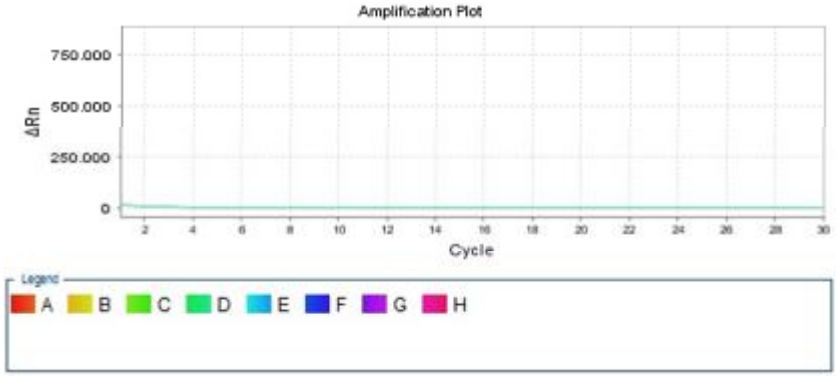
1. Kasap 1. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



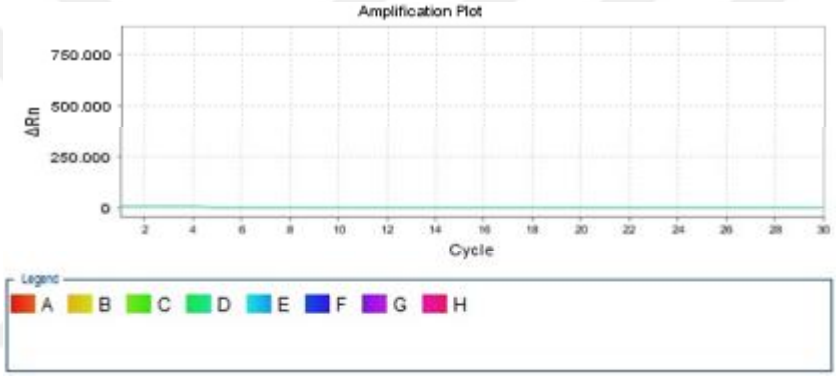
1. Kasap 2. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



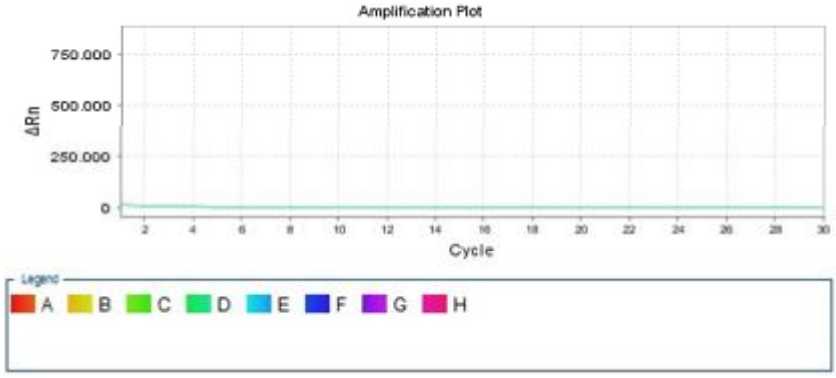
1. Kasap 3. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



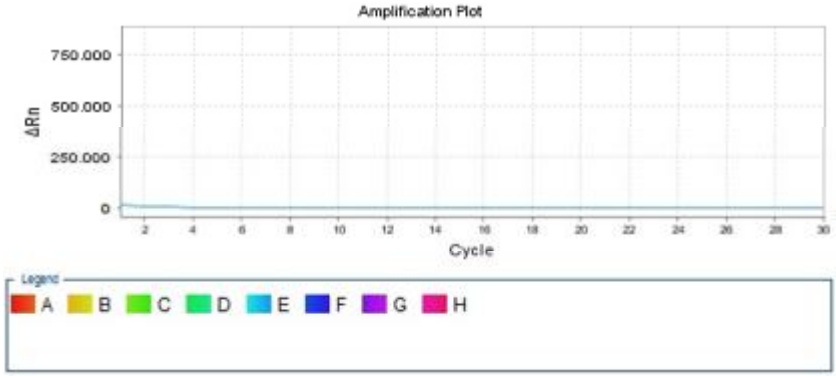
2. Kasap 1. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



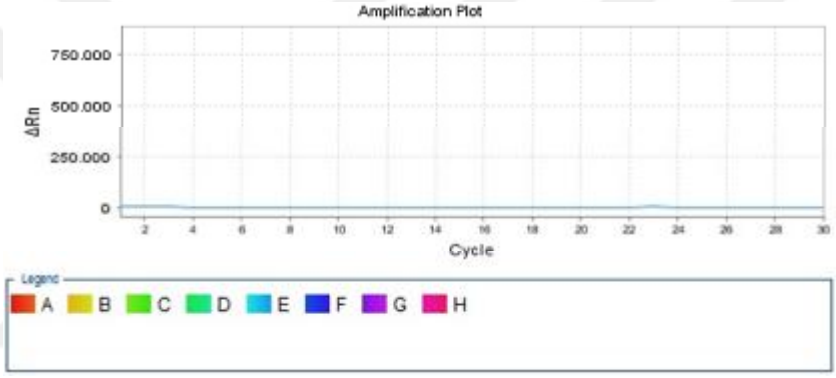
2. Kasap 2. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



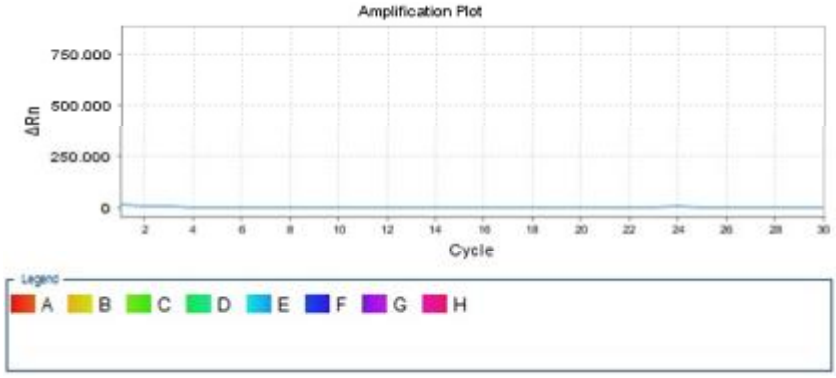
2. Kasap 3. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



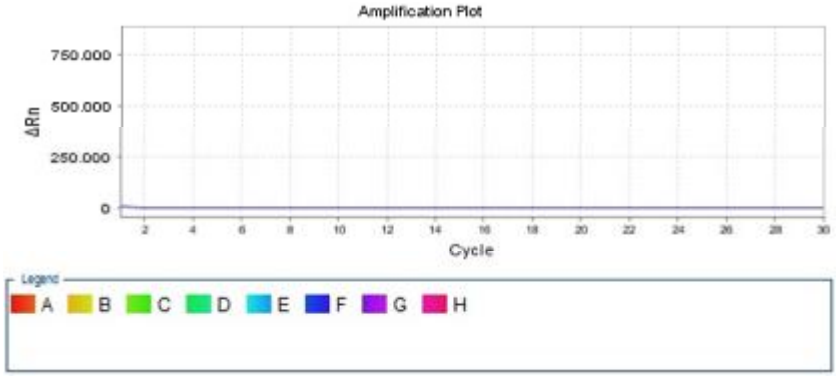
3. Kasap 1. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



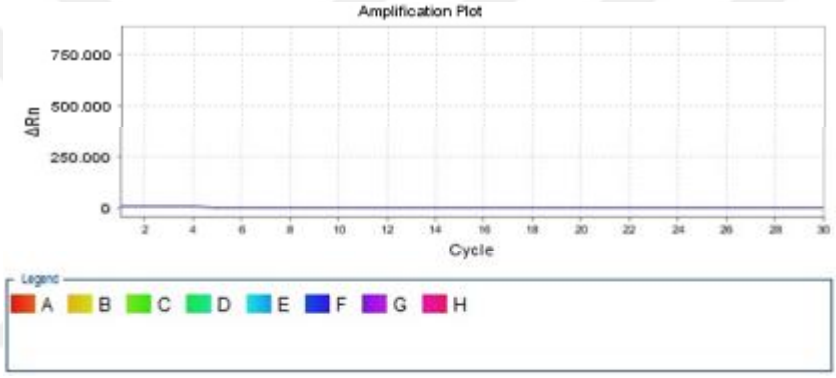
3. Kasap 2. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



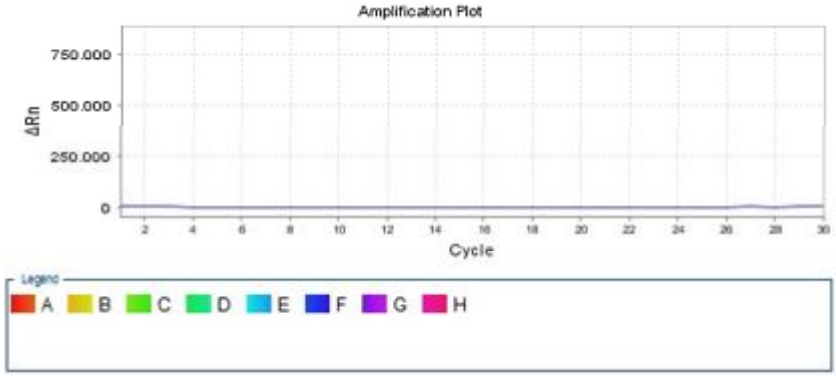
3. Kasap 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



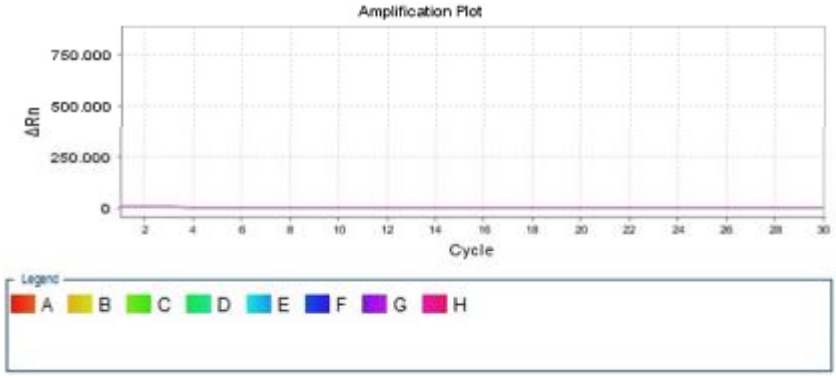
4. Kasap 1. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



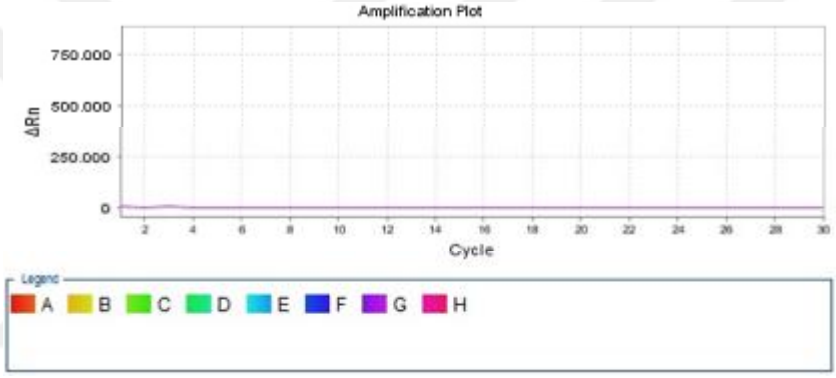
4. Kasap 2. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



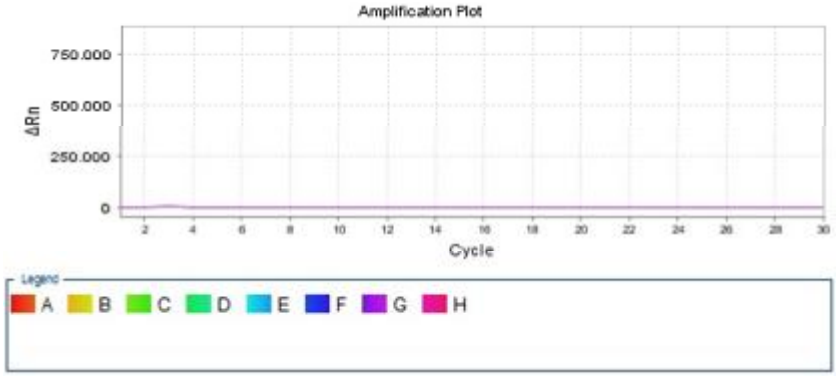
4. Kasap 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



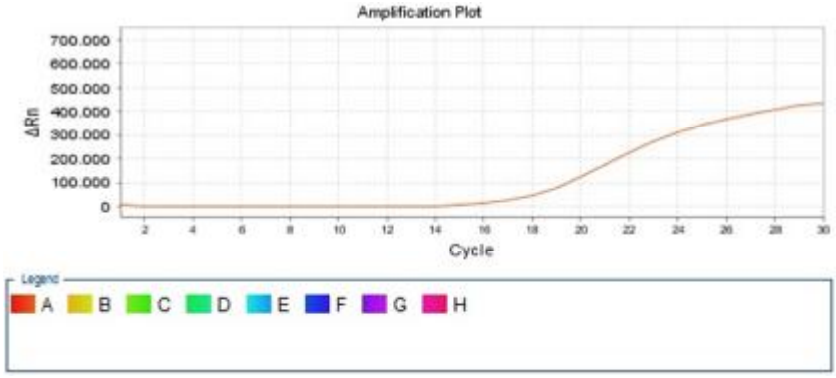
5. Kasap 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



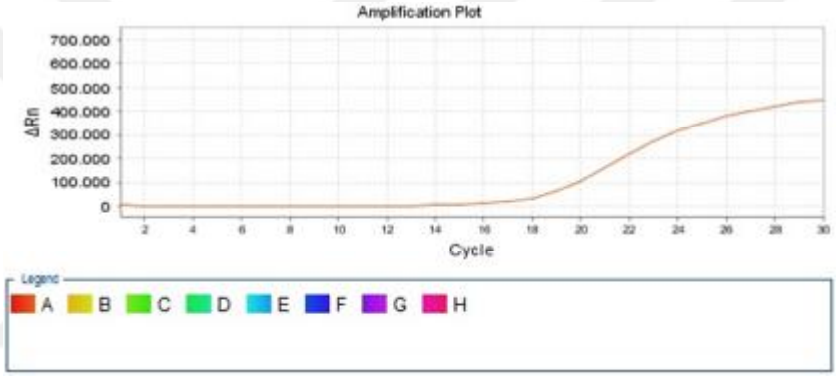
5. Kasap 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



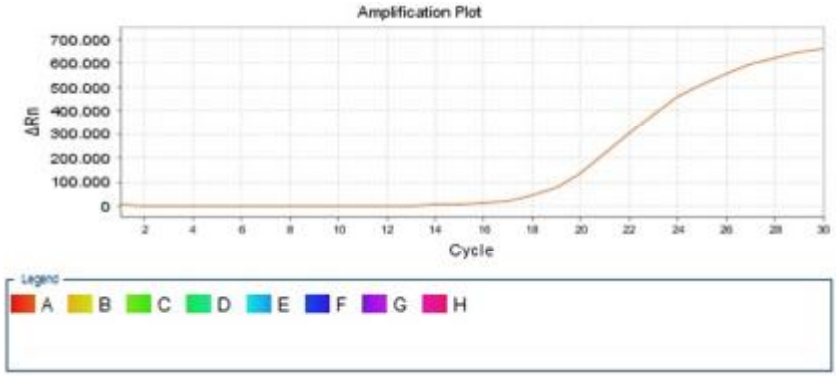
5. Kasap 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



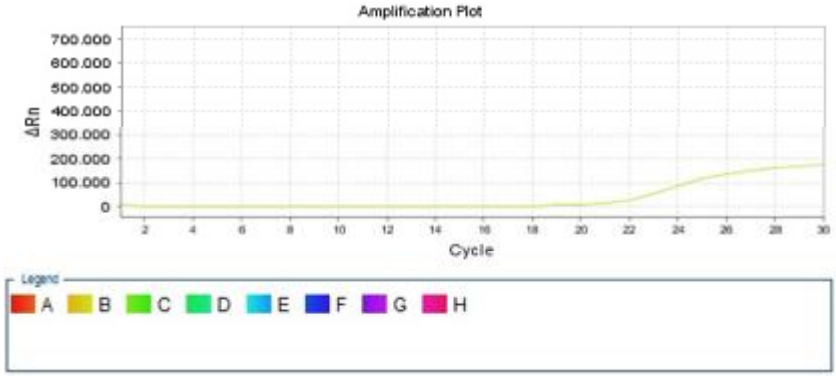
6. Kasap 1. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



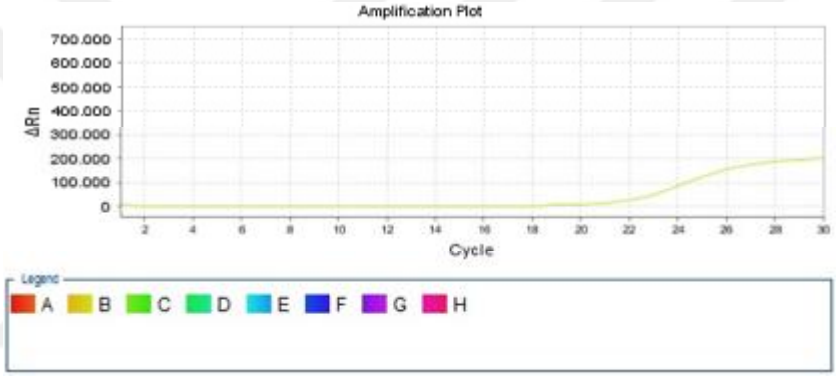
6. Kasap 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



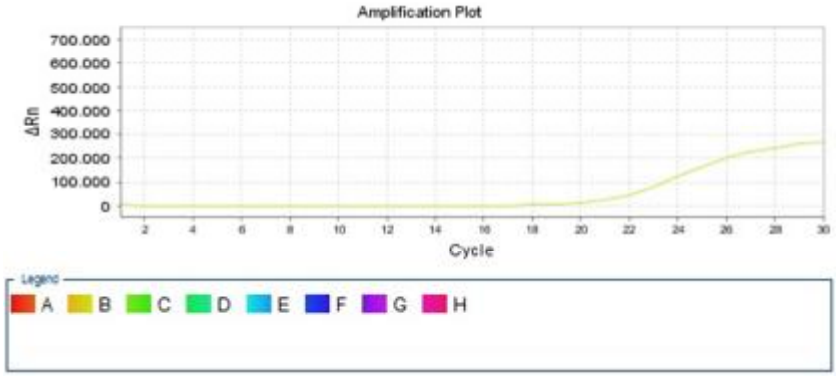
6. Kasap 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



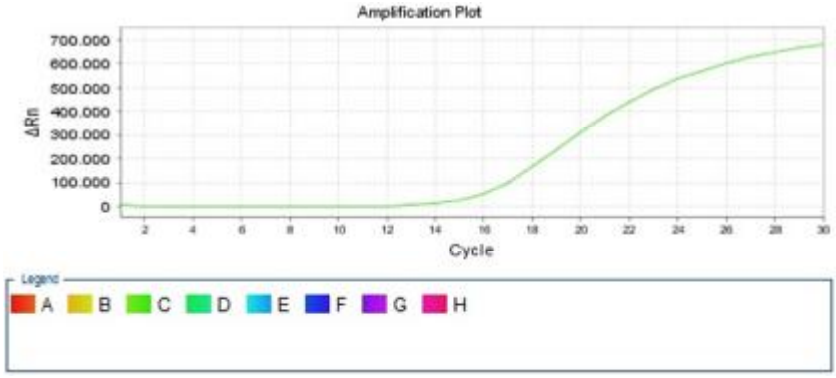
7. Kasap 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



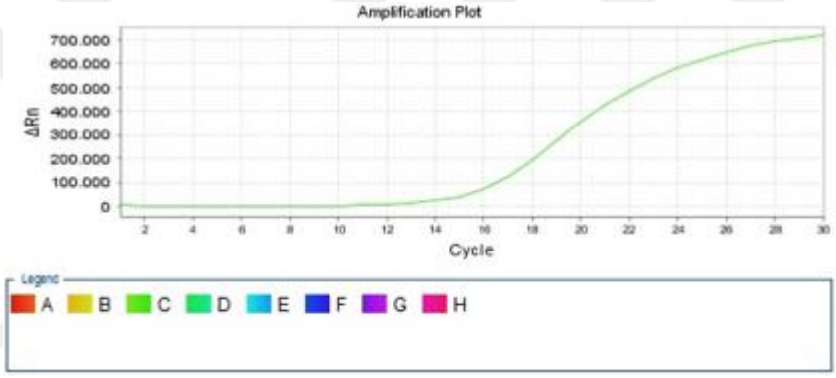
7. Kasap 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



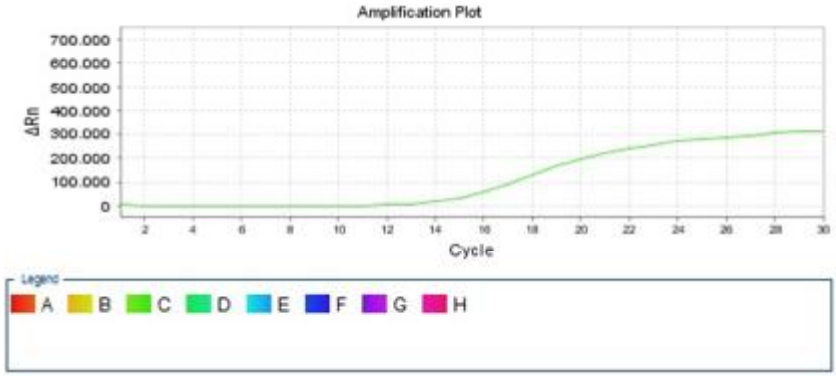
7. Kasap 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



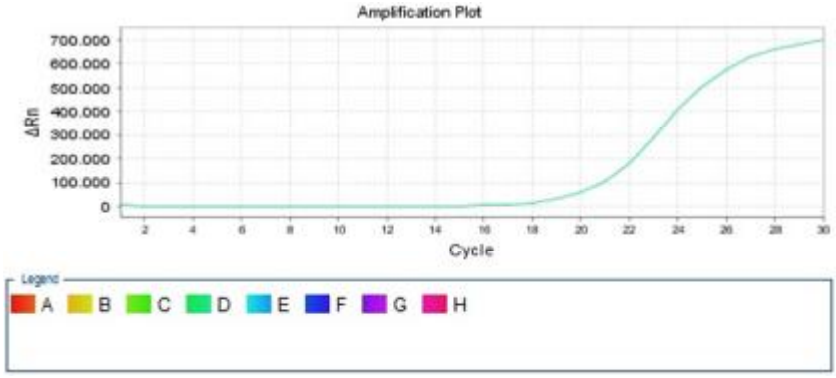
8. Kasap 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



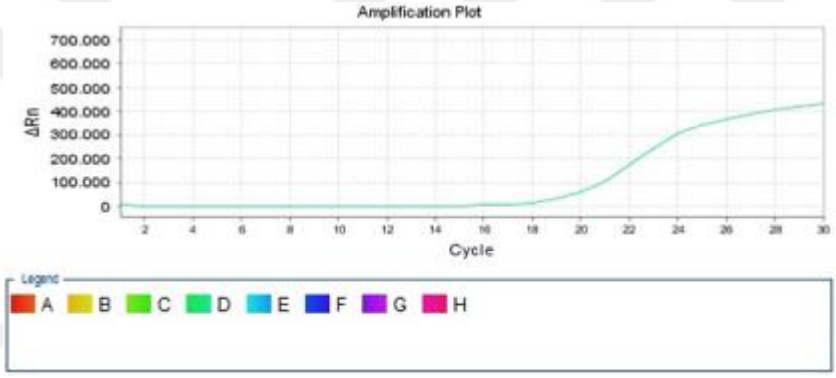
8. Kasap 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



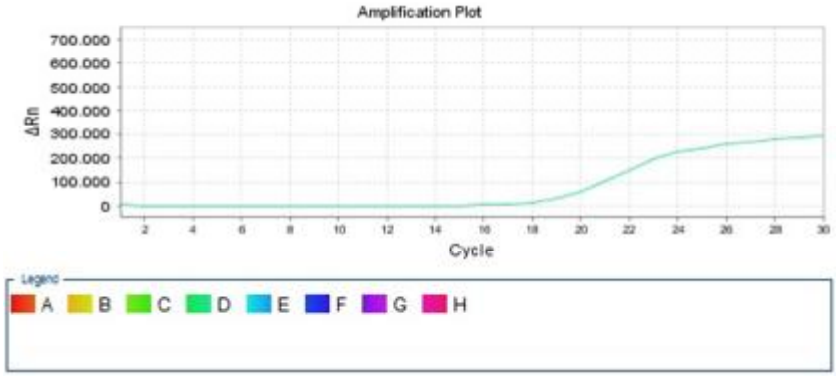
8. Kasap 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



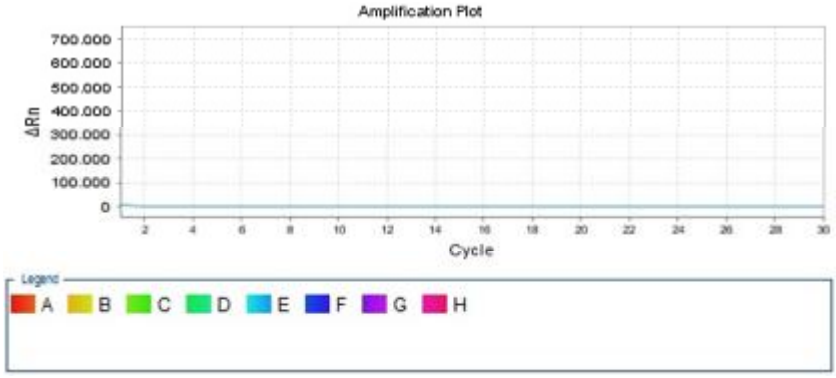
9. Kasap 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



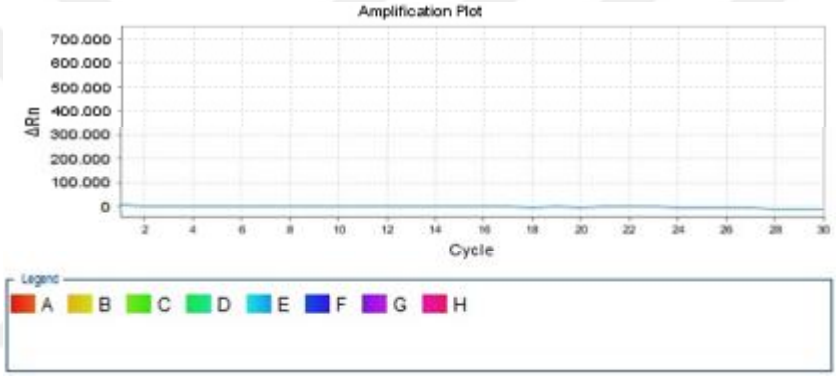
9. Kasap 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



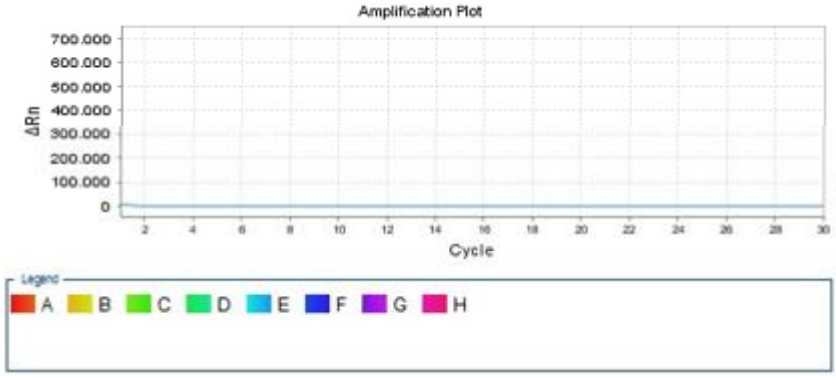
9. Kasap 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



10. Kasap 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi

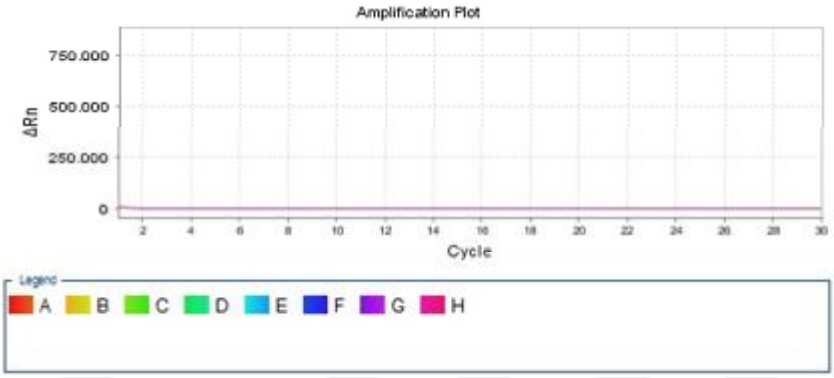


10. Kasap 2.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi

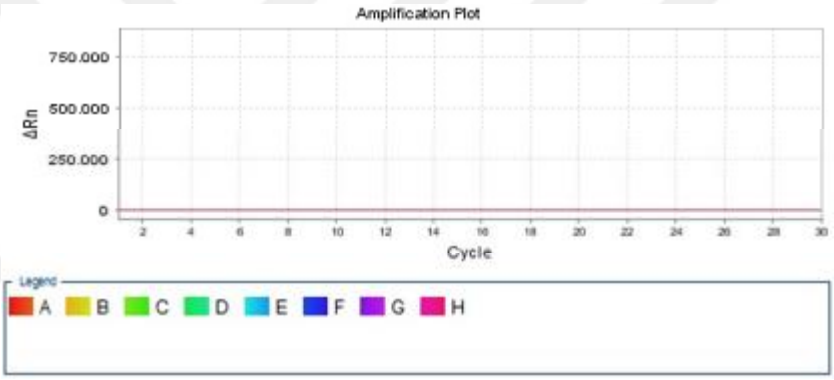


10. Kasap 3.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi

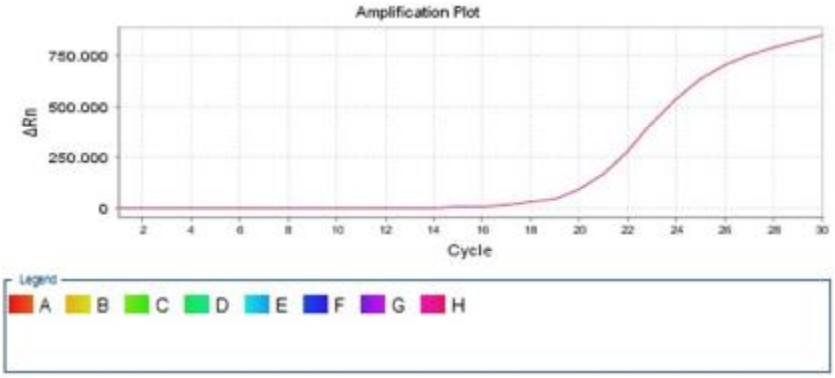
EK 2.



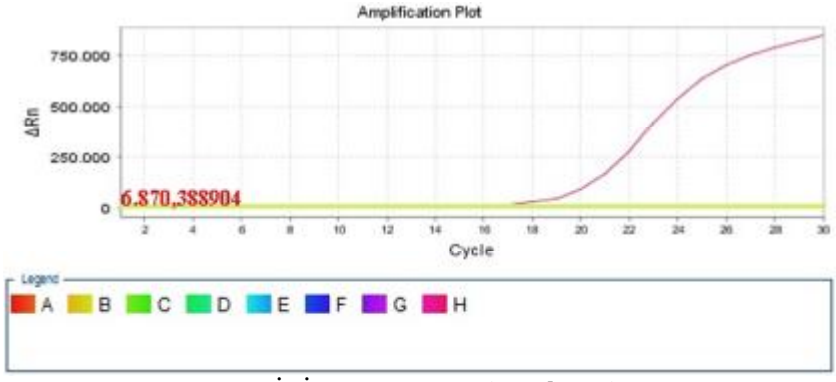
NEGATİF KONTROL (1.Çalışma)



NEGATİF KONTROL (2.Çalışma)

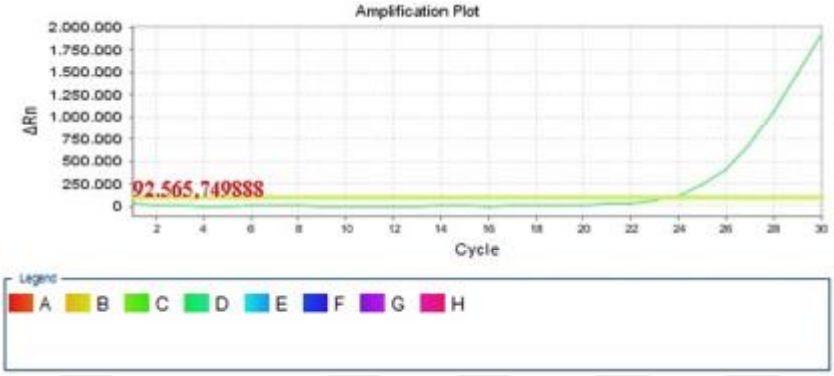


POZİTİF KONTROL (1.Çalışma)

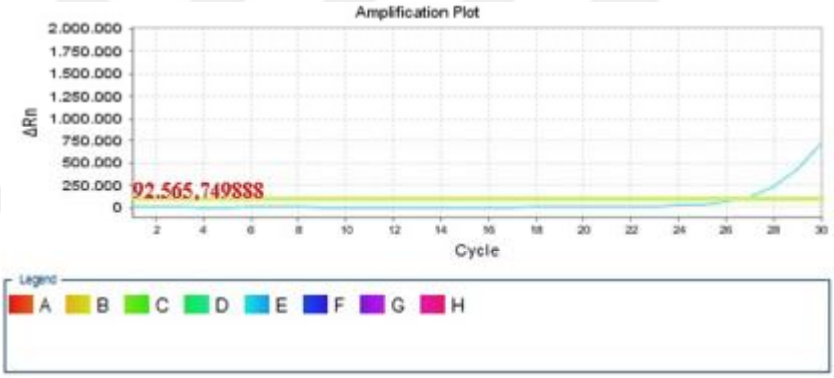


POZİTİF KONTROL (2.Çalışma)

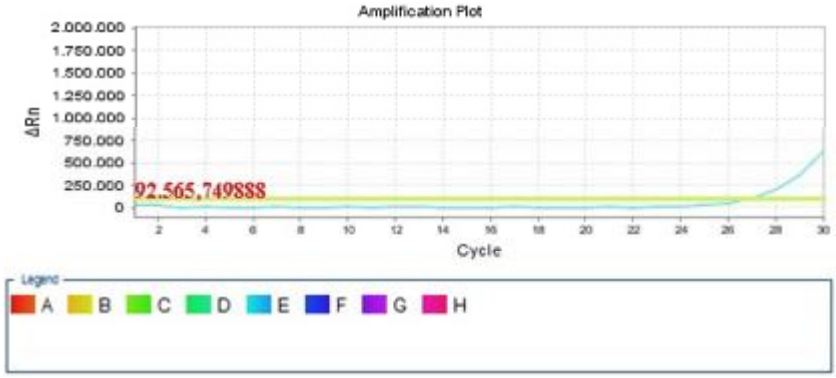
EK 3



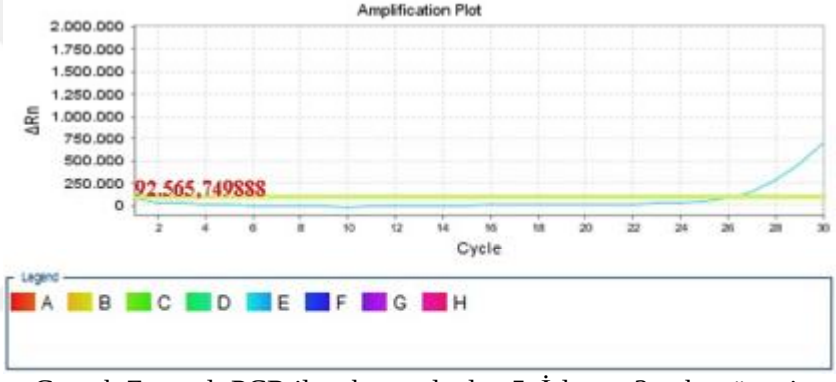
Gerçek Zamanlı PCR ile tekrar çalışılan 3. İşletme 1. Tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



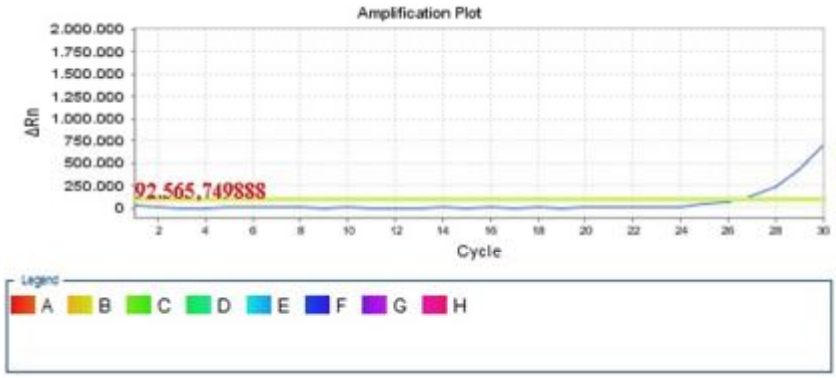
Gerçek Zamanlı PCR ile tekrar çalışılan 5. İşletme 1. Tekerrür ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



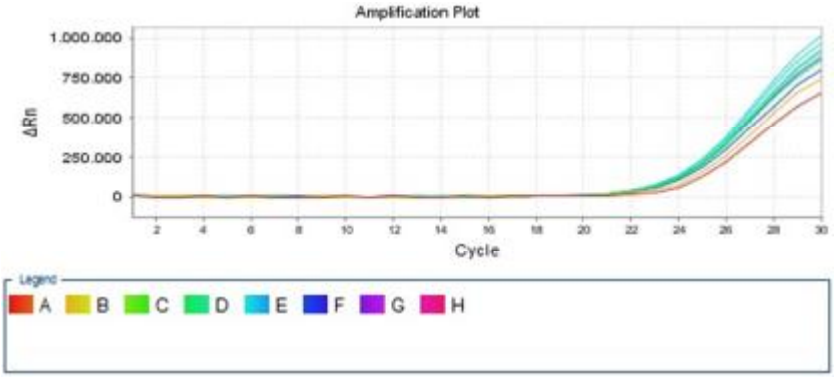
Gerçek Zamanlı PCR ile tekrar çalışılan 5. İşletme 2. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



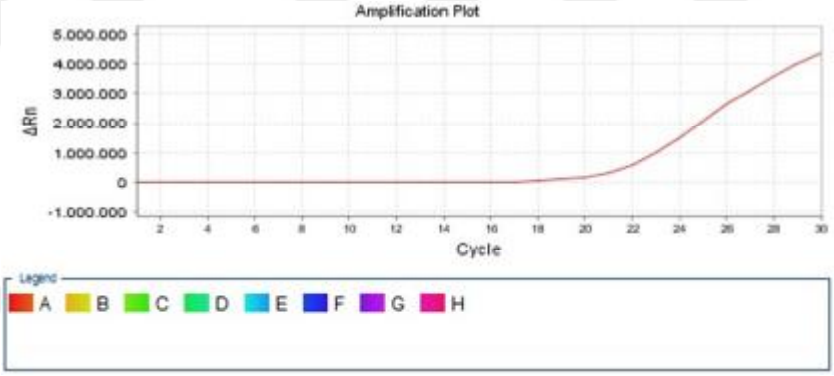
Gerçek Zamanlı PCR ile tekrar çalışılan 5. İşletme 3. tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



Gerçek Zamanlı PCR ile tekrar çalışılan 8. İşletme 1.tekerrüre ait Gerçek Zamanlı PCR amplifikasyon eğrisi



Gerçek Zamanlı PCR çalışmasına ait Internal Kontrol amplifikasyon eğrileri



Gerçek Zamanlı PCR çalışmasına ait Pozitif Kontrol amplifikasyon eğrisi