



GIDA BİLEŞENLERİNİN ORİJİN TESPİTİ ANALİZLERİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

Ertan ERMİŐ^{1*}, Hamzah Mohd SALLEH²

¹*Istanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye*

²*International Islamic University Malaysia, ²Faculty of Engineering, Jalan Gombak, 50728 Kuala Lumpur, Malaysia*

MAKALE BİLGİSİ

Geliő tarihi: 22 Şubat 2020
Düzeltilme tarihi: 2 Haziran 2020
Kabul tarihi: 18 Haziran 2020

Anahtar Kelimeler:

Gıda analizleri, foodomiks,
Spektroskopisi, otantisite testleri

ÖZET

Son yıllarda tüketicilerin, tükettikleri gıdaların kompozisyonlarını bilme farkındalıkları giderek artmaktadır. Helal gıdalarla ilgili fihki kurallar gereğince, gıdaların helal kabul edilebilmeleri için, gıda maddelerinin kaynaklarının (kökenlerinin) biliniyor olması gereklidir. Bu nedenle, helallik durumu ve otantisite ile bağlantılı meseleler ele alınmalıdır. Dolayısıyla, gıda bileşenlerinin kökeninin helal orijinli olup olmadığını teyit etmek amacıyla, doğru ve güvenilir analitik yöntemlere ihtiyaç vardır. Gıda orijin analizleri için çeşitli enstrümantal ve moleküler teknikler geliştirilmiştir. Günümüzde halen geleneksel metotların kullanılmasına rağmen, metabolomiks, proteomiks ve genomiks gibi unsurları kapsayan foodomiks, gıda ürünlerinin helallliğini doğrulamak için mevcut tekniklerin iyileştirilmesine yardımcı olmak için yeni bir yaklaşım olarak ortaya çıkmaktadır. Gıda biliminde foodomiks; sistem biyolojisi yaklaşımlarıyla birlikte omiks araçlarının (örn. proteomiks, lipidomiks, microbiomiks, genomiks, metabolomiks, transkriptomiks) uygulanmasını kapsar. Bu çalışmada, helal gıdalarda otantisitenin teyidi amacıyla günümüze kadar çalışılmış yöntem ve metotların, helal gıda standartları ve ilkeleri açısından uygulamalarına ve zorluklarına değinilmiştir.

ABSTRACT

In recent years consumer's awareness have been increased to know the composition of the food they are consuming. Accordingly, halal food fiqh rules and guidelines require that source (provenance) of the food can be traced back to its origin to fulfill halal requirements. Therefore, the issues related to halal status and authentication must be addressed. To accomplish this, there is a need for accurate and reliable analytical methods to verify the origin of the food components which are compatible with the halal food requirements. Various instrumental and molecular techniques have been developed for food origin analysis. Even though conventional methods are still being used, foodomics consisting of metabolomics, proteomics and genomics is emerging as a new approach to help to complement existing tech-

Keywords:

Food analysis, foodomics,
Spectroscopy, authenticity tests

niques to verify the claims made about halal status of food products. Foodomics in food science covers the application of omics tools (e.g., proteomics, lipidomics, microbiomics, genomics, metabolomics, transcriptomics) along with systems biology approaches. This work focuses on general overview of the applications and challenges of methods studied for halal food authentication in terms of the foods compliance with halal food requirements and policies.

1. Giriş

Küresel Helal gıda market Pazar hacminin 2013 yılında 1,1 trilyon ABD dolarından, 2024 yılına kadar 2.9 trilyon ABD dolarına ulaşacağı tahmin edilmekle birlikte, helal gıda pazarının 2019-2024 arasında %11 büyüyeceği öngörülmekte ve dünya gıda harcamalarının % 17,4'üne katkıda bulunacağı düşünölmektedir (Thomson Reuters, 2015; IMARC, 2019). Tahminlere göre, yaklaşık 1.6 milyar Müslöman nüfusun 2030'a kadar 2.2 milyara ulaşacağı (Thomson Reuters, 2015), ve bu yüzden helal gıdaya olan talebin büyük bir ölçüde artacağı düşünölmektedir. Helal gıdaya olan talebin artması ve küresel ticaret hacmindeki artış, tağış riskinin artışına veya helal gıda fıkıh kurallarının ve yönergelerin kötüye kullanımına neden olabileceği gibi (Ermis, 2017; El Sheikha vd., 2017), fiziksel tayinleri güç, haram/şüpheli gıda katkı maddeleri veya gıda bileşenlerinin (örn. domuz eti ikamesi ve/veya beyan edilmemiş yasaklı bileşenler), daha ucuz olmaları sebebiyle, helal bileşenleri taklit etmek amacıyla gıda maddelerine karıştırılabileceğinin göz önünde bulundurulması gereklidir (Lubis vd., 2016; Al-Mazeedi vd., 2013). Ayrıca, aynı tesislerde çeşitli gıda ürünlerinin işlenmesinin istem dışı gerçekleşebilecek çapraz kontaminasyona sebebiyet verebilmesi ve gıdaların helallik durumunun riske girebilmesi gibi nedenlerle, gıda bileşenlerinin helal statüleri ve otantisiteleri (orijinalliği) garanti edilmelidir. Dolayı-

sıyla, gıda bileşenlerinin kökenini doğrulamak ve helal gıda gerekliliklerini karşılayabilmek için doğru ve güvenilir analitik yöntemlere ihtiyaç vardır. İslami İşbirliği Örgütü'ne (İİT) bağlı kurum olan "İslam Ülkeleri için Standartlar ve Metroloji Enstitüsü (SMIIC)" resmi uluslararası standartlar organı tarafından Codex Alimentarius Komisyonu'nun (CAC) "Helal" teriminin kullanımına ilişkin Genel Kılavuzları (CAC/GL 24-1997) (CAC, 2016; Ermis, 2017) referans alınarak, temel helal gıda gerekliliklerini içerecek şekilde Helal Gıda Genel Kılavuzları yayınlanmıştır (OIC/SMIIC, 2011).

Son geliştirilen yöntemlerin çoğu, gıda örneğinde bulunan veya bulunmayan spesifik belirteçlerin saptanmasına dayanmaktadır. Ayrıca, helal ürünlerin kökenini doğrulamak ve gıda maddelerinde izin verilmeyen bileşenleri tanımlamak için kemometrik analiz ile birlikte Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi (Ordoudi vd., 2017), Raman mikrospektroskopisi (Cebi vd., 2017), kristalizasyon parametreleri ile termal analiz profilleri ve diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC) kullanılarak yasaklanmış bileşiklerin erime noktası (Nurruhdayah vd., 2015; Alkhalf vd., 2017), çeşitli polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizleri (Erwanto vd., 2015; Safdar vd., 2014) gerçek zamanlı PCR (Amaral vd., 2017), multipleks PCR (Sultana vd., 2018), sandviç ELISA (Alina vd.,2012), elektronik burun (Nurjuliana vd., 2011; Park vd., 2017), GC-MS (Park vd., 2016), GC -TOF MS (Witjaksono vd., 2017), LC-MS (von Bargen vd., 2013), dielektrik özelliklerin

ölçülmesi (Abidin vd., 2016), kolorimetrik yöntemler (He ve Yang, 2018), immuno strip testi (Kuswandi vd., 2017), alkolün elektrokimyasal tayini (Musa vd., 2014) ve ayrıca immünokimyasal (Swanson vd., 1992) ve elektroforetik (Slattery ve Sinclair, 1983) gibi farklı teknikler ve yöntemler araştırılmış ve önerilmiştir. Fakat bu yöntemler kendiliğinden ölmüş veya kuralara uygun şekilde kesilmemiş hayvanlar gibi, helal gıda gerekliliklerine uymayan ve tabiatı gereği fiziksel, kimyasal veya biyolojik olmayan unsurların tespiti için yeterli değildir (El Sheikha vd., 2017; Mursyidi, 2013).

Bu derlemede amaç, gıda ürünlerinin helal statüsünün değerlendirilmesi için kullanılan test tekniklerinin (kullanım ve sınırlamalarının) güncel ve kapsamlı bir incelemesini yapmaktır. Ayrıca, analizlerde kullanılan yaklaşımlar, teknolojiler, metodolojiler, ticari kitler ve araçlar gözden geçirilmiş ve potansiyel uygulamalarıyla birlikte gelecekteki perspektifler de vurgulanmıştır.

2. Gıdalarda Köken Tespiti için Kullanılan Yöntemler

Günümüze kadar çoğu araştırmacı tarafından spektroskopik, immünolojik, kromatografik analiz ve DNA profillemeye ve barkodlamayı içeren protein, lipit ve DNA bazlı yöntemler de dahil olmak üzere çok sayıda gıda doğrulama ve tanımlama yöntemleri önerilmiş ve geliştirilmiştir (He ve Yang, 2018). Gaz kromatografisi (GC) ve sıvı kromatografisi (LC) teknikleri gıda numunelerinin bileşenlerinin tespit edilebilmesi için güçlü teknikler olup, gıdalarda izin verilmeyen maddeleri tespit etmek için kullanılmıştır. Moleküler parmak izinin belirlenmesini sağlayan kemometrik analiz

ile birlikte kullanılan kızıl ötesi (IR) ve Raman gibi spektroskopik yöntemler, izin verilmeyen maddelerin kökeninin saptanmasına olanak sağlayan tekniklerdir (Rohman vd., 2016). Lubis ve ark. (2016), gıdalarda protein yapıların analizinde kullanılacak analitik teknikleri incelemişlerdir. İmmünolojik özelliklere dayanan spesifik analizler [ör. Enzim ilintili immün test (ELISA)], ısıya dayanıklı ve türe özgü protein yapılarını tespit etmek için geliştirilmiş ve incelenmiştir. Bu tür analizlerde, tespit için spesifik antikorlara ihtiyaç vardır. Alternatif olarak, mitokondriyal genler incelenmiş ve bunların gıda örneklerindeki türlerin ayırt edilmesinde daha avantajlı oldukları bildirilmiştir (He ve Yang, 2018).

2.1. Analitik Metotlar

Spektroskopi (NIR, FIR, FTIR ve Raman), moleküllerin kızılötesi bölgede elektromanyetik radyasyon ile etkileşmesi esasına dayanır (Rohman vd., 2016). Moleküler düzeydeki titreşimlere dayanarak analiz edilen moleküler özelliklerin, numunedeki kimyasal bağlara bağlı olarak, belirgin şekilde seçici olduğu bilinmektedir (Rohman vd., 2016). Spektroskopik teknikler etkin olmaları, gıda bileşenlerine ilişkin hızlı bilgi vermeleri, basit kullanımlı, tahribatsız, hassas ve noninvazif olmaları, toksik reaktif veya çözücü gerektirmemeleri gibi nedenler ile gıda analizlerinde yaygın kullanım alanı bulmakta, bu da bir numunedeki moleküler kompozisyon, yapı ve etkileşimler ile ilgili yararlı veriler sağlamalarına olanak tanımaktadır. Spektrumdaki tepe ve dip absorbansı, bazı fonksiyonel grupların varlığı hakkında bilgi verebilmektedir. Spektroskopik yöntemler kullanılarak elde edilen spektrumların, çok yönlü karşılaştırmaya olanak veren kemometri prosedürü ile birlikte yorumlanması

gerekir (Lubis vd., 2016; El-Gindy ve Hadad, 2012). FTIR spektroskopisi ve çok yönlü karşılaştırma, seçilen gıda örneklerinde domuz yağı varlığını saptamak için incelenmiş ve FTIR spektroskopisinin jelatin kaynaklarının sınıflandırılması için ideal bir teknik olduğu rapor edilmiştir (Rohman vd., 2016). Bu yöntemin başlıca dezavantajı, farklı kompozisyonlara sahip numunelerin analizi esnasında elde edilen domuz türevlerinin spektrumlarının değişkenliği nedeniyle, kalibrasyon modelinin yeniden geliştirilmesi gerekliliğidir.

Sıvı kromatografisi (LC) veya gaz kromatografisi (GC) de gıda ürünlerindeki proteinleri belirlemek için kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde moleküllerin fraksiyonlarına ayrılmaları, numunenin sıvı veya gaz mobil fazına ve kolondaki aktif bölgelere karşı olan moleküler afinitesinin bir sonucudur. Başarılı tür tanımlaması yapabilmek için, yayınlanan protein profillerinin karşılaştırılmasının yapılması gereklidir (Ballin vd., 2009). Kromatografi, proteinleri amino asit profilleri ve moleküler ağırlıklarına göre ayırabilen kütle spektrometrisi (MS) ile birleştirilebilmektedir. Kütle spektrometrisi sağlam ve güvenilir sonuçlar vermektedir, dolayısıyla peptitlerin birincil yapılarının zorlu koşullara karşı dirençli davranışı nedeniyle yüksek oranda işlenmiş et numunelerini analiz etmek için kullanılabilir (Lubis vd., 2016).

Et örneklerinde domuz eti varlığının tespiti için Nurjuliana ve arkadaşlarının (2011) yüzey akustik dalga sensörüne dayanan bir elektronik burun kullandıkları ve cihazın, numunede kullanılan bileşen türüne özgü bir kokunun kimyasal profilini analiz ettiği bildirilmiştir. Domuz eti aromasından sorumlu bileşenlerin tanımlanması için bir headspace analizörü ile birleştirilmiş GC-MS de kullanılmıştır (Lubis vd., 2016).

2.2. Omiks Yaklaşımı

Omiks analizlerinin, gıdalardaki hedef maddelerin tespiti ve tanımlanmasında büyük bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir (Ellis vd., 2016). Foodomiks, gıda bilimindeki sistem biyolojisi yaklaşımlarının çeşitli omiks araçları ile entegre bir şekilde kullanılması olarak tanımlanabilir. Omiks araçlar proteomiks, genomiks, metabolomiks, transkriptomiks, lipidomiks ve mikrobiomiks olarak bilinmektedir (Herrero vd., 2012; Ortea vd., 2016). Son zamanlarda, biyobelirteçleri saptamak, gıda matrisinin kompleks yapısını anlamak ve otantisite analizi gibi amaçlar doğrultusunda farklı foodomiks yöntemleri geliştirilmiştir (Alejandro, 2013).

Yüksek oranda işlenmiş gıdalarda et otantisitesini değerlendirmek amacıyla, yeni (novel) ısıya dayanıklı peptitlerin tanımlanması, yeni bir yaklaşım olarak karşımıza çıkmaktadır. Nanoflow sıvı kromatografisi kütle spektrometrisi (nLC-MS / MS), farklı hayvan türleri için bir belirteç veritabanı oluşturmak amacıyla kullanılmış ve gıda ürünlerinde % 0.5 (w/w) kadar düşük orandaki hilelerin veya istenmeyen türlerin tespit edilmesine olanak sağlamıştır (Claydon vd., 2015). Et ürünlerinin otantisitesinin belirlenebilmesi için peptidomikslerin kullanılması Montowska (2017) tarafından ayrıntılı olarak tartışılmıştır ve peptidomikslerin yüksek oranda işlenmiş gıda maddelerinde kullanılabileceği belirtilmiştir. Matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon kütle spektrometrisi (MALDI-MS) yöntemleri, hilelerin tespit edilmesi için, ham ve ısı işleme tabi tutulmuş gıda numunelerinin kombine proteomiks ve peptidomiks profillemelerinde büyük bir potansiyele sahiptir (Sassi vd., 2015). Et otantisitesini saptamak amacıyla çoklu reaksiyon izleme (MRM) ile yüksek performanslı sıvı

kromatografisi-kütle spektrometrisi (HPLC-MS) yöntemleri birlikte kullanılarak protein ekstraktlarının triptik sindirimleri analiz edilmiş ve sonucunda sığır eti içinde % 0.13 oranında domuz etinin saptanabildiği görülmüştür (von Bargen vd., 2013). Fourier dönüşümü kızılötesi (FT-IR) metabolomiks/lipitomiks parmak izi metodolojisi, lipidomiks ve metabolomiks yaklaşımlar kullanılarak gıda otantisitesini tanımlamak için başarıyla kullanılmıştır (Ellis vd., 2016). Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) bazlı multimarker profillemeye yönteminin, belirli metabolitleri belirteç olarak gün yüzüne çıkarması suretiyle otantisite tayininde kullanılmasının yanı sıra (Nina Naquiah vd., 2016), nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisinin de orijin tespiti için kullanılabilirdiği bildirilmiştir (Fadzillah vd., 2017). İki katmanlı LC – MS tabanlı metabolik profillemeye (Halket vd., 2005), LC-ESI-MS / MS (Picariello vd., 2018), MALDI – TOF MS (Schiller, 2007; Fuchs vd., 2010), GC-TOF-MS (Witjaksono vd., 2017) ve yüksek çözünürlüklü magic angle spinning nükleer manyetik rezonans (HR-MAS-NMR) spektroskopisi metabolik profili belirlemek için incelenen diğer yöntemlerdir (Corsaro vd., 2016). Otantisitenin değerlendirilmesi ve izin verilmeyen maddelerin tespit edilmesi amacıyla çalışılan yöntemlerden bazıları Çizelge 1'de sunulmaktadır. Farklı metabolomiks teknolojilerin karşılaştırması Wishart (2008) ve Cevallos-Cevallos ve ark. (2009) tarafından, foodomiks analizleri için yeni enstrümantal yöntemler Alejandro (2013) tarafından ayrıntılı olarak tartışılmıştır.

2.2.1. Protein ve DNA Bazlı Yöntemler

Protein bazlı ve DNA bazlı yöntemler gıda maddelerinde tür tespiti ve tanımlanması için yaygın olarak kullanılmaktadır (Lubis vd., 2016; Di Pinto vd., 2015). Antikorlar

ve aptamerler kullanılarak, spesifik protein fraksiyonlarını tanımak için enzim ilintili immünosorban deneyi (ELISA), protein fraksiyonlarını ayırmak için izoelektrik odaklama (IEF) kullanılmıştır. Ek olarak, proteinleri ayırmak ve tanımlamak için elektroforez ve kromatografi tekniklerinin de kullanıldığı belirtilmiştir. MS ve FTIR gibi diğer yöntemler, protein fraksiyonlarını DNA profillemeye veya parmak izi metodolojisi kullanarak analiz eden faydalı tekniklerdir. DNA barkodlama, yüksek oranda işlenmiş helal gıda ürünlerinin kimliğini doğrulamak için spesifik biyolojik örneklerin (örn. domuz DNA'sı) tanımlanmasında kullanışlı bir yöntemdir (El Sheikha vd., 2017). Et otantisitesi alanında, özellikle et numunelerindeki domuzun tespiti için protein veya DNA bazlı yöntemler önerilmiştir. Protein yapısının ısıyla ve pişirme işlemiyle denatüre olması sebebiyle, protein bazlı yöntemlerin pişmiş veya ısıl işlem görmüş gıda ürünlerinin analizinde bazı sınırlamaları bulunmaktadır (Lubis vd., 2016). DNA analizleri baz alınarak, türe özgü polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), gerçek zamanlı veya kantitatif PCR (qPCR) ve polimeraz zincir reaksiyonu restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) gibi farklı teknikler/deneyler geliştirilmiştir. Proteinlerin ısı, tuz ve basınç ile muamele edildiğinde denatürasyona uğraması nedeniyle, DNA bazlı yöntemlerin yüksek oranda işlenmiş gıdaların analizinde protein bazlı yaklaşımlara kıyasla daha etkili olduğu rapor edilmiştir (El Sheikha vd., 2017; Amaral vd., 2017). Protein ve DNA bazlı yöntemlerin yüksek başarı oranlarına rağmen, bu yöntemler karmaşık ve zaman alıcıdır. Ayrıca alanında teknik uzmanlara ve pahalı enstrümanlara ihtiyaç vardır. Bu yöntemlerin avantajları, dezavantajları ve farklı uygulama metotları daha önce ayrıntılı olarak tartışılmıştır (El Sheikha vd., 2017; Lubis vd., 2016;

Çizelge 1. Otantisitenin değerlendirilmesi ve izin verilmeyen maddelerin tespiti için kullanılan bazı yöntemler

Metot	Numune-analit	Saptama sınırı	Referans
Dielektrik sabiti ve dielektrik kayıp faktörü 0.5 ila 50 G Frekans aralığında, hızlı ve yerinde tespit yaklaşımı ölçülmüştür	Et otantisitesi	7.43 ve 31.19 GHz frekanslarında sadece çiğ ve sterilize domuz numuneleri için iki ayrı pik gözlenmiştir	(Abidin vd., 2016)
PCR	Et otantisitesi	Çiğ domuz eti >%0.1	(Abdullah vd., 2017; Nikzad vd., 2017; Song vd., 2017)
Gerçek zamanlı PCR analizleri	Et otantisitesi	% 0,01'den% 0,001'e (w/w) saptama sınırı	(Amaral vd., 2017; Demirhan vd., 2012)
Multipleks PCR, -RFLP; (mPCR-RFLP: reaction-restriction fragment polymorphism)	Et otantisitesi, jelatin	0.01–0.02 ng; >%0.1 tağşiş	(Erwanto vd., 2012; Ali vd., 2015; Sultana vd., 2018)
RAPD: Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA-PCR	Et otantisitesi	kabul/red	(Kumar ve Gurusubramanian, 2011)
Nested PCR	Et otantisitesi	kabul/red	(Unajak vd., 2011)
Tetrapleks PCR	Spesifik primerler kullanılarak protein tanımlanması	>0.01%	(Safdar vd., 2014)
Altın nanopartiküller kullanılarak DNA bazlı kolorimetrik yöntem	Et otantisitesi	0.25 - 1.16 mg/kg	(He ve Yang, 2018)
Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR)	Biyobelirteç tanımlanması	var/yok	(Witjaksono vd., 2017; Wielogorska vd., 2018)
Gaz kromatografisi kütle spektrometrisi-headspace (GCMS-HS) ile birleştirilmiş elektronik burun, PCA kullanımı	Et otantisitesi	Domuz eti lezzet profili analizi ile ayırt edilmiştir	(Nurjuliana vd., 2011)
Sandviç ELISA	İzin verilmeyen Plazma Transglutaminaz	var/yok	(Alina vd., 2012)
Enzim immünoanaliz (ELISA/immunosensor)	Et otantisitesi	20 dakika içinde domuz eti tağşişin % 0.01'i	(Mandli vd., 2018)
FTIR ve kemometrik analizler	Karminik asit (CA)	>10.0% CA herhangi bir örnek olmadan	(Ordoudi vd., 2017)
Tristimulus kolorimetrisi ve UV – Vis spektrometrisi türevi	Karminik asit (CA)	>2.0% (w/w).	(Ordoudi vd., 2017)
RP-HPLC-DAD	Karminik asit (CA)	>0.2%, (w/w)	(Ordoudi vd., 2017)
GC-MS	Alkol	0.25'den 1.16 mg/kg'a	(Park vd., 2016)
İmmüno şerit testi (altın nanopartiküller kullanılarak)	Et otantisitesi	0.1% (w/w)	(Kuswandi vd., 2017)
LC-MS	Et otantisitesi, SS jelatin tespiti	> 0.13%	(von Barga vd., 2013); Kleinnijenhuis vd., 2018)
Kemometri analizi ile Raman	L-Sistein	> 0.125% (w/w)	(Cebi vd., 2017)

PCR, SDS-PAGE, western blot, LC-ESI-MS/MS	Domuz Pankreatik α -amilaz	var/yok	(Picariello vd., 2018)
nanoLC-MS/MS	Süt ikame proteinleri	var/yok	(Gaspari vd., 2016)
DSC, GC, HPLC	Domuz yağı tespiti	var/yok	(Azir vd., 2017)
nano-LC-Q-TOF-MS/MS	Et kökenli olmayan proteinler	var/yok	(Montowska ve Fornal, 2018)

Abidin vd., 2016; Mandli vd., 2018).

2.2.2. Protein ve DNA Bazlı Yöntemler

Protein bazlı ve DNA bazlı yöntemler gıda maddelerinde tür tespiti ve tanımlanması için yaygın olarak kullanılmaktadır (Lubis vd., 2016; Di Pinto vd., 2015). Antikorlar ve aptamerler kullanılarak, spesifik protein fraksiyonlarını tanımak için enzim ilintili immünosorban deneyi (ELISA), protein fraksiyonlarını ayırmak için izoelektrik odaklama (IEF) kullanılmıştır. Ek olarak, proteinleri ayırmak ve tanımlamak için elektroforez ve kromatografi tekniklerinin de kullanıldığı belirtilmiştir. MS ve FTIR gibi diğer yöntemler, protein fraksiyonlarını DNA profillemeye veya parmak izi metodolojisi kullanarak analiz eden faydalı tekniklerdir. DNA barkodlama, yüksek oranda işlenmiş helal gıda ürünlerinin kimliğini doğrulamak için spesifik biyolojik örneklerin ( rn. domuz DNA'sı) tanımlanmasında kullanışlı bir yöntemdir (El Sheikha vd., 2017). Et otantisitesi alanında, özellikle et numunelerindeki domuzun tespiti için protein veya DNA bazlı yöntemler önerilmiştir. Protein yapısının ısıyla ve pişirme işlemiyle denatüre olması sebebiyle, protein bazlı yöntemlerin pişmiş veya ısıl işlem görmüş gıda ürünlerinin analizinde bazı sınırlamaları bulunmaktadır (Lubis vd., 2016). DNA analizleri baz alınarak, t re özgü polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), gerçek zamanlı veya kantitatif PCR (qPCR) ve polimeraz zincir reaksiyonu restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) gibi farklı teknikler/deneyler

geliştirilmiştir. Proteinlerin ısı, tuz ve basınç ile muamele edildiğinde denatürasyona uğraması nedeniyle, DNA bazlı yöntemlerin yüksek oranda işlenmiş gıdaların analizinde protein bazlı yaklaşımlara kıyasla daha etkili olduğu rapor edilmiştir (El Sheikha vd., 2017; Amaral vd., 2017). Protein ve DNA bazlı yöntemlerin yüksek başarı oranlarına rağmen, bu yöntemler karmaşık ve zaman alıcıdır. Ayrıca alanında teknik uzmanlara ve pahalı enstrümanlara ihtiyaç vardır. Bu yöntemlerin avantajları, dezavantajları ve farklı uygulama metotları daha önce ayrıntılı olarak tartışılmıştır (El Sheikha vd., 2017; Lubis vd., 2016; Abidin vd., 2016; Mandli vd., 2018).

2.3 Nanoteknoloji-nanobiyoteknoloji

Nanobiyoteknoloji, gıdalarda izin verilmeyen maddelerin tespitinde kullanılacak biyoanalitik test yöntemlerini oluşturmak amacıyla biyomoleküller arasındaki etkileşimleri incelemek için kullanılmıştır ( rn. gıda örneğindeki domuz veya alkol  tanımlamak için küçük biyosensör  ipleri). Bu nedenle nanoteknoloji, gıda matrisinde izin verilmeyen maddelerin hızlı tespiti açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Lubis vd., 2016). Yanal akış şeritleri, mikroakışkan analiz sistemi ve lab-on-a-chip sistemi, gıda örneklerini hızlı bir şekilde yerinde analiz etmek için uygun maliyetli ve portatif test cihazları olarak ortaya çıkmaktadır. Bu alandaki gelişmeler, helal analiz tekniklerinin erişilebilirliği ve pratikliğini bir adım daha ileri götürecektir (Lubis vd., 2016).

Bir organizmanın tüm genomunun (genom, transkriptom veya epigenom) sekanslanması spesifik türlerin tanımlanmasına izin verirken, öbür yandan analizlerin yüksek maliyetli olması, eğitilmiş personellere ve özel bir laboratuvar tesisine ihtiyaç duyulması gibi rutin helal analizi için ideal olmayan bazı koşullar ortaya çıkarır (Lubis vd., 2016).

3. Öneriler ve Değerlendirmeler

Mevcut helal test yöntemleri, ekipmanların maliyetinin yüksek olması, analizlerin uzun zaman alması ve eğitilmiş laboratuvar çalışanlarına ihtiyaç duyulması gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Gıda teknolojisi, gıda kimyası, biyokimya, analitik kimya, mikrobiyoloji, moleküler biyoloji, biyoinformatik ve klinik bilimlerde çalışan araştırmacılar, foodomiksin gelecekteki gelişimi için birlikte çalışmalıdır. Böylece daha az numune hazırlığıyla beraber ve yüksek verim alınabilmesinin yanında uygun maliyetli, güçlü, çok yönlü, kullanımı kolay ve hızlı helal test metodları geliştirilebilir. ELISA teknikleri, izin verilmeyen kaynaklardan gelen maddelerin taranmasına son derece hassas ve spesifik (örn. enzimler) olduklarından dolayı, hız ve güvenilirlik açısından güçlü adaylar olabilirler. Gıdalarda kayıt dışı enzimlerin varlığını analiz etmek için sağlam ve güvenilir bir analitik strateji geliştirilmesi gerekmektedir.

Proteomiks ve PCR yöntemlerinin tür otantisite analizleri için kullanılabilmesine rağmen, günümüzde işlenmiş gıdalarda belirli türlerin eser miktardaki kalıntılarını tespit etmek hala zorlu bir süreçtir. DNA barkodlama teknolojisi, helal hayvan ve et ürünlerini değerlendirmek için umut verici bir araç olabilir. Ancak bu yöntemlerin maliyet, zaman ve karmaşıklıklarından dolayı

rutin analizler için bazı dezavantajları vardır. Bu nedenle, kullanıcı dostu, sağlam ve kullanışlı, uygun maliyetli ve pratik bir test yöntemine ihtiyaç vardır. Özellikle, bu test yöntemlerinin çeşitli alanlarda (restoran, süpermarket, ev vs.) eğitilmiş tüketiciler tarafından bile uygulanabiliyor olması gereklidir.

Helal analizlerinde zaman kısıtlamalarının üstesinden gelmek ve analiz verimliliğini iyileştirmek için hızlı ve güvenilir yöntemler geliştirilmelidir. FTIR/Raman spektroskopisinin kemometri ile birlikte kullanılmasının (örn. temel bileşen analizi) dakikalar içinde sonuç verebilmektedir. Gıda matrislerinde izin verilmeyen maddelerin moleküler parmak izini tanımlamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Tüketicilerin kullanımı için, akıllı telefonu bir sensöre veya biyosensöre bağlayarak kullanılan taşınabilir algılama sistemleri gibi ürünler de geliştirilebilir.

4. Sonuç

Bu çalışmada, gıda örneklerinde izin verilmeyen maddelerin araştırılması için uygulanan farklı yöntem ve yaklaşımlar gözden geçirilmiştir. Mevcut helal analiz yöntemlerinde güvenilirlik, maliyet etkinliği, spesifiklik, hassasiyet ve analiz süresi gibi bazı özelliklerin iyileştirilmesine ihtiyaç vardır. Son teknolojik gelişmeler, araştırmacıların gıda ürünlerinde izin verilmeyen maddelerin tespiti için büyük potansiyele sahip birkaç yöntem geliştirmelerine olanak sağlamıştır. Buna rağmen, helal gerekliliklerine uygunluğu temin etmek amacıyla kullanılacak portatif, kullanımı kolay, düşük maliyetli ve güvenilir yöntemlere olan talep devam etmektedir.

Bu makalede tartışılan omiks yaklaşımlar ve potansiyel kullanımları, sağlam ve hızlı analiz yöntemleri geliştirmek için büyük

umut vaat etmektedir. Gelecekteki teknolojik ve hesaplamalı gelişmelerle birlikte entegre bir omiks yaklaşımının kullanılması, değerli uygulamalara ve anlayışlara zemin hazırlayacaktır.

Bilgi ve Teşekkür

Bu alışma 29 Kasım-2 Aralık 2018 tarihleri arasında dñzenlenmiř olan Dñnya Helal Zirvesi (WHS 2018) bilimsel konferansında sñzlñ olarak sunulmuş olup ayrıca konferans kitabında ingilizce olarak yayımlanmıştır. İngilizceden Tñrke'ye evirilmesinde katkılarından dolayı Kevser KANDEMİR'e teşekkür ederiz.

5. Kaynaklar

Ali, M. E., Ahamad, M. N. U., Hossain, M. M., & Sultana, S. (2018). Multiplex polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay discriminates of rabbit, rat and squirrel meat in frankfurter products. *Food Control*, 84, 148-158.

Ali, M. E., Razzak, M. A., Hamid, S. B. A., Rahman, M. M., Al Amin, M., & Rashid, N. R. A. (2015). Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic foods. *Food chemistry*, 177, 214-224.

Alina, A. R., Illiyin, M. N., Juriani, J., Salmah, Y., Mashitoh, A. S., & Imtinan, A. K. (2012). Detection of Non-Halal Plasma Transglutaminase in Selected Surimi-Based Products by using Sandwich ELISA Method. *World Applied Sciences Journal*, 17, 39-44.

Alkhalif M.I., Mirghani M.E.S., Nazrim Marikkar J.M., Hammed A.M. & Kabbashi N.A. (2017). J Food, Agric Environ.

Al-Mazeedi, H. M., Regenstien, J. M., & Riaz, M. N. (2013). The issue of undeclared ingredients in halal and kosher food production: A focus on processing aids. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(2), 228-233.

Amaral, J. S., Santos, G., Oliveira, M. B. P., & Mafra, I. (2017). Quantitative detection of pork meat by EvaGreen real-time PCR to assess the authenticity of processed meat products. *Food control*, 72, 53-61.

Amqizal, H. I. A., Al-Kahtani, H. A., Ismail, E. A., Hayat, K., & Jaswir, I. (2017). Identification and verification of porcine DNA in commercial gelatin and gelatin containing processed foods. *Food control*, 78, 297-303.

Azir, M., Abbasiliasi, S., Ibrahim, T., Azmi, T., Manaf, Y. N. A., Sazili, A. Q., & Mustafa, S. (2017). Detection of Lard in Cocoa Butter—Its Fatty Acid Composition, Triacylglycerol Profiles, and Thermal Characteristics. *Foods*, 6(11), 98.

Ballin, N. Z., Vogensen, F. K., & Karlsson, A. H. (2009). Species determination—Can we detect and quantify meat adulteration?. *Meat science*, 83(2), 165-174.

CAC (2016). http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/shp-roxy/en/?lnk=1&url=https%25253A%25252F%25252Fworks-pace.fao.org%25252Fsites%25252Fcodex%25252FMee-tings%25252FCX71443%25252FCRD%25252Ffl43_CRD14x.pdf (Erişim tarihi: 14.01. 2017).

Cebi, N., Dogan, C. E., Develioglu, A., Yayla, M. E. A., & Sagdic, O. (2017). De-

tection of l-cysteine in wheat flour by Raman microspectroscopy combined chemometrics of HCA and PCA. *Food chemistry*, 228, 116-124.

Cevallos-Cevallos, J. M., Reyes-De-Corcuera, J. I., Etxeberria, E., Danyluk, M. D., & Rodrick, G. E. (2009). Metabolomic analysis in food science: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20(11-12), 557-566.

Cifuentes, A. (2012). Food analysis: present, future, and foodomics. *ISRN Analytical Chemistry*, 801607.

Cifuentes, A. (Ed.). (2013). *Foodomics: Advanced mass spectrometry in modern food science and nutrition* (Vol. 52). John Wiley & Sons.

Claydon, A. J., Grundy, H. H., Charlton, A. J., & Romero, M. R. (2015). Identification of novel peptides for horse meat speciation in highly processed foodstuffs. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32(10), 1718-1729.

Corsaro, C., Cicero, N., Mallamace, D., Vasi, S., Naccari, C., Salvo, A., ... & Dugo, G. (2016). HR-MAS and NMR towards foodomics. *Food Research International*, 89, 1085-1094.

Demirhan, Y., Ulca, P., & Senyuva, H. Z. (2012). Detection of porcine DNA in gelatine and gelatine-containing processed food products—Halal/Kosher authentication. *Meat science*, 90(3), 686-689.

Di Pinto, A., Bottaro, M., Bonerba, E., Bozzo, G., Ceci, E., Marchetti, P., ... & Tantillo, G. (2015). Occurrence of mislabel-

ling in meat products using DNA-based assay. *Journal of food science and technology*, 52(4), 2479-2484.

El Sheikha, A. F., Mokhtar, N. F. K., Amie, C., Lamasudin, D. U., Isa, N. M., & Mustafa, S. (2017). Authentication technologies using DNA-based approaches for meats and halal meats determination. *Food Biotechnology*, 31(4), 281-315.

El-Gindy, A., & Hadad, G.M. (2012). Chemometric pharmaceutical analysis: An introduction, review, and future perspectives. *J. AOAC Int.*, 95, 609–623. doi:10.5740/jaoacint.SGE_El-Gindy

Ellis, D. I., Muhamadali, H., Allen, D. P., Elliott, C. T., & Goodacre, R. (2016). A flavour of omics approaches for the detection of food fraud. *Current Opinion in Food Science*, 10, 7-15.

Ermis, E. (2017). Halal status of enzymes used in food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 64, 69-73.

Erwanto, Y., Abidin, M. Z., & Rohman, A. (2012). Pig species identification in meatballs using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism for halal authentication. *Int. Food Res. Jour.*, 19(3):901-906.

Fadzillah, N. A., Rohman, A., Salleh, R. A., Amin, I., Shuhaimi, M., Farahwahida, M. Y., ... & Khatib, A. (2017). Authentication of butter from lard adulteration using high-resolution of nuclear magnetic resonance spectroscopy and high-performance liquid chromatography. *International Journal of Food Properties*, 20(9), 2147-2156.

- Fuchs, B., Süß, R., & Schiller, J. (2010). An update of MALDI-TOF mass spectrometry in lipid research. *Progress in lipid research*, 49(4), 450-475.
- García-Cañas, V., Simó, C., Herrero, M., Ibáñez, E., & Cifuentes, A. (2012). Present and future challenges in food analysis: foodomics, *Anal. Chem.* 84(23): 10150–10159.
- Gaspari, M., Chiesa, L., Nicastrì, A., Gabriele, C., Harper, V., Britti, D., ... & Procopio, A. (2016). Proteome speciation by mass spectrometry: characterization of composite protein mixtures in milk replacers. *Analytical chemistry*, 88(23), 11568-11574.
- Halket, J. M., Waterman, D., Przyborska, A. M., Patel, R. K., Fraser, P. D., & Bramley, P. M. (2005). Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolic profiling by GC/MS and LC/MS/MS. *Journal of experimental botany*, 56(410), 219-243.
- He, Z., & Yang, H. (2018). Colourimetric detection of swine-specific DNA for halal authentication using gold nanoparticles. *Food Control*, 88, 9-14.
- IMARC, (2019). Halal Food Market: Global Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2019-2024. <https://www.imarcgroup.com/halal-food-market>
- Kleinnijenhuis, A. J., Van Holthoon, F. L., & Herregods, G. (2018). Validation and theoretical justification of an LC-MS method for the animal species specific detection of gelatin. *Food chemistry*, 243, 461-467.
- Kumar, N. S., & Gurusubramanian, G. (2011). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Sci Vis*, 11(3), 116-124.
- Kuswandi, B., Gani, A. A., & Ahmad, M. (2017). Immuno strip test for detection of pork adulteration in cooked meatballs. *Food bioscience*, 19, 1-6.
- Lubis, H. N., Mohd-Naim, N. F., Alizul, N. N., & Ahmed, M. U. (2016). From market to food plate: Current trusted technology and innovations in halal food analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 55-68.
- Mandli, J., Fatimi, I. E., Seddaoui, N., & Amine, A. (2018). Enzyme immunoassay (ELISA/immunosensor) for a sensitive detection of pork adulteration in meat. *Food chemistry*, 255, 380-389.
- Montowska, M. (2017). Using peptidomics to determine the authenticity of processed meat. In *Proteomics in Food Science* (pp. 225-240). Academic Press.
- Montowska, M., & Fornal, E. (2018). Detection of peptide markers of soy, milk and egg white allergenic proteins in poultry products by LC-Q-TOF-MS/MS. *LWT*, 87, 310-317.
- Mursyidi, A. (2013). The role of analytical chemistry in Halal certification. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 1-4.
- Murugaiah, C., Noor, Z. M., Mastakim, M., Bilung, L. M., Selamat, J., & Radu, S. (2009). Meat species identification and Halal authentication analysis using mitochondrial DNA. *Meat science*, 83(1), 57-61.

Musa, M. S., Kuretake, T., Harada, Y., Hori, F., & Uno, S. (2014). Electrochemical Detection of Alcohol using Enzyme Sensor with Chromatography Paper and its Potential Application as halal Sensor, *TechConnect Briefs*, 262-265.

- Naquiah, A. N., Marikkar, J. M. N., & Shuhaimi, M. (2016). Differentiation of partial acylglycerols derived from different animal fats by EA-IRMS and GCMS techniques. *Grasas y Aceites*, 67(2), 136.

Nikzad, J., Shahhosseini, S., Tabar zad, M., Nafissi-Varcheh, N., & Torshabi, M. (2017). Simultaneous detection of bovine and porcine DNA in pharmaceutical gelatin capsules by duplex PCR assay for Halal authentication. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(1), 3.

Norrakiah, A. S., Azim, M. S., Sahilah, A. M., & Salam, B. A. (2015). Halal analysis of raw materials, ingredients and finished bakery products using PCR and gene chip southern-hybridization for detection of porcine DNA. *International Food Research Journal*, 22(5), 1883.

Nurjuliana, M., Man, Y. C., Hashim, D. M., & Mohamed, A. K. S. (2011). Rapid identification of pork for halal authentication using the electronic nose and gas chromatography mass spectrometer with headspace analyzer. *Meat Science*, 88(4), 638-644.

Nurrulhidayah, A. F., Arieff, S. R., Rohman, A., Amin, I., Shuhaimi, M., & Khatib, A. (2015). Detection of butter adulteration with lard using differential scanning calorimetry. *International Food Research Journal*, 22 (2): 832-839.

OIC/SMIIC (2011). General Guidelines on Halal Food (with the references of CODEX, ISO 22000, ISO 22005 + Islamic Fiqh Rules).

Ordoudi, S. A., Staikidou, C., Kyriakoudi, A., & Tsimidou, M. Z. (2018). A stepwise approach for the detection of carminic acid in saffron with regard to religious food certification. *Food chemistry*, 267, 410-419.

Ordoudi, S. A., Staikidou, C., Kyriakoudi, A., & Tsimidou, M. Z. (2018). A stepwise approach for the detection of carminic acid in saffron with regard to religious food certification. *Food chemistry*, 267, 410-419.

Ortea, I., O'Connor, G., & Maquet, A. (2016). Review on proteomics for food authentication. *Journal of proteomics*, 147, 212-225.

Park, S. W., Lee, S. J., Sim, Y. S., Choi, J. Y., Park, E. Y., & Noh, B. S. (2017). Analysis of ethanol in soy sauce using electronic nose for halal food certification. *Food science and biotechnology*, 26(2), 311-317.

Park, S., Kim, J. C., Lee, H. S., Jeong, S. W., & Shim, Y. S. (2016). Determination of five alcohol compounds in fermented Korean foods via simple liquid extraction with dimethyl-sulfoxide followed by gas chromatography-mass spectrometry for Halal food certification. *LWT*, 74, 563-570.

Park, S., Kim, J. C., Lee, H. S., Jeong, S. W., & Shim, Y. S. (2016). Determination of five alcohol compounds in fermented Korean foods via simple liquid extraction with dimethyl-sulfoxide followed by gas chromatography-mass spectrometry for Halal food certification. *LWT*, 74, 563-570.

Picariello, G., Di Stasio, L., Mamone, G., Iacomino, G., Venezia, A., Iannaccone, N., ... & Addeo, F. (2018). Identification of enzyme origin in dough improvers: DNA-based and proteomic approaches. *Food Research International*, 105, 52-58.

Rohman, A., Arsanti, L., Erwanto, Y., & Pranoto, Y. (2016). The use of vibrational spectroscopy and chemometrics in the analysis of pig derivatives for halal authentication. *International Food Research Journal*, 23(5) 1839-48.

Safdar, M., Junejo, Y., Arman, K., & Abasıyanık, M. F. (2014). A highly sensitive and specific tetraplex PCR assay for soybean, poultry, horse and pork species identification in sausages: Development and validation. *Meat science*, 98(2), 296-300.

Sassi, M., Arena, S., & Scaloni, A. (2015). MALDI-TOF-MS platform for integrated proteomic and peptidomic profiling of milk samples allows rapid detection of food adulterations. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(27), 6157-6171.

Schiller, J., Suss, R., Fuchs, B., Muller, M., Zschornig, O., & Arnold, K. (2007). MALDI-TOF MS in lipidomics. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 12, 2568-2579.

Slattery, W. J., & Sinclair, A. J. (1983). Differentiation of meat according to species by the electrophoretic separation of muscle lactate dehydrogenase and esterase isoenzymes and isoelectric focusing of soluble muscle proteins. *Australian veterinary journal*, 60(2), 47-51.

Song, K. Y., Hwang, H. J., & Kim, J. H. (2017). Ultra-fast DNA-based multiplex

convection PCR method for meat species identification with possible on-site applications. *Food chemistry*, 229, 341-346.

Sultana, S., Hossain, M. M., Zaidul, I. S. M., & Ali, M. E. (2018). Multiplex PCR to discriminate bovine, porcine, and fish DNA in gelatin and confectionery products. *LWT*, 92, 169-176.

Sultana, S., Hossain, M. M., Zaidul, I. S. M., & Ali, M. E. (2018). Multiplex PCR to discriminate bovine, porcine, and fish DNA in gelatin and confectionery products. *LWT*, 92, 169-176.

Swanson, M. C., Boiano, J. M., Galson, S. K., Grauvogel, L. W., & Reed, C. E. (1992). Immunochemical quantification and particle size distribution of airborne papain in a meat portioning facility. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 53(1), 1-5.

Thomson Reuters, (2015). The State of the Global Islamic Economy Report. Dubai Cap Islam Econ:1-287.

Unajak, S., Meesawat, P., Anyamanee-ratch, K., Anuwareepong, D., Srikulnath, K., & Choowongkomon, K. (2011). Full length research paper identification of species (meat and blood samples) using nested-PCR analysis of mitochondrial DNA. *African Journal of Biotechnology*, 10(29), 5670-5676.

von Barga, C., Dojahn, J., Waidelich, D., Humpf, H. U., & Brockmeyer, J. (2013). New sensitive high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the detection of horse and pork in halal beef. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(49), 11986-11994.

Wielogorska, E., Chevallier, O., Black, C., Galvin-King, P., Del tre, M., Kelleher, C. T., ... & Elliott, C. T. (2018). Development of a comprehensive analytical platform for the detection and quantitation of food fraud using a biomarker approach. The oregano adulteration case study. *Food chemistry*, 239, 32-39.

Wishart, D. S. (2008). Trends in Food Sci. Witjaksono, G., Saputra, I., Latief, M., Jaswir, I., Akmeliawati, R., & Rabih, A. A. S. (2017). Non-Halal biomarkers identification based on Fourier Transform Infrared

Spectroscopy (FTIR) and Gas Chromatography-Time of Flight Mass Spectroscopy (GC-TOF MS) techniques. In EPJ Web of Conferences (Vol. 162, p. 01007). EDP Sciences.

Zainal Abidin, Z., Omar, F. N., Biak, D. R. A., & Man, Y. C. (2016). Alternative for rapid detection and screening of pork, chicken, and beef using dielectric properties in the frequency of 0.5 to 50 GHz. *International journal of food properties*, 19(5), 1127-1138.