

## The role of biochemistry laboratory in halal food certification

### Helal gıda belgelendirmesinde biyokimya laboratuvarının rolü

Hasan Basri Savaş<sup>1\*</sup>, Tahir Çatalbaş<sup>2</sup>, Fatih Gültekin<sup>1</sup>

1.Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Alanya, Türkiye

2.Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

#### ABSTRACT

"Halal" word is defined as "not contrary to religious rules" in Turkish language. "Halal Food" concept is used to mean "Food which is allowed by Islamic rules". Halal food certificates; documents the product of an issuer certification at all production stages until it reaches the consumer halal produce comply with the rules. The world halal food market has quite a large economic volume. Trusted laboratory analyses are needed for international acceptance of the halal certification. In order to ensure this trust, the existence of specialized biochemistry laboratories in the area of halal food are very important.

Keywords: Halal Food, Biochemistry, Laboratory.

#### ÖZET

"Helal" sözcüğü Türk Dilinde: "Dini kurallara aykırı olmayan" olarak tanımlanır. "Helal Gıda" kavramı, "İslâmî kurallar doğrultusunda izin verilen gıda" anlamında kullanılmaktadır. Helal gıda sertifikaları; sertifika veren bir kuruluşun ürünün tüketiciye ulaşan kadar tüm üretim aşamalarında helal kurallarına uygun üretildiğini belgeler. Dünya genelinde helal gıda pazarı oldukça büyük bir ekonomik hacme sahiptir. Helal gıda sertifikalarının kabul görmesi için güvenilir laboratuvar ölçümlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun için de helal gıda alanında ihtisaslaşmış biyokimya laboratuvarlarının varlığı çok önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Helal Gıda, Biyokimya, Laboratuvar.

Geliş Tarihi: 29.11.2016/ Kabul Tarihi: 27.12.2016 / Yayınlanma Tarihi: 23.04.2017

\*Sorumlu yazar: Yrd. Doç. Dr. Hasan Basri Savas. Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Alanya, Antalya, Türkiye. Tel: 02425181144 Faks: 02425181199. E-mail: hasan.savas@alanya.edu.tr

**H**elal Gıdanın Tanımı: “Helal” sözcüğü Türk Dilinde: “Dini kurallara aykırı olmayan” olarak tanımlanır. “Helal Gıda” kavramı, “İslâmî kurallar doğ-rultusunda izin verilen gıda” anlamında kullanılmaktadır. Helal sertifikası ise üretilen bir ürünün, sertifika veren bir kuruluş tara-fından, ürünün İslami kurallara göre yasak olan herhangi bir unsur içermediğinin, bu unsurlardan arındırılmış yerlerde veya cihazlarda hazırlandığı, işlendiği, taşındığı ve depolandığının, bu durumların dışında üretilen herhangi bir gıda ile hazırlama, işleme, taşıma ve depolama aşamasında direkt temasta olmadığına belgelenmesidir [1].

Helal gıda sertifikalı ürünler ve global önemi: Helal gıda pazarı şu anda dünya gıda endüstrisi içinde % 16 civarında bir yer teşkil etmektedir ve yakın gelecekte bu oranın % 20 oranında olacağı ön görülmektedir [2]. Hasim’in yaptığı araştırmada Asya için helal gıdanın pazardaki etkisi % 63’e kadar yükselmektedir [3]. Günümüzde helal gıda pazarının mevcut büyüklüğü ve sürekli genişlemesi sebebiyle, sadece Müslümanlar değil, batı ülkeleri ve Müslüman olmayan sanayiciler de helal gıda üretimine yönelmişlerdir [4]. Helal gıda pazarındaki global hızlı gelişmelerin sonucu olarak, helal gıda sertifikaları bir ihtiyaç haline gelmiştir. Sertifikaların güvenilirliğini ve uluslararası kabulünü sağlamak için ise helal gıda sertifikaları için standardizasyon zorunlu olmuştur. Helal gıda belgelerinin güvenilirliği ve standartlarının oluşmasında biyokimya laboratuvarlarının sunacağı bilimsel veriler büyük önem arz etmektedir [5].

Helal Olmayan Kaynaklardan Elde Edilen Katkı Maddeleri: Sanayinin ve üretim teknolojilerinin gelişmesi ile birlikte helal gıda mevzuu oldukça karmaşık bir hal almıştır. Bir gıdanın helal olduğunu söyleyebilmek için tüm üretim sürecini ve içeriğini detaylı bilmek gerekmektedir. Örnek verecek olursak; gıdalarda katkı maddesi olarak yaygın kullanılan ve aşağıda tablo 1’de listelenen doğal kaynaklı maddelerin detayı incelendiğinde helal olmama ihtimalleri mevcuttur (Tablo 1).

Sorunlu Ürünlerin Laboratuvarda Tespiti: Gıda maddelerinin helallığı sorgulanırken laboratuvarda çeşitli analizlerle önemli bilimsel veriler elde edilerek hüküm için somut ve objektif kanıtlar sunulabilir. Bu bölümde sıklıkla karşımıza çıkan ve helal gıda açısından sorun oluşturabilen bazı maddelerin analizine dair bazı örnekler sunacağız: Ulusal ve uluslararası ticari önemi günden güne sürekli artan et ve et ürünlerinde, bu artışla paralel olarak, bazı belirsiz, farklı orijinlerden

gelen, daha ucuz et ürünleri ile yapılan hileler de gelişmektedir. Bununla birlikte tüketici sağlığı riske edilmekte, tüketicinin dini inançları hiçe sayılmakta ve ekonomik açıdan da önemli kayıplar olmaktadır. Üretim, gıda kompozisyonunda bazı kaçınılmaz etkiler oluşturabilir ve elde edilen işaretleyiciler, analitik metotlar ile belirlenebilir. Et ve et ürünlerinde kullanılan karışımdaki, hayvan etlerinin orijinlerini belirlemede histolojik, morfolojik, elektroforetik, immünolojik ve serolojik metotlar kullanılmakta, bunlar içerisinde de DNA bazlı metotlar, bütün türleri kapsayacak şekilde yapıyı muhafaza etmesi ve yüksek sıcaklıklardaki stabilitesinden dolayı son zamanlarda daha fazla kullanılmaktadır [6].

Gıda ürünlerinde domuz eti türevlerinin PCR yöntemi ile belirlenmesi: Domuz eti ve türevlerinin varlığı helal gıda sertifikası açısından tetkik edilmesi gereken önemli hususlardan biridir. Domuz eti ve türevlerinin varlığı biyokimya laboratuvarında PCR (polymerase chain reaction) yöntemi ile belirlenebilir; Che Man ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada, helal gıda sertifikası verilmesi amacıyla, sosis ve kılıfı ile bisküvi ve ekmekte domuz eti türevlerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Malezya Helal Gıda Enstitüsündeki ekibin yaptığı bu araştırmada, domuz mitokondriyal DNA’sına ait tanımlanmış 12S ribozomal RNA fragmentinin PCR ile çoğaltılıp gösterilmesi sonucunda domuz ürünü varlığının ispatlanması gaye edinilmiştir. Gen kalıntılarının gösterilerek domuz eti kalıntısı ispatlanması mevzusunda, ısı işlem sonrası yapılacak araştırmalarda, ısının gen yapısında bozulma oluşturması sebebiyle sonuçların güvenilirliği tartışmalı hale gelmektedir. Neticede incelenen ürün türleri içinde, et ürünleri kaplama kılıflarından elde edilen homojenatın PCR işlemi sonrası ticari kit kullanılarak yapılan bant görüntülenmesi sonucunda domuz türevlerinin varlığı gösterilmiştir. Böylelikle helal kriterlerine uygun olmadığı ispatlanmıştır [7]. Murugaiah ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir araştırma sonucunda PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) metodu ile mitokondriyal DNA kullanılarak et ürünleri içinde domuz eti varlığının gösterilebildiği ortaya konulmuştur [8].

Jelatin ve jelatin içeren işlenmiş gıdalarda domuz türevi varlığının real-time PCR metodu ile gösterilmesi: Kollojenden elde edilen bir protein olan jelatin, kıvam arttırıcı özelliğiyle gıda katkı maddesi olarak yaygın biçimde kullanılan ve hayvansal kaynaklı olan bir maddedir. Helal gıda sertifikası verilebilmesi için

Tablo 1: Hayvansal Kaynaklı Olabilen Katkı Maddeleri [15].

KATKI MADDESİ	NUMARASI	KATKI MADDESİ	NUMARASI
Ağaç reçinesinin gliserol esterleri	E445 ■	Lizozim	E1 105 ▲
Amonyum fosfatidler	E442 ■	Poligliserolpolisolinolat	E476 ■
Askorbil palmitat	E304(i) ■	Polioksietilen (40) stearat	E431 ■
Askorbilstearat	E304(ii) ■	Polioksietilensorbitanmonolaurat	E432 ■
Balmumu (beyaz ve sarı)	E901 ▲	Polioksietilensorbitanmonooleat	E433 ■
Beta-apo-8'-karotenik asitin etil esteri (C 30)	E160(f) ●	Polioksietilensorbitanmonopaknitat	E434 ■
Beta-apo-8'karotenil (C 30)	E160 (e) ●	Polioksietilensorbitanmonostearat	E435■
Beta-karoten	E1 60 (a) (i)●	Polioksietilensorbitantristearat	E436 ■
Diasetin	E1517 ■	Polisorbat 20	E432 ■
Dipotasyumguanilat	E628 ■	Polisorbat 40	E434 ■
Dipotasyuminosinat	E632 ■	Polisorbat 60	E435 ■
Disodyum 5'-ribonükleotidler	E635 ■	Polisorbat 65	E436 ■
Disodyumguanilat	E627 ■	Polisorbat 80	E433 ■
Disodyuminosinat	E631 ■	Sodyum stearyl-2-laktilat	E481 ■
Gliserildiasetat	E1517 ■	Sorbitanmonolaurat	E493 ■
Gliserilidistearat	E471 ■	Sorbitanmonooleat	E494 ■
Gliserilmonostearat	E471 ■	Sorbitanmonopaknitat	E495 ■
Gliseriltriasetat	E1518 ■	Sorbitanmonostearat	E491 ■
Gliserin	E422 ■	Sorbitantristearat	E492 ■
Gliserol	E422 ■	Stearil tartarat	E483 ■
Glisin ve sodyum tuzu	E640 ■	Sukrogliseridler	E474 ■
Guanilik asit	E626 ■	Şellak	E904 ▲
Inosinik asit	E630 ■	Triasetin	E1518 ■
Kalsiyum 5'-ribonükleotidler	E634 ■	Yağ asitleri	E570 ■
Kalsiyum guanilat	E629 ■	Yağ asitlerinin magnezyum tuzları	E470(b) ■
Kalsiyum inosinat	E633 ■	Yağ asitlerinin mono ve digliseridleri ile reaksiyona girmiş, ısı ile işleme okside edilmiş soya fasulyesi yağı	E479(b) ■
Kalsiyum stearyl-2-laktilat	E482 ■	Yağ asitlerinin mono ve digliseridlerinin asetik asit esterleri	E472(a) ■
Kantaksantin	E161(g) ●	Yağ asitlerinin mono ve digliseridlerinin laktik asit esterleri	E472(b) ■
Karminik asit	E120 A	Yağ asitlerinin mono ve digliseritlerinin karışık asetik ve tartarik asit esterleri	E472(f) ■
Karminler	E120 A	Yağ asitlerinin mono ve digliseritlerinin mono ve diasetil tartarik asit esterleri	E472(e) ■
İkarothenler	E1 60 (a) ●	Yağ asitlerinin mono ve digliseritlerinin tartarik asit esterleri	E472(d) ■
Koşineal	E1 20 ▲	Yağ asitlerinin poligliserol esterleri	E475 ■
L-Sistein	E920 ■	Yağ asitlerinin propan-1,2-diol esterleri	E477 ■
Laktitol	E966 ▲	Yağ asitlerinin sodyum, potasyum ve kalsiyum tuzları	E470(a) ■
Lesitinler	E322 ■	Yağ asitlerinin sukroz esterleri	E473 ■

**Açıklama:** Tablodaki işaretlerden; kare: Bitkisel veya sentetik olduğu belirtilmediği takdirde, hayvansal kaynaklı olma ihtimali olan katkı maddelerini; daire: Hayvansal kaynaklı olmamakla birlikte, ticari formlarının hayvansal yağ içinde sunulma ihtimali olan katkı maddelerini; üçgen: Domuz kaynaklı olmayan hayvansal ürünleri temsil etmektedir.

jelatinin hayvansal kaynağının tam olarak belirlenmesi gerekmektedir [9]. Demirhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, jelatinin kökeninde domuz türü

olup olmadığını araştırmaya dönük olarak, real-time PCR kullanılarak, ticari kitlerle jelatinden DNA izole edilmiştir. Bu çalışmada domuz spesifik primerler

kullanılarak, jelatindeki domuz türevi gösterilmek istenmiştir. Jelatin içerdiği bilinen çeşitli gıda maddeleri inceleme için seçilmiştir. Araştırma sonucunda, Almanya'dan ve Türkiye'den alınan çeşitli gıda maddesi örneklerinde domuz kökenli jelatin varlığı gösterilmiştir [10]. 2008 yılında yayınlanmış bir derleme makalede real-time PCR metodu ile domuz türevli madde varlığı tespit edilmiş 29 araştırmanın varlığı gösterilmiştir [11].

Başka bir çalışmada yoğurt, peynir ve dondurma gibi süt ürünlerine katılan jelatinin orijini belirlemek amacıyla yeni bir nanoUPLC-MSE tekniği geliştirilmiştir. Bu çalışmada, bu teknik iki aşamada uygulanmıştır: İlk aşamada, MS-örnek hazırlama aşamasından önce, bu ürünlerden jelatin ekstrakte edilmiştir. İkinci aşamada ise triptik jelatin peptidleri, ultra-performans sıvı kromatografisi ve elektro-sprey-iyonizasyon-kudrupol uçuş zamanı kütle spektroskopisi (nanoUPLCESI-q-TOF-MSE) tekniği kullanılarak tanımlanmış ve analiz edilmiştir. Bu tekniğin getirdiği yenilik, bağımsız bir veri toplama modunda çalışabilmesi ve değişimli bir düşük ve yüksek çarpışma enerjisinin, prekürsör ve ürüne ait iyon bilgisinin elde edilmesinde uygulanabilmesidir. Bu teknik ile peptidlerin kütleleri, güvenilir ve hassas bir seviyede belirlenebilmekte ve böylece jelatin peptidlerinin identifikasyonu yapılabilmektedir. Domuz ve sığira spesifik olan marker peptidleri kullanılarak söz konusu süt ürünlerine katılan jelatinin orijini, başarılı bir şekilde belirlenebilmiştir [12].

Et ürünleri içindeki yağdadomuz kökenini belirlemede daha hızlı bir metot olarak; Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy: Malezya ve Endonezya'dan, Rohman ve arkadaşlarının birlikte yaptığı çalışmada, farklı et türlerini bir arada içeren et ürünlerinde domuz eti varlığını tespit amacıyla Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy metodunun kullanılabilirliği araştırılmıştır. Et ürünlerinden yağ elde edilmiş ve bu yağların kökeni FTIR metodu ile araştırılmıştır. Cihazın kalibrasyonu değişik oranlarda domuz kökenli yağ içeren standartlar ile yapılmıştır. Cihaz numune üzerinde birçok tarama yaptıktan sonra elde ettiği absorbans değerlerini daha önce oluşturulmuş veri bankası ile karşılaştırmaktadır. Yapılan araştırmanın sonucunda Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy metodunun domuz kökenli yağı tespit etmekte kullanılacağı, prediktif değerinin kabul edilebilir olduğu gösterilmiştir [13].

Gıda maddeleri içindeki alkol varlığının tespiti: Alkolsüz içecekler, Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği'ne göre 3,0 g/L'nin altında etanol içeren içecekler olarak belirtilmektedir. Alkan ve arkadaşlarının araştırmasında tartışma konusu olan "Alkolsüz içeceklerde alkol var mı?" sorusunun cevabı aranmıştır. Bu amaçla Türk Standartları Enstitüsü'nün Meyve ve Sebze Ürünleri – Etanol Muhtevası Tayininin Titrimetrik Yöntemi – TSE 1594 kullanıldı. Yapılan çalışmada kullanılan yöntem içeceklerdeki etanol miktarının kimyasal olarak tayini için Clevenger düzeneği ile etanolün damıtılmasını takiben sülfürik asitli ortamda, potasyum dikromat ile yükseltgenme ve artan dikromatın demir(II)-1,10-fenantrolin indikatörü yanında amonyum demir (II) sülfat ile titrasyonuna dayanmaktadır. Numune seçiminde alkolsüz içecek olarak tanımlanan tanınmış değişik markaların çeşitli %100 meyve suları ve meyve nektarları, gazozları, kolaları, meyveli sodaları, portakallı gazozları ve süt ürünleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmada elde edilen bulgular kolalarda en çok binde 0,14, portakallı gazozlarda binde 0,53, meyveli sodalarda binde 0,88, enerji içeceklerinde binde 0,47, meyve sularında binde 1,46 ve süt ürünlerinde binde 0,25 oranında etanol bulunduğunu göstermektedir. Bu değerler Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği'ne göre bulunabilecek maksimum miktar olan 3,0 g/L'nin çok altındadır [14].

**Sonuç:** Sonuç olarak helal gıda sertifikalarının verilmesi ve standardizasyon sağlanması için biyokimya laboratuvarına önemli görevler düşmektedir. Biyokimya laboratuvarlarındaki güncel araştırmalara baktığımızda helal gıda alanında araştırmaların yapıldığını görebilmekteyiz. Helal gıda sertifikasyonu bir ihtisas alanı olduğundan bu alanda uzmanlaşmış laboratuvarların ve enstitülerin kurulması standardizasyon için oldukça önemli bilimsel bir destek sağlamış olacaktır.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

**Finansman:** Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

**Not:** Bu çalışma daha önce 'The Role of Biochemistry Laboratory in Halal Food Certification' başlığı ile '3rd International Halal and Healthy Food Congress. October 30-31, 2015. İstanbul' uluslararası kongresinde, poster olarak sunulmuştur.

**KAYNAKLAR**

1. Gültekin F. Fark Etmeden Yediklerimiz Gıda Katkı Maddeleri. 1. Baskı, İstanbul, Türkiye, Server, 2014; 125-9.
2. The-Economist. Cut-throat competition: feeding Europe's Muslims is a growing business. The Economist. (17/09/2009).
3. Hashim DD. The quest for a global halal standard. Paper presented at the Meat Industry Association of New Zealand annual conference, 19-20 September 2010, Christ church.
4. WHF. Halal market potential e a regional focus. Paper presented at the World halal forum, 17-18 November 2009, The Hague, the Netherlands.
5. van der Spiegel M, van der Fels-Klerx HJ, Sterrenburg P, van Ruth SM, Scholtens-Tomal. M.J., KokE.J. Halal assurance in food supply chains: Verification of halal certificates using audit sand laboratory analysis. Trends in Food Science&Technology 2012;27:109-119.
6. Kozan Hİ, Sarıçoban C, Gökmen S, Yetim H. Et ve Et Ürünlerinin Orjinlerini Belirlemede Kullanılan Bazı Enstrümental Metodlar. In: 2. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, Konya, Türkiye, 2013; 612.
7. Che Man YB, Aida AA, Raha AR, Son R. Identification of pork derivatives in food products by species-specific polymerase chain reaction (PCR) for halal verification. Food Control 2007;18:885-889.
8. Murugaiah C, Noor ZM, Mastakim M, Bilung LM, Selamat J, Radu S. Meat species identification and Halal authentication analysis using mitochondrial DNA. Meat Science 2009;83:57-61.
9. Boran G, & Regenstein J.M. Chapter 5. Fish gelatin. Advances in Food and Nutrition Research, 2010;60:119-143.
10. Demirhan Y, Ulca P, Senyuva HZ. Detection of porcine DNA in gelatine and gelatine-containing processed food products—Halal/Kosher authentication. Meat Science 2012;90: 686-689.
11. Mafra I, Ferreira I.M.PL.V.O, & Oliveira M.B.P.P. Food authentication by PCR-based methods. European Food Research and Technology, 2008; 227:649-665.
12. Yılmaz MT, Kesmen Z, Baykal B, Sağdıç O, Kulen O, Kaçar Ö, Yetim H, Baykal AT. Gıda Ürünlerine Katılan Sığır ve Domuz Jelatinlerinin Orjinlerinin Yeni Bir Metod ile Belirlenmesi. In: 2. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, Konya, Türkiye, 2013; 622.
13. Rohman A, Sismindari, Erwanto Y, Che Man YB. Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. Meat Science 2011;88:91-95.
14. Alkan S, Burnaz NA, Karaçelik AA, Doğan H, Arslan D, Küçük M. Türkiye'de Marketlerde Satılan Alkolsüz İçeceklerdeki Etanol Seviyeleri. In: 2. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, Konya, Türkiye, 2013; 668-669.
15. Gültekin F. Bir Bakışta Gıda Katkı Maddeleri. 1. Baskı, İstanbul, Türkiye, Server, 2014; 60-62.

**How to cite this article/Bu makaleye atf için:**

Savaş HB, Çatalbaş T, Gültekin F. [The role of biochemistry laboratory in halal food certification.] Turkish. Acta Med. Alanya 2017;1(1): 28-32.