

ISITILMIŞ, PİŞİRİLMİŞ AT VE SIĞIR ETİNDEN SERUM HAZIRLANMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMA :

Güner ASUTAY (*)

Yıldız AYAZ (**)

GİRİŞ :

Veteriner Gıda-Kontrol hizmetleri içerisinde tüketicinin sağlığına zarar verilmesinin önlenmesi yanısıra, maddi ve manevi yönden aldatılmasının önlenmesi"- de girmektedir. Bu hizmetlerin yerine getirilmesinde, Gıda Maddelerinde karşılaşılan taklit ve tağşişlerin saptanması önemli rol oynamaktadır. Konunun öneminden hareketle Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde bu araştırmaya başlanmıştır.

Et ürünlerinde, yanıltıcı ve yetersiz deklarasyon yapılmak suretiyle bir üründe bulunmaması gereken et nev'ilerinin veya diğer hayvani unsurların katılması yüzyılımızın başından itibaren karşılaşılan bir sorundur. Taklit ve tağşişleri ortaya koyma amacına yönelik birçok araştırma yapılagelmiştir. ALTUĞ (2) Adana ve çevresinde 102 adet sucuk üzerinde yaptığı araştırmada, at eti tesbit edemediğini bildirmektedir. DEMİRER (6) Koyun ve Keçi etlerinin presipitasyon metodu ile ayırt edilmesi adlı araştırmasında flokulasyon metoduyla, spesifik presipitan serumların kullanılması ile dahi bu iki nev'i antijenin ayırd edilemediğini, ancak saturasyon suretiyle elde edilen Spesifik presipitan serumlarla iki nev'i antijenin ayırd edilebileceğini, 64-66°C kadar ısıtılmış et, 71-72°C ısıtılmış kan serumlarının aynı metotla ayırd edilebileceğini bildirmişti.

ASUTAY : (1) Presipitan serumlar üzerine yaptığı çalışmada DEMİRER'in vardığı sonuçlara varmıştır.

(*) Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enst. Gıda Bakteriyoloji Şefi.

(**) Uzman Vet. Hek.

Yurt dışında özellikle Federal Almanya'da 1. Dünya savaşından sonra et ürünlerine at etinin katılması büyük sorun yaratmıştır. Daha sonraları kasaplık olmayan diğer cins hayvan etlerinin kasaplık hayvan etleri ve et ürünlerine katılmasıyla sorun daha önemli boyutlara ulaşmıştır. 1957'li yıllarda ithal edilen bol miktardaki balina eti, sığır eti darboğazını aşmada ve fiyatların yükselmesinin önlenmesinde büyük ölçüde etkili olmuştur. Aynı durum 1960 yıllarında kanguru eti ithal ile yaşanmıştır. Bu tür etlerin, et ürünlerinde kullanılması ihijyenik ve insan sağlığı yönünden bir sakınca yaratmasa dahi yeterli deklarasyonun yapılmaması Gıda mevzuatına göre taklit veya taşıyıcı sayılmaktadır. Bu tür hilelerin ortaya çıkarılması ısı işlemi görmemiş et ve et ürünlerinde klasik yöntemlerle ortaya konabilmekte fakat ısı işlemi gördükten sonra yapılan hileler gizli kalmaktadır.

SCHMİDT : (19) Pişirilmiş etin identifiye edilemeyeceğini ortaya koymuştur. 70°C ısıtılmış serum enjekte ederek elde ettiği presipitan serum aynı derecede ısıtılmış et maserasyonu ile çok zayıf, 100°C ısıtılmış et usaresiyle hiçbir reaksiyon vermemiştir. Çalışmasının devamında antijenleri alkali ile çözündürme yoluna gitmiş, çok az NaOH miktarlarının proteinleri kısa sürede reaksiyon vermez bir duruma getirdiğini gözlemiştir.

BRUNS VIDAL : LEVY, (11) Tifüs bakterileri ve kolera vibrioları kültürlerinden elde edilen, mikroorganizmasız süzüntülerin bağışıklık verme yeteneği olduğunu ortaya koymuşlardır. **KRAUS (10)** 1897'de Kolera, tifüs, veba buyyon kültürlerinin mikroorganizmasız süzüntülerinin muayenesi sonucu bunlara immun serum ilave etmek suretiyle çözeltilerin oluştuğunu ortaya koymuştur. Bu şekiide antikor-antijen arasında mikroorganizma bulunmayan sıvılarda da bir reaksiyon oluşturulabilmesi ortaya konmuş oluyordu. **WİLADİMİROFF (21)** bu spesifik reaksiyonu diagnos amacıyla kullanılmıştır. Ruam dignosunu gerçekleştirmiştir. Kan proteinlerinin bu tür reaksiyon vermesi bir rastlantı sonucu ortaya çıkmıştır. **TSHİSTOVİTCH (22)** 1899'da yılan balığı sorununun tavşan eritrositlerinin etkisiyle hemoliz etme niteliklerinin ortadan kaldırıldığını saptamıştır. Bu araştırmacı tavşan, köpek, keçi ve güvercin, yılan balığı serumu ile immunize olduğunu ortaya koymuş ve ilgili hayvanların kanında antitoksin oluştuğunu görmüştür. Bu antitoksinler, yılanbalığı serumunun hemoliz niteliklerine karşı bir etki yaptığı saptanmıştır. **BOCDEST (4)** yaptığı çalışmalarda **TSHİSTOVİTCH**'in çalışmalarını pekiştirmiştir. Bu konuda daha

ileri araştırmalar yaparak inek sütünü tavşana enjekte etmek suretiyle presipitin oluşmasını sağlamış ve bu presipitin inek sütüyle çöktürdüğüne görmüştür. Böylece ilk kez toksin etkisi olmayan maddelerin parenteral yolla verilmek suretiyle antikor oluşturabileceği ortaya konmuştur.

GRAHAM - SMİTH (9) 74°C de 3 dk. ısıtmakla kan serumunun reaksiyon yeteneğinin ortadan kalktığını söylemiştir. GRAHAM'a göre kimyasal maddeler de biyolojik reaksiyonu yanıtıcı - engelleyici etkiler yaratırlar. Isı ile denatüre olmuş proteinlerin saptamasında, yapısını değiştirecek kadar ısı etkisinde kalan proteinler serolojik reaksiyon yeteneklerini kaybetmektedirler. Bu konuda Literatürlerde verilen bilgiler çok değişik olup, üzerinde anlaşmaya varılmış sınır yoktur.

LÖFFLER'E (12) göre 150°C'de 30 dk. ısıtılan kan henüz presipitin oluşturma yeteneğini korumaktadır. GRAHAM SMİTH ise 3 dk. 60°C'de ısıtılan bir protein reaksiyon yeteneğini kaybetmektedir demiştir. Isı ile Proteinlerdeki denatürasyon sonucu proteinlerdeki değişim bugünkü bilgilerimizle tam olarak açıklanamamaktadır.

TABLO : 1
100 °C hazırlanan antijen (At ve Siğir eti)

Tavşan Adedi	Enjection Miktarı	Enjection Yolu	Enjection Adedi
1. grup 4	2 şer ml	İV	9 Kez
2. grup 4	3 er ml	İV	9 Kez
3. grup 4	4 er ml	İV	9 Kez
4. grup 4	5 er ml	İV	9 Kez

TABLO : 2
70 °C'de hazırlanan (At ve Siğir antiijeni)

Tavşan Adedi	Enjection Miktarı	Enjection Yolu	Enjection Adedi
1. grup 4	2 ml	İV	9 Kez
2. grup 4	3 ml	İV	9 Kez
3. grup 4	4 ml	İV	9 Kez
4. grup 4	5 ml	İV	9 Kez

MATERYAL ve METOD

MATERYAL : Deneme hayvanı olarak 0.5 1.5 yaş arasında, 3-3.5 Kg. ağırlığında erkek tavşanlar kullanıldı. Presipitan serum eldesi için siğir ve at eti, kullanıldı.

METOD : Sinell metodu kullanıldı.

1 — Presipitan serum hazırlanarak hayvan türüne ait Kuşbaşı haline getirilmiş yağsız et parçaları balonda serum fizyolojik içerisinde buzdolabında 24 saat bekletildi.

2 — Sulu kısım dökülerek 1-2 defa daha serum fizyolojikle yıkandı.

3 — Aynı et parçaları bu kez 1/10 oranında serum fizyolojik içine konarak 48 saat buzdolabında bekletildi, sonra pamuktan süzüldü.

4 — Elde edilen süzüntüye eşit hacimde distile su ve süzüntü hacminin 1/10 oranında doymuş NaCL çözeltisi ilave edildi.

5 — 100°C presipitin elde etme için süzüntü 100 'C'de 30 dk. 70°C de presipitin elde etmek için süzüntü 70 'C'de 30 dk. ısıtıldı. Süzüntüde bir çökelti elde edinceye kadar asetik asit glasial ilave edilerek Filtre kağıdından süzüldü.

6 — Filtre kağıdında kalan çökelti mercimek büyüklüğünde granül yapılabilecek kıvama gelinceye kadar kurutuldu ve granüller yapıldı.

7 — Granüller kullanılacağı zamana kadar toluol içinde muhafaza edilir.

Presipitan serum eldesi için bu granüler tolulolden alınarak, porselen bir havana alındı., cam bagetle ezildi. Serum fizyolojik 1/10 oranında homojen görünüşte bir süspansiyon haline getirildi. Süspansiyon kendi haline bırakılarak çökertildi. Üstteki sıvı bulanık bir görünümündedir. Bu sıvı antijen olarak kullanıldı. At ve Siğir Presipiten serumu eldesi için, at ve siğir etinden ayrı ayrı 100°C ve 70°C'de hazırlanan bu antijen tablo 1 de görüldüğü şekilde tavşanlara enjekte edildi. Bu denemeler 70°C ve 100°C ısıtılan etler için ve her 4'lü grup tavşan için 3 kez tekrarlandı. Bu uygulamaların hiç birinden olumlu sonuç alınmadı.

Hazırlanan antijen 1/10 oranında steril distile su ile bir süspan-siyon yapıp üstteki sıvı enjeksiyonundan bu şekilde bir sonuç alınamayınca, tüm süspan-siyonun enjeksiyonuna karar verildi. Fakat enjeksiyonlarda başarılı olamadık.

BULGULAR :

At ve siğir etinden 70°C'de ve 100°C'de hazırlanan presipitin süspan-siyonundan 4 tavşanlık 5 grup tavşana 2,3,4,5 ml kulak verasından 2 gün arayla 9 kez enjekte edildi. Enjeksiyonların bitiminden 5 gün sonra tavşanların kanı alındı, Serumları ayrılarak önce natif at ve siğir kan serumlarıyla, ardından 70°C'de 100°C'de ısıtılmış etlerin maserasyon sıvılarıyla ayrı ayrı denendi. Bu kan serumları gerek natif siğir ve at kan serumlarıyla gerekse ısıtılmış et maserasyon sıvılarıyla bir reaksiyon vermedi.

SİNELL siğir ve balina eti ile ilgili çalışmalarında, siğir etinin değişik derecelerde ısıtılması sonucunda elde edilen presipitan serumlarından ancak 70°C spesifik olmayan hafif bir reaksiyon görmüş daha yüksek derecelerde ısıtılmış balina etinden elde ettiği presipitinlerle yaptığı çalışmalarda da sonuç reaksiyonlar spesifik ve net değildir.

Ancak Rosenberg 100°C'de ısı işlemi görmüş etlerde presipitasyon oluşturduğunu bildirmektedir. Ancak presipitasyon reaksiyonu 30 dk. daha uzun bir zamanı gerektirmiştir. Biz bu çalışmamızda istediğimiz sonuca varamadık. Konuya çözüm getirebilmek için daha geniş araştırmacı grubu ile daha elverişli koşullar altında çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir.

TARTIŞMA

ısı işlemi görmemiş et ve ürünleriyle ilgili tez, araştırma ve rutin muayene düzeyinde yapılan çalışmalar bulunmakla beraber, ısı işlemi görmüş veya pişirilmiş et ve et ürünleriyle ilgili bu konuda yapılan yerli araştırmaya rastlanamamıştır.

Bunâ karşın yabancı literatürlerde 70°C, 90°C, 100°C, 150°C, 110°C, 115°C, 120°C'lerde ısı işlemi görmüş materyalle yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Bu araştırmalarda ısı ile denatüre olmuş kas proteinlerinde spesifik antikor etkenlerin olduğu, bunlarla ısı işlemi görmemiş

materyallerde olduğu gibi immunizasyon çalışmaları yapılabileceği ortaya konmuştur.

Bu çalışmalarda kas proteinlerinin pişirilmek veya otoklavlamak suretiyle koagüle oldukları fakat hala serolojik aktif maddeleri yönünden belli konsantrasyonlara kadar zenginleştirilebileceği ve bunun belirli hale getirilmesi için spesifik invitro reaksiyon gerektirdiğini ortaya koymuşlardır. SİNELL'in çalışma sonuçlarına göre 120°C'ye kadar ısı işlemi görmüş et ve et mamullerinde biyolojik olarak protein identifikasyonun mümkün olabileceği bildirilmektedir. Fakat ısı işlemi görmüş materyalle sonuç alabilmek için protein identifikasyonunda kullanılacak presipitan serumlarının da et ve et ürününün görüldüğü düzeyde ısı işlemine tabi tutulmuş materyalle elde edilmesi gerekmektedir. Isı işlemi görmemiş materyalle elde edilen presipitan serumlar ısı işlemi görmüş materyalle müsbet sonuç vermemektedir.

Isı ile koagüle olan kaslar normal ekstraksiyon metotlarıyla presipitasyon yeteneğine sahip protein çözeltileri eldesine uygun olmaktadır. özellikle hiç et usuresi kalmamış bir durum söz konusu olduğunda bu reaksiyonlar olumsuz kalmaktadır. Ancak özel homojenizasyon, liyofilizasyon işlemleriyle materyalin çözünürlüğü artırılabilir. Buna ilaveten N/100 Normal NaOH solüsyonunun ilavesi çözünürlük yeteneğini artırıyorsa da SCHMİDT NaOH ilavesiyle de olumlu sonuç alamamıştır.

Tüm enjektionlar her grup tavşan için 3 kez tekrarlandı.

Tablo 2 : 70°C'de hazırlanan (At ve Sığır antijeni)

Tüm enjeksiyonlar her grup tavşan için 3 kez tekrarlandı. Enjeksiyonlar 2 gün arayla yapıldı.

100°C'de ısıtılmış sığır etinden hazırlanan antijen 1. grup (4) tavşana 2 ml 2. grup tavşana 3 ml, 3. grup tavşana 4 ml, 4. grup tavşana 5 ml miktarında kulak venasından 2 gün arayla aynı miktarlarda verilerek enjeksiyon sayısı 9'a tamamlandı. Aynı plan 70°C ısıtılmış sığır etinde, 100°C ve 70°C ısıtılmış at etinden elde edilen antijene uygulandı.

ÖZET

Piştirilmiş et ve et mamullerinde et nev'illerinin serolojik olarak teşhisi amacıyla yürütölen bu araştırmada SİNELL'in metodu kullandığı denemeler tekrarlandığı halde olumlu bir sonuç alınmadı.

SUMMARY

We have repeated sinnel's technigue fer the serediagnosis of ceoked meats and their products, but we weren't able te take any positif resut in the examnination.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada bize yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Ahmet YURT-YERİ'ne teşekkür ederiz.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — ASUTAY GÜNER : 1972 : Presipitan serumların elde edilmesi üzerine serolojik araştırmalar, Etlik Veteriner Bakteriyoloji Enstitüsü Dergisi, (80-85).
- 2 — ALTUĞ ÖZER : Adana Piyasasında satılan sucukların Kimyasal Bileşimlerinin tesbiti ve tek tırnaklı hayvan eti yönünden kontrolü Etlik Veteriner Bakteriyoloji Enstitüsü, (415-10).
- 3 — ASTBURY, W.T., 1933 Funda mestales of fibre structure, Oxford.
- 4 — BORDET: J., 1999 Agglutinaion e iisstolution des glebules reuges par le serum Ann Inst. Pasteur Paris 13, 273.
- 5 — COREY, R. B, and J. Dono hue, 1950 : I nteratomic distances and bond angles in the polypeptide chain if proteins. J. Amer. Chem. Soc 72, 2899.
- 6 — DEMİRER, M, A. 1964 : Koyun ve keçi etlerinin presipirasyon metodu ile ayırt edilmesi üzerinde araştırmalar, Ankara Üni. Vet. Fak. Besin Kontrolu ve hijyen kürsüsü, Ankara Üni. Vet. Fak. Yayınları No. 152.
- 7 — TERREİ. C., 1901İ : Sulla diagnosi specifica del Sangue col Metodo biologico in medicina legale Ball Accad Med Genovar 16, Nr 7, Zit n. Uhlenhutlu. Weidanz.

- 8 — FISH, 1900 : Studies on lactoserum and other cellsera Courier Med, Zit n. Uhlenhuthu Weidanz.
- 9 — GRAHAM-SMITH : G, S, 1903 : The Biological or presipitin test blood, considered Mainly from its medicolegal aspect J. Hyg. 3, 354.
- 10 — KRAUS, R. 1897 : Über spezifische Reaktionen in keimfreien Filtrates aus cholera, Typhus. und pestboyillon-culturen, erzeugt durch homologes serum, Wien Klin. Wschr. 18, 736.
- 11 — LEVY, E. JUND H. BRUNS, 1897 : Beitrage zur lehre der Agglutinetion. Berliner Klin. Wschr. 34. 491.
- 12 — LOEFFLER - C., 1904 : Über ein neues Verfahren zur Gewinnung von Antikör pern Ot. Met Wschr. 30, 1913.
- 13 — MANTEUFEL, P., 1926 : Über die eigen schraften von prazipi tierenden Erweiss-Antiserum, das durch immuni ierug mit kochkloa gulierteum antijen gewonen ist. Arb. Recihsgesd Amp 57. 41.
- 14 — MORGENROTH, J., 1903 : Über die Bindung tlamolytischer Ambozeptoren. Munchene schr. 50, 61.
- 15 — BEORMEYE, F., UND E, P, RICH, 1903 : Über Stanzen auf die Bildung ven immunprazipitinen Wien Uin Wschr. 24, 660.
- 16 — PAULING, L., R. B. COREY AND H, R, BRONSON, 1951 : Proc. Nat Acad. Sci. Us 37, 205, Zit n. Stauff.
- 17 — PERUTZ, M. F. 1951 : New X-ray evidence on the configuration of polypepti de chains Nature (London) 167, 1053.
- 18 — SANGER, C and it Tuppy, 1951 : The Amino acid sequence in the phenylalanyl chain of insulin. Biochem J. 49, 463, 481.
- 19 — SCHMIDT, H. 1955 : Fortschritte den Serologie.
- 20 — UHLENHU T.H. P, 1900 : Neuer Beitrag um spezifischen Nachweiss auf biologischem Wege Dt. Med. Wschr 26. 734.
- 21 — WLADIMIROFF. (1898 u. 1980) : Über Abglutination bakterier freier Filtrate von Rotzkultur. St. Petersb Med Wschr., zit n. Uhlerhuth U. Weidan 2.
- 22 — TCHISTOVITCH, T.H, 1899 : Sur Limmunisation contre le serum d'anguilles. Ann Inst Pasteur Paris 13, 406.