



## Afyon Kaymağı Üretiminde Kullanılan Süt Türünün Real-Time PCR ile Belirlenmesi\*

Recep KARA<sup>1✉</sup>, Yağmur Nil DEMİREL<sup>1</sup>

1. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
14.01.2016	07.05.2016	31.10.2016

**Öz:** Afyon Kaymağı; manda sütünün tekniğine uygun kaynatılıp, soğutulması ile elde edilen süt ürününü ifade etmektedir. Tebliğ, kalite ve standart gereği Afyon kaymağının manda sütü kullanılarak üretilmesi gerekmektedir. Manda sütünün azalmasına bağlı olarak inek sütü ve/veya karışımlarının Afyon Kaymağı üretiminde kullanılmaya başladığı görülmektedir. Bu amaçla yapılan bu çalışmada Afyonkarahisar ili ve ilçelerinde tüketime sunulan Afyon Kaymağı örneklerinde üretimde kullanılan manda ve inek sütü türleri araştırılmıştır. Çalışmada 100 adet Afyon kaymağı örneği analize alınmıştır. Örneklerden DNA ekstraksiyonu Axygen Multisource DNA Isolation Kit kullanılarak, üretici firmanın talimatları doğrultusunda yapılmıştır. Applied Via 7 cihazı ile yapılan PCR işleminden sonra, internal kontrol pikleri VIC-TAMRA boyası ile örnekler için pikler ise FAM-TAMRA ile analiz edilerek sonuçlar değerlendirilmiştir. Sonuç olarak yapılan çalışmada Afyon kaymak örneklerinin %13'ü manda, %28'i manda ve inek karışımı; %59'u inek sütü kullanılarak üretilmiştir. Afyon Kaymağının standardını ve geleneksel özelliğini kaybetmemesi için üretimde mutlaka manda sütü kullanılması gerektiğinden dolayı manda yetiştiriciliği ve manda sütü üretimi daha fazla teşvik edilmesi, üretim prosesinde özel ekipmanların kullanılması önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Afyon kaymağı, İnek sütü, Kaymak, Manda sütü, Real-time PCR.

## Determination of Milk Species Used in Afyon Kaymak Production with Real-Time PCR

**Abstract:** Afyon Kaymak is the milk product boiled and cooled in accordance with the technique. According to communiqué, quality and standards, Afyon Kaymak must be produced using buffalo milk. Cow milk and/or cow milk's mixture is used to production of Afyon Kaymak due to reduced buffalo milk. For this purpose, in this study, buffalo and cow milk species are determined at Kaymak in Afyonkarahisar province. It was analyzed 100 Afyon Kaymak samples. DNA extractions of samples are made with Axygen Multisource DNA Isolation Kit according to manufacturer's instructions. After PCR processing made with Applied Via 7, control peaks (with VIC-TAMRA dye) and peak of samples (with FAM-TAMRA dye) are analyzed. As a result, 13% buffalo milk, 28% buffalo and cow milk mix, and 59% cow milk were determined at Afyon Kaymak samples. Buffalo milk has to be used in production for kaymak's traditional properties and Standard, breeding buffalo and production of buffalo milk should be further encouraged and be suggested using of specific equipment in processing plant and use of specific equipment is recommended in processing plant.

**Keywords:** Afyon Kaymak, Buffalo Milk, Cow Milk, Kaymak (Cream), Real-Time PCR.

✉Recep KARA

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.  
e-posta: recep-kara83@hotmail.com

\* Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından "14.HIZ.DES.45" numaralı proje ile desteklenmiştir.

## GİRİŞ

İnsan beslenmesinde süt ve süt ürünleri önemli bir yer tutmaktadır. Süt, insanların ihtiyacı olan protein, yağ, karbonhidrat, mineral ve vitamin gibi besin maddelerini yeterli ve dengeli bir şekilde içermektedir (1). Sütün önemli besin unsurlarından olan ve genellikle tereyağı olarak tüketilen süt yağı tüketiciler tarafından sevilerek tüketilmektedir. Süt yağının beslenme değerleri yüksek olan yağ asitleri ile A, D, E ve K vitaminlerini bulundurmasıyla beslenmede önemli rolü bulunmaktadır (2). Manda sütü yağ oranının inek sütüne kıyasla yüksek olması peynir vs ürünlerin üretiminin yanı sıra tereyağı ve özellikle Türkiye’de kaymak gibi bazı özel süt ürünlerinin üretilmesine imkân vermektedir (3). Aynı zamanda manda sütünün yağ, protein, laktoz, vitamin ve mineral içeriği ürünlerin lezzet ve tadın oluşmasına yardımcı olmasının yanında peynir, tereyağı, dondurma, yoğurt gibi süt ürünlerinin üretilmesine elverişli kılmaktadır.

Geleneksel süt ürünü olan kaymak özellikle Afyon, Edirne, Kocaeli, İstanbul, Bursa, Ankara illerinde küçük aile işletmelerinde üretilen bir üründür (4). Kaymak aynı zamanda Balkanlar, Orta doğu, Asya, İran, Afganistan, Hindistan’da da üretilmektedir. Bu ülkelerde de kaymak ile benzer okunuşa sahip “kajmak, kaimak, gemagh veya geymar” isimleriyle anılmaktadır (5). Kaymak, afyon kaymağından farklı özelliklere sahip genellikle manda sütüne erişilemediği zamanlarda inek sütünden de üretilen bir ürün olarak bilinmektedir (6). Türk Gıda Kodeksinin Krema ve Kaymak tebliğine göre Kaymak; ağırlıkça en az %60 oranında süt yağı içeren kremayı, Afyon Kaymağı; manda sütünün tekniğine uygun kaynatılarak 92°C’ de en az 2 dakika tutulması ve tekniğine uygun soğutulması ile elde edilen ürünü, ifade eder (7).

Geleneksel olarak kaymak üretimi şu şekilde gerçekleşmektedir. Çiğ manda sütü tülbent bezi kullanılarak iki kere süzülür. Bakır kaplara alınan süt ısıtılır. 90 derecede 30 dakika tutulduğu sıcaklık

derecesi “göbek bağlama” aşaması olarak adlandırılmaktadır. Bu aşamadan sonra oda sıcaklığına getirilen sütler bir gece soğuk ortamda depolanır. Ertesi gün ise elde edilen krema tabakasına süt eklenir. Bu karışım 90 derecede 45 dakika ısıtılır. Tekrar oda sıcaklığına düşürüldükten sonra soğuk depoya kaldırılır. Eğer mevsim yaz ise öğlene kadar, kış ise öğleden sonraya kadar bekletilir. Daha sonra kaymak tabakası kesilip ayrılarak, geleneksel yolla Afyon kaymağı üretimi gerçekleştirilmektedir (8).

Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak tebliğine göre Afyon Kaymağı’nın manda sütünden üretilmesi gerekmektedir (7). Ancak günümüzde manda sayısının istenen düzeyde olmamasına bağlı olarak yeterli miktarda manda sütü temin edilememesinden dolayı piyasada inek sütünden veya karışımlarından üretilmiş satışı sürülen süt kaymağı ürünleri mevcuttur.

İnsanların, tükettikleri gıdaların köken aldığı hayvan türlerine artan ilgisi, gıdalarda tür tayinine olan araştırma olanaklarını artmasına sebep olmuştur (9). Bunun yanında satışı sunulan süt ürünlerinin etiketlerinde hangi hayvan türüne ait olduğu bilgisi yer almalıdır. Bilinçsizce yapılan etiketleme, hileli yapılan üretimler belirlenememekte ve düşük kalitede ürünlerin satışı sunulmasına neden olmaktadır (10). Kaymak üzerine yapılan çalışmalarda kimyasal özellikleri ve mikrobiyolojik kalitesi (11-14) ile kalıntı kontaminant varlığının (15-17) belirlenmesinin yanı sıra raf ömrünü uzatmaya yönelik (18-20) çalışmalar yapılmıştır. Ancak kaymak üretiminde kullanılan süt orijininin belirlenmesine yönelik çalışmalara rastlanılmamıştır. Süt ürünlerinde tür tayini, gıdaların izlenebilirliği ve taklit kontrolü için oldukça önemli bir yer tutmaktadır (9). Ek olarak süt ürünlerinde yapılan taşıyıcılar oldukça yaygın bir problem haline gelmektedir. Mevsimsel değişiklikler ve fiyat farklılıkları, pahallı süt yerine kolay bulunabilir ucuz süt kullanılması veya karıştırılması gibi hileler yapılmasına sebep olmaktadır (21).

Bu amaçla, çalışmada geleneksel olarak Afyonkarahisar il ve ilçelerinde manda sütünden üretilmesi gereken Afyon Kaymağının üretiminde inek sütü kullanılıp kullanılmadığı Real Time PCR kullanılarak araştırılmıştır.

#### MATERYAL ve METOT

Yapılan çalışmada materyal olarak Afyonkarahisar ili ve ilçelerinde üretilen ve 200-250 g'lık orijinal ambalajında tüketime sunulan 100 adet Afyon Kaymağı örneği toplanmış ve örnekler soğuk zincir altında laboratuvara taşınmıştır.

#### DNA Ekstraksiyonu

Test prosedürü üretici firmanın direktifleri doğrultusunda aşağıda bildirildiği şekilde yapılmıştır (SNP, SNPRTS-SG; SNPRTS-MD).

Kaymak örneklerinden mercimek büyüklüğünde (250 µl) bir tüpe alınıp üzerine 350 µl 1x PBS solüsyonu ve 0,9 µl RNase A ilave edilerek 56 °C'de 5 dk inkübe edildi. Ardından 150 µl Buffer C-L ve 20 µl Proteinaz K ilave edilip karıştırılarak 56 °C'de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler 13.000 rpm'de 2 dk santrifüj edilip, berrak kısım temiz bir tüpe aktarıldı. Bu tüp içerisine kitin protokolünde belirtildiği miktarda alkol eklenip oluşan karışım spin kolona aktararak ve belirtilen hızda ve sürede santrifüj edilmiştir. Sonraki aşamalar da kitin protokolünde belirtildiği şekilde yıkama ve elüsyon işlemi tamamlanmıştır (Axygen Multisource DNA Isolation Kit).

#### PCR İşlemi

Her bir örnek için, optik kapaklı strip ve plate, 20 µl master miks ve 0,3 µl Hot Start Taq DNA Polimeraz ilave edilmiştir. Sonra 5 µl (~10-100 ng) örnek DNA'sı ilave edilmiştir. Hafifçe karıştırılarak ve aşağıda belirtilen programla ile çalıştırılmıştır (SNP, SNPRTS-SG; SNPRTS-MD).

95 °C 10 Dk. [95 °C 15 Saniye + 60 °C 1 Dk] 35 Döngü

Analizler Applied Via 7 cihazı kullanılarak yapılmış ve PCR işlemi bittikten sonra, internal Kontrol pikleri VIC-TAMRA boyası ile örneklere ait pikler ise FAM-TAMRA ile analiz edilerek sonuçlar değerlendirilmiştir.

#### BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada Afyonkarahisar bölgesinde geleneksel olarak üretilen Afyon kaymaklarında kullanılan manda ve inek sütlerinin varlığı araştırılmıştır. Örneklere ait internal pikleri Şekil 1A'da gösterilmiştir. Analiz sonuçlarına göre Manda (Şekil 1B), İnek (Şekil 1C) ve Manda-İnek (Şekil 1D) karışımından üretilen numunelerin Real Time PCR pikleri grafiklerde gösterilmiştir.

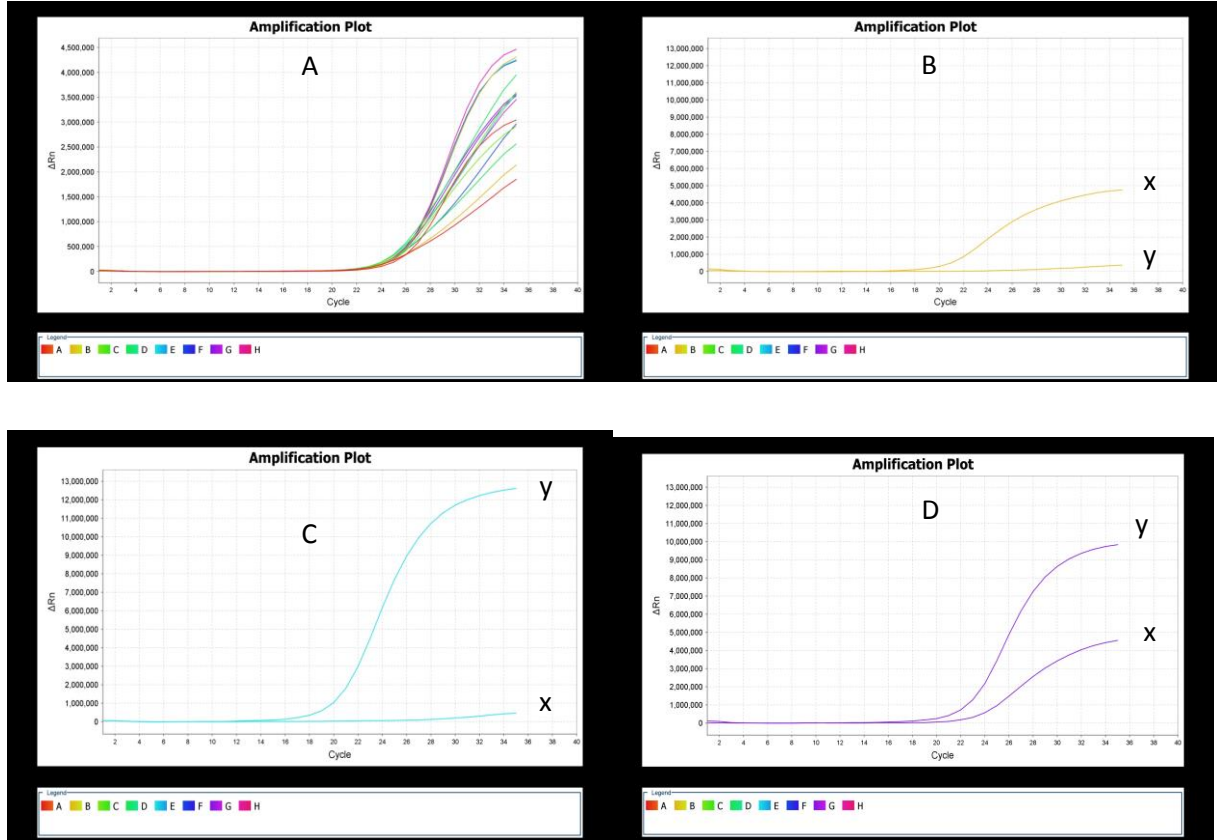
Yapılan bu çalışmada analize alınan 100 adet Afyon kaymağı örneğinin üretiminde kullanılan süt türlerine göre dağılımları Tablo 1'de gösterilmiştir. Sonuç olarak Afyon kaymak örneklerinin 13 (%13) tanesinin manda sütü kullanılarak, 59 (%59) tanesinin inek sütü kullanılarak üretildiği tespit edilmiştir. Geriye kalan 28 (%28) numunenin ise manda ve inek sütlerinin karışımından üretilmiş olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Afyon Kaymağı Üretiminde Kullanılan Süt Türü.

**Table 1.** Milk Species Used in Afyon Kaymak Production.

Hayvan Türü	n	%
Manda	13	13.00
Manda-Sığır	28	28.00
Sığır	59	59.00
Toplam	100	100.00

n: örnek sayısı; n: number of samples.



x: manda, y: inek  
x: buffalo, y: cow

**Şekil 1.** A örneklerin integral pikleri, B manda sütü pozitif örnek; C inek sütü pozitif örnek; D manda ve inek sütü pozitif örnek.

**Figure 1.** A Integral peaks of samples; B positive samples of buffalo milk; C positive samples of cow milk; D positive samples of buffalo and cow milk.

Hem Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak tebliğine göre (TGK, 2014) hem de geleneksel özelliklerini koruyabilmesi, kısacası “Afyon Kaymağı” olabilmesi için manda sütünden üretilmesi gerekmektedir (7). Manda sütünden üretilen kaymaklar inek sütünden üretilenlere göre daha yüksek ücretlere satışa sunulmaktadır. Manda sütünden üretilen kaymaklara talebin fazla olması ve ürünün yüksek satış fiyatından dolayı, üretimde daha kolay temin edilebilen inek sütü kullanılabilir. Ayrıca manda sayısındaki azalma ve buna bağlı olarak manda sütü teminindeki sıkıntılardan dolayı Afyon kaymağı inek sütü karıştırılarak veya sadece inek sütü kullanılarak üretilmektedir. Afyon kaymağının tebliğe bağlı kalınarak ve geleneksel lezzet ve aromasının

muhafaza edilmesi için inek sütü kullanılmaması gerekmektedir. Ancak yapılan bu çalışmada Afyon kaymağı örneklerinin sadece 13 (%13) tanesinin manda sütünden üretildiği tespit edilmiştir. Bu durum ürünün önemli bir oranının inek sütü ile üretildiğini göstermektedir. Ayrıca sütlerin temininden kaymak üretimine kadar geçen sürede kullanılan ekipmanların aynısının inek sütü için de kullanılabilmesi de önemli bir faktördür. Dolayısıyla depolama, nakliye ve üretim aşamalarında aynı ekipmanların kullanılmasına bağlı olarak inek ve manda sütünün az miktarlarda da birbiri ile karışmış olması yönetmeliğe uygun ürün yapılamamasına neden olabilir.

Hayvansal gıdalarda tür tayininde protein analizi, ELISA gibi metotlar kullanılabilir (10). Ancak, bu metotların inek-manda, koyun-keçi gibi birbirleriyle ilişki içinde olan sütler ve ısıtma işlem görmüş ürünlerde tür ayrımı yapması güç olduğu bildirilmektedir (22). Günümüzde güvenilir, duyarlı ve hızlı olan biyomoleküler teknikler (Real time PCR, PCR-RFLP, Multiplex PCR) süt ürünlerinde tür analizinde yaygın kullanılmaktadır (23-25). Bu metotlar içerisinde Real Time PCR'in yüksek otomasyon özelliği ve aynı anda birçok örneği analiz edebilmesi gibi avantajları vardır (9).

Sonuç olarak öncelikle Afyon kaymağının karakteristik özelliklerini muhafaza etmek için; manda sütü ile üretilmesi, bunun için de manda yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması gerekmektedir. Ayrıca üretimde ürüne özel ekipmanların kullanılması, denetimlerin düzenli olarak yapılması ve analizlerde Real Time PCR gibi hızlı ve güvenilir sonuç veren yöntemlerin rutin analizlerde sıklıkla kullanılması önerilmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Konar A., Yağmur C., Güven M., 1993. Süt ve süt ürünleri yönünden tüketici eğitimleri. Sütçülük kongresi, 135-149, Ankara.
2. Oysun G., 1987. Süt kimyası ve biyokimyası. Ondokuzmayıs Üniversitesi Yayınları No: 18, Samsun.
3. Şekerden Ö., 1999. Anadolu mandalarında süt kompozisyonunu etkileyen faktörler ve süt kompozisyonunun laktasyon dönemlerine göre değişimi. Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23, 505-509.
4. Yılsay TÖ., Bayizit AA., 2002. Bursa ilinde tüketilen kaymakların mikrobiyolojik özellikleri ve bazı patojen bakterilerin aranması. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16, 77-86.
5. Cakmakçı S., Hayaloglu AA., 2011. Evaluation of the chemical, microbiological and volatile aroma characteristics of Ispir Kaymak, a traditional Turkish dairy product. International Journal of Dairy Technology, 64, 444-450.
6. Akalın SA., Gönç S., Ünal G., Ökten S., 2006. Determination of some chemical and microbiological characteristics of Kaymak. Grasas y Aceites, 57, 429-432.
7. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Krema ve Kaymak Tebliği, R.G. Tarihi:27.09.2003 R.G. Sayısı:25242.
8. Şenel E., 2011. Some carbonyl compounds and free fatty acid composition of Afyon Kaymağı (clotted cream) and their effects on aroma and flavor. Grasas y Aceites, 62, 418-427.
9. Dalmaso AT., Civera T., La Neve F., Bottero MT., 2011. Simultaneous detection of cow and buffalo milk in mozzarella cheese by Real-Time PCR assay. Food Chemistry, 124, 362-366.
10. Hurley IP., Ireland HE., Coleman RC., Williams JHH., 2004. Application of immunological methods for the detection of species adulteration in dairy products. International Journal of Food Science and Technology, 39, 873-878.
11. Sağun E., Sancak H., Durmaz H., 2001. Van'da kahvaltı salonlarında tüketime sunulan süt ürünlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kaliteleri üzerine bir araştırma. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 12, 108-112.
12. Yılsay TÖ., Bayizit AA., 2002. Bursa ilinde tüketilen kaymakların mikrobiyolojik özellikleri ve bazı patojen bakterilerin aranması. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16, 77-86.
13. Sırken B., Çadircı Ö., 2006. Afyon ilinde tüketime sunulan kaymakların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitelerinin belirlenmesi. II. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, p:9, İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İstanbul.
14. Anlı EA., Gürsel A., 2013. Fiziksel ayırma tekniği ile elde edilen süt yağından üretilen kaymakların bazı nitelikleri. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 6, 33-39.
15. Bulut S., Akkaya L., Gök V., Konuk M., 2010. Organochlorine pesticide residues in butter and Kaymak in Afyonkarahisar, Turkey. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9, 2797-2801.
16. Kara R., İnce S. 2015. Investigation of aflatoxin M1 residues in Afyon Kaymak samples. 8th Asian

- Buffalo Congress, 21-25 Nisan 2015, 140, Istanbul, Turkey.
17. Kara R., İnce S., 2016. Investigation of maloksan and malathion residue in buffalo and cow milk. Polish Food Science and Technology, 66, 57-60.
18. Batu A., Çağlar A., Kara HH., 2008. Afyon kaymagının raf ömrünün uzatılmasında modifiye atmosferde paketlenme önerisi. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 2, 43-46.
19. Dereli Z., Sevik O., 2011. Modifiye atmosferde paketlenerek depolanan Afyon kaymağında oluşan kimyasal değişimler. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 6, 1-8.
20. Ekmekçi E., Gök V., Kara R., 2014. Afyon kaymağının raf ömrünün uzatılması üzerine oksijen tutucuların etkisi. 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 17-19 / Nisan / 2014, 469, Adana.
21. Mafra I., Ferreira IMPLVO., Faria MA., Oliveira BPP., 2004. A novel approach to the quantification of bovine milk in ovine cheeses using a duplex polymerase chain reaction method. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 4943-4947.
22. Lopez-Calleja I., Alonso G., Fajardo V., Rodriguez MA., Hernandez PE., Garcia T., Martin R., 2005. PCR detection of cows' milk in water buffalo milk and mozzarella cheese. International Dairy Journal, 15, 1122-1129.
23. Bottero MT., Civera T., Anastasio A., Turi RM., Rosati S., 2002. Identification of cow's milk in "buffalo" cheese by duplex polymerase chain reaction. Journal of Food Protection, 65, 362-366.
24. El-Rady A., Sayed M., 2006. Identification of milk source by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis. Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology, 14, 146-155.
25. Lopparelli RM., Cardazzo B., Balzan S., Giaccone V., Novelli E. 2007. Real-Time TaqMan Polymerase chain reaction detection and quantification of cow DNA in pure water buffalo mozzarella cheese: Method validation and its application on commercial samples. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 3429-3434.