



doi: 10.33188/ vetheder.1183990

Araştırma Makalesi / Research Article

Koyun ve keçi sütlerinde inek sütünün *TaqMan* Real-Time PCR ile tespit edilmesi

Yusuf BİÇER^{1,a,*}, Gonca SÖNMEZ^{2,b}, Gamze TURKAL^{1,c}, Tahir YILMAZ^{1,d}, M. Hüdayi ÇULHA^{2,e}, Gürkan UÇAR^{1,f}

¹ Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE

² Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE

ORCID: 0000-0001-7549-8323^a, 0000-0002-4946-3749^b, 0000-0003-4796-5961^c, 0000-0002-7653-0484^d, 0000-0002-8963-5605^e, 0000-0002-6774-5790^f

MAKALE BİLGİSİ/

ARTICLE
INFORMATION:

Geliş / Received:

04 Ekim 22

04 October 22

Revizyon/Revised:

19 Kasım 22

19 November 22

Kabul / Accepted:

05 Aralık 22

05 December 22

Anahtar Sözcükler:

inek sütü

keçi sütü

koyun sütü

TaqMan Real-Time

PCR

tür tespiti

Keywords:

cow milk

goat milk

sheep milk

TaqMan Real-Time

PCR

authentication

ÖZET:

Süt ve süt ürünleri içerdikleri yüksek besin değeriyle günlük diyetin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Ancak bu önemli özelliklerinin yanı sıra en fazla hile yapılan gıdalar arasında yer almaktadır. Koyun-keçi sütü ve ürünlerine inek sütünün karıştırılması süt ve süt ürünlerinde en sık karşılaşılan hilelerin başında gelmektedir. Bu durum, tüketiciler tarafından tercih edilmeyen sosyo-ekonomik potansiyel risklere neden olmaktadır. Bu çalışmada koyun ve keçi sütlerine farklı oranlarda karıştırılan inek sütü miktarının *TaqMan* Real-Time PCR ile tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla %1, %5, %10, %25, %75 ve %90 oranlarında keçi ve koyun sütlerine inek sütü karıştırılmıştır. Ayrıca saf inek sütünden elde edilen DNA sulandırılarak PCR işleminin duyarlılığı araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, koyun ve keçi sütlerine karıştırılan %1 inek sütü ve 0,003 ng DNA varlığı tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda *TaqMan* Real-Time PCR'ın koyun ve keçi sütlerine karıştırılan düşük düzeydeki inek sütünün tespit edilmesinde güvenilir ve hassas bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Detection of cow milk in sheep and goat milk by TaqMan Real-Time PCR

ABSTRACT:

Milk and dairy products constitute an important part of the daily diet due to their high nutritional value. However, in addition to these important features, it is among the most adulterated foods. The most common adulteration in milk and dairy products is the mixing of cow's milk with sheep and goat milk and products. This situation causes socio-economic potential risks that are not preferred by consumers. In this study, it was aimed to determine the amount of cow's milk mixed with sheep and goat milk at different rates by *TaqMan* Real-Time PCR. For this purpose, 1%, 5%, 10%, 25%, 75% and 90% cow's milk was mixed with goat and sheep milk. In addition, the sensitivity of the PCR process was investigated by diluting the DNA obtained from pure cow's milk. As a result of this study, the presence of 1% cow's milk and 0.003 ng DNA mixed with sheep and goat milk was determined. As a result of the research, it is thought that *TaqMan* Real-Time PCR can be used as a reliable and sensitive method for detecting low level cow's milk mixed with sheep and goat milk.

How to cite this article: Biçer Y, Sönmez G, Turkal G, Yılmaz T, Çulha MH, Uçar G. Koyun ve keçi sütlerinde inek sütünün *TaqMan* Real-Time PCR ile tespit edilmesi. Vet Hekim Der Derg 94 (1): 50-58, 2023. DOI: 10.33188/ vetheder.1183990.

* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: yusufbicer@selcuk.edu.tr

1. Giriş

Süt kaliteli protein, yağ, karbonhidrat, vitamin ve mineral içeriğiyle yüksek besin değerine sahip gıdaların başında gelmektedir. Aynı zamanda sütün, tereyağı, peynir, süt tozu ve yoğurt üretiminde kullanılması ürünlerin lezzetini ve besin değerini artırarak tüketicilerin ihtiyaçlarını karşılamaktadır (1). Bu durum sütün tağış yapılan gıdalar listesinde ilk sıralarda yer almasına neden olmaktadır. Süt ve süt ürünlerinde hayvan türünün tespit edilmesi sadece tüketicilerin doğru bilgilendirilmesi ve yasal yükümlülükler (örn., etiket bilgisi) açısından değil aynı zamanda halk sağlığının korunması (düşük düzeyde dahi olsa inek sütü proteinlerinin alerjen olması) bakımından da önemlidir. Keçi sütü insan sütüne benzerliği ve inek sütüne oranla sindirilebilirliğinin daha yüksek olmasıyla bilinmektedir (2). Ayrıca keçi sütü, daha az miktarda α -kazein içerdiğinden inek sütünden daha az alerjeniteye sahiptir (3). Bu avantajlar keçi sütünün tüketiciler tarafından tercih edilmesine neden olmaktadır. Bununla birlikte, keçi sütünün yıllık üretiminin inek sütüne oranla düşük olması fiyatının yüksek olmasına neden olmaktadır (4). Bazı üreticiler, haksız ekonomik kâr elde etmek için keçi sütünü nispeten ucuz ikamelerle (örn., inek sütü, soya sütü ve üre vb.) karıştırmaktadır. Özellikle varlığı ve miktarı tespit edilmesi oldukça zor olan inek sütü bu amaç doğrultusunda yaygın olarak kullanılmaktadır (5, 6). Bunun sonucunda ortaya çıkan ürün saf keçi sütü ile benzer görünse de yapılan tağış ürün kalitesini düşürmekte ve inek sütü alerjisi olan bireyler için ciddi sağlık riskleri oluşturmaktadır (7-9). Keçi sütüne inek sütünün ilavesi sonucunda duyarlı bireylerde inek sütü protein alerjisi başta olmak üzere birçok ters gıda reaksiyonu ortaya çıkmaktadır (10). Keçi sütü ve ürünlerinin tüketimi sağlığın korunmasında, fizyolojik fonksiyonlarda, çocukların ve yaşlıların beslenmesinde olumlu etkilere sahipken, inek sütü alerjisi olan kişiler tarafından istenmeyen reaksiyonlar meydana gelmeden tüketilebilir (11, 12). Keçi sütünün tüketiciler tarafından arzu edilen tat ve kokuya sahip olması, sınırlı alerjen madde içeriği ve sindirilebilirliğinin yüksek olması nedeniyle inek sütüne alternatif olarak kabul edilmektedir (13, 14). Buna karşılık, yetiştiricilik sistemleri için daha yüksek gereksinimlere ihtiyaç duyulması ve düşük üretim oranları nedeniyle keçi sütü üretim miktarının artırılması zordur (15). Koyun sütü üretimi de genellikle küçük işletmelerde yapılmaktadır. Koyun sütünün protein ve yağ dahil olmak üzere toplam kuru madde düzeyinin inek ve keçi sütünden daha yüksek olduğu bilinmektedir (16-18). Ancak koyun sütü sahip olduğu duyusal özellikleri (örn., lezzet, koku) nedeniyle tüketiciler tarafından keçi veya inek sütü gibi doğrudan tüketilmek için tercih edilmemekte ve genellikle yoğurt, peynir gibi ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Bu karışım ürünlerde de fiyatı belirleyen en önemli faktör, kullanılan koyun ve keçi sütü miktarıdır. Dolayısı ile üreticilerin haksız rekabetten, tüketicilerin ise tağışın korunmaları için bu ürünlerin etiketinde beyan edilen koyun ve keçi sütü miktarlarının yasal denetleme organları tarafından tespit edilebilmesi gerekmektedir.

Çeşitli gıdalarda tür tespitine yönelik kullanılan analitik yöntemler, protein ve DNA bazlı yöntemleri kapsamaktadır. Protein temelli yöntemler ısıtıldığında denatüre olan ve sonuçta antijenite ve elektroforetik özelliklerinde değişim meydana gelen proteinlerin tespitini hedeflemektedir. Özellikle gıdalarda hedef bileşiklerin kantitatif olarak daha yüksek hassasiyetle değerlendirilmesine olanak sağlayan gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu en sık tercih edilen yöntemlerin başında gelmektedir. DNA bazlı yöntemlerin gıda ürünlerinde daha güvenilir ve stabil yöntemler olduğu da bildirilmektedir (19).

Tüketicilerin koyun ve keçi sütü gibi farklı tür sütlere olan ilgisi ve talebi giderek artmaktadır. Ancak bu türlerden elde edilen süt miktarının düşük olması ve her zaman elde edilememesinden dolayı daha yüksek fiyatlarla satışa sunulmakta ve haksız kazanç elde etmek isteyen üreticiler tarafından inek sütü de karıştırılabilmektedir. Dolayısı ile bu araştırmada koyun ve keçi sütlerine farklı oranlarda karıştırılan inek sütü miktarının, hassas ve güvenilir bir yöntem olduğu bilinen, *TaqMan* Real-Time PCR ile tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. Gereç ve Yöntem

Keçi ve koyun sütlerine farklı oranlarda inek sütü ilavesi

Karışımlar için kullanılan inek sütü Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Çiftliği'nde bulunan Holştayn ırkı ineklerden, keçi sütü özel bir Saanen keçi çiftliğinden ve koyun sütü Lacaune yetiştiriciliği yapan özel bir çiftlikten temin edildi. Keçi ve koyun sütlerine inek sütü %100, %90, %75, %25, %10, %5, %1 ve %0 oranlarında, toplam hacim 1 litre olacak şekilde karıştırıldı.

Süt karışımlarından DNA ekstraksiyonu

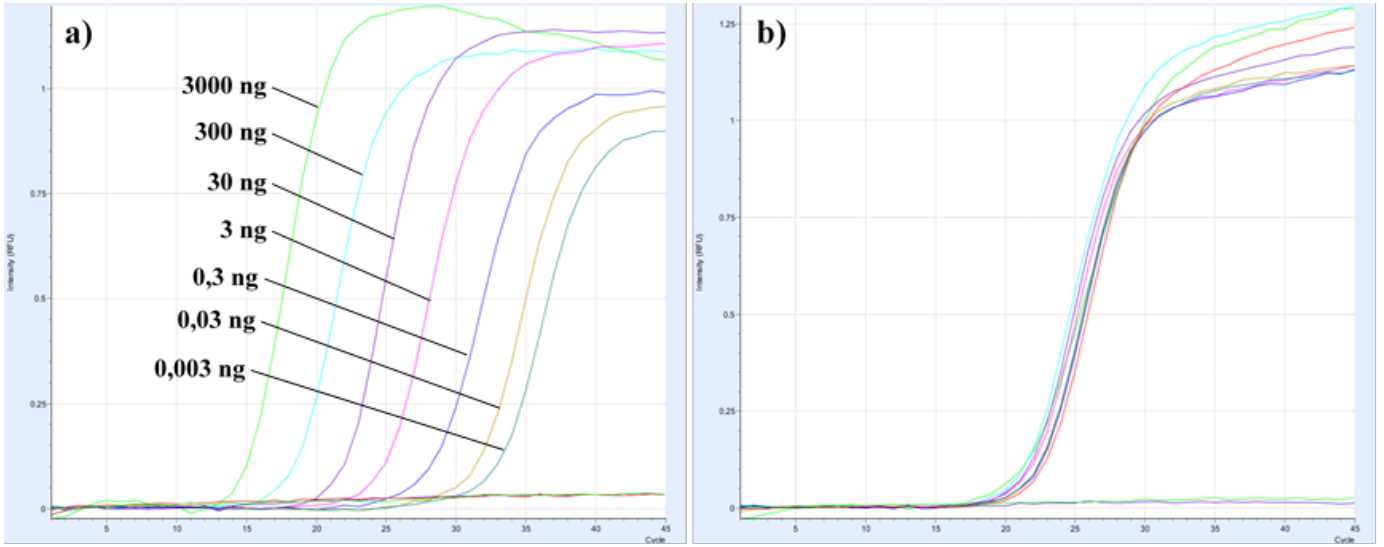
Süt karışımlarından DNA ekstraksiyonu Murphy ve ark. (20) izolasyon protokolünün modifikasyonu ile yapıldı. Özetle, 18 mL etilendiamintetraasetik asit (EDTA; VWR Chemicals, Leuven, Belgium, 20302.293, 0,5 M, pH 8) ve 12 mL Tris-EDTA (TE; Sigma-Aldrich, 77-86-1, 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0) 10 mL süt karışımına ilave edilerek 15 dakika oda ısısında çalkalandı. Ardından 4000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi. Pelet 1 mL lizis tamponu (100 mM Tris-HCl pH 8, 200 mM NaCl, %0,1 sodyum dodesil sülfat, %1 Triton X-100, 5 mM EDTA pH 8) ve 15 µL Proteinaz K (Zymo, D3001-2; 20 mg/mL, Zymo Research, Irvine, CA, USA) içerisinde çözdürüldü ve gece boyunca 55 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası çözeltiye 1 mL fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1, Sigma-Aldrich, A2279, St Louis, MO, USA,) ilave edildi ve 12500 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Faz ayrımı sonrası üst faza 150 µL sodyum asetat (3M, pH 5,2) ve 400 µL etanol eklenerek santrifüj işlemi ile DNA'lar çöktürüldü. Çöken DNA'lar %70 alkolde yıkandı, kurutuldu ve 40 µL TE içinde çözüldü. İzole edilen DNA'lar analiz edilene kadar -20 °C'de saklandı.

Real-Time PCR protokolü

İzolasyon sonucunda elde edilen DNA'lar TE ile 20 µg/µL'ye seyreltildi. Süt karışımlarında analizler, süt ürünlerinden inek sütü tayin Real-Time PCR kiti (SNP Biotechnology, Ankara, Türkiye, Kat. No: 403R-10-01) kullanılarak gerçekleştirildi. Süt karışımlarındaki inek sütü oranı, inek türene özgü primerler ve probalar kullanılarak belirlendi. Reaksiyonun güvenilirliği dahili amplifikasyon kontrolü (internal amplification control, IAC) ile kontrol edildi. İnek sütü DNA'sının varlığı karboksifloresan (FAM) boyası ile, IAC ise heksaklorofloresan (HEX) boyası ile analiz edildi. Analiz için, 20 µL reaksiyon karışımına 5 µL ekstrakte edilmiş DNA ilave edildi. Reaksiyon protokolü, enzimin 95 °C'de 3 dakika aktivasyonu ile başladı, ardından 95 °C'de 15 saniye ve 60 °C'de 60 saniye 45 döngü olarak Lightcycler Nano 1.0 Roche cihazı ile gerçekleştirildi. Her reaksiyona pozitif ve negatif kontroller eklendi. Tüm deney aşamaları 3 tekrar olarak gerçekleştirildi.

3. Bulgular

TaqMan Real-Time PCR analizlerinde süt karışımlarındaki inek sütü miktarı inek türüne özgü primer ve prob kullanılarak tespit edildi. Pozitif kontrol olarak %100 inek sütünden izole edilen DNA kullanıldı. Pozitif kontrolden izole edilen DNA konsantrasyonu, nanodrop ölçümü sonucunda 600 ng/μL olarak bulundu. Şekil 1a'da dilüsyonlara, Şekil 1b'de IAC'ye ait amplifikasyon eğrileri gösterilmektedir. İnek DNA'sı tespit limiti 0,003 ng olarak belirlendi ve 10^{-7} (0,0003 ng) dilüsyonu tespit edilemedi. Dilüsyonlara ve IAC'ye ait Ct değerleri ve standart sapmaları Tablo 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1: (a): %100 İnek sütünden izole edilen DNA dilüsyonlarının/konsantrasyonlarının ($10^0/3000\text{ng}$, $10^{-1}/300\text{ng}$, $10^{-2}/30\text{ng}$, $10^{-3}/3\text{ng}$, $10^{-4}/0,3\text{ng}$, $10^{-5}/0,03\text{ng}$, $10^{-6}/0,003\text{ng}$, $10^{-7}/0,0003\text{ng}$, $10^{-8}/0,00003\text{ng}$) Real-Time PCR'daki amplifikasyonu; **(b):** Real-Time PCR'da IAC pikleri (0,0003 ng DNA tespit edilemedi)

Figure 1: (a): Dilutions/concentrations of DNA isolated from 100% Cow's milk ($10^0/3000\text{ng}$, $10^{-1}/300\text{ng}$, $10^{-2}/30\text{ng}$, $10^{-3}/3\text{ng}$, $10^{-4}/0.3\text{ng}$, $10^{-5}/0.03\text{ng}$, $10^{-6}/0.003\text{ng}$, $10^{-7}/0.0003\text{ng}$, $10^{-8}/0.00003\text{ng}$) amplification in Real-Time PCR; **(b):** Peaks of Internal Amplification Control in Real-Time PCR. (0.0003 ng DNA could not be detected)

Tablo 1: İnek DNA'sı tespitinde kullanılan primerlerin etkinliğinin hesaplanmasında *TaqMan* Real-Time PCR'da elde edilen Ct değerleri

Table 1: Ct values obtained in *TaqMan* Real-Time PCR in calculating the efficiency of primers used in the detection of cow DNA

DNA Miktarı (ng)	İnek - FAM	İnek - FAM	IAC - HEX	IAC - HEX
	Ort ^a Ct	SD ^b	Ort ^a Ct	SD ^b
3000	14,21	0,18	20,80	0,04
300	17,63	0,01	20,63	0,00
30	21,12	0,05	20,94	0,02
3	24,16	0,01	21,25	0,12
0,3	27,77	0,05	21,65	0,00
0,03	31,00	0,15	21,56	0,01
0,003	32,33	0,04	21,58	0,00
0,0003	-	-	21,38	0,19
0,00003	-	-	21,45	0,18

^a İki tekrarın ortalama değerleri, FAM: karboksifloresan, HEX: heksaklorofloresan, IAC: Internal amplification control, SD: standart sapma, -: tespit edilemedi

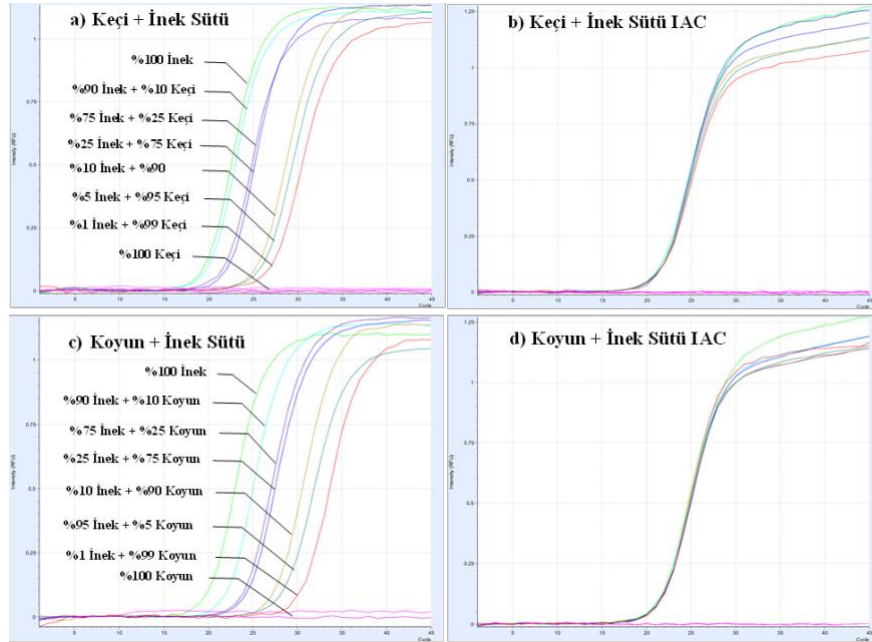
Şekil 2a'da keçi ve inek sütü karışımlarından, Şekil 2c'de koyun ve inek sütü karışımlarından izole edilen DNA'ların Real-Time PCR'daki amplifikasyon eğrileri, Şekil 2b'de keçi ve inek sütü karışımlarında, Şekil 2d'de koyun ve inek sütü karışımlarında kullanılan IAC'ye ait amplifikasyon eğrileri gösterilmektedir. Tablo 2'de süt karışımlarına ve IAC'ye ait ortalama Ct değerleri ve standart sapmaları verilmektedir. Keçi sütüne karıştırılan inek sütünün tespitinde ortalama Ct değeri 18,71 ile 26,30 arasında, koyun sütüne karıştırılan inek sütünde 19,26 ile 29,62 arasında bulundu. Tüm örneklerde IAC ortalama Ct değerleri 20,62 ile 21,28 arasında tespit edildi (Tablo 2).

Tablo 2: Keçi ve koyun sütlerine karıştırılan inek sütü oranlarının tespiti için *TaqMan* Real-Time PCR'da elde edilen Ct değerleri

Table 2: Ct values obtained in *TaqMan* Real-Time PCR to determine the proportions of cow's milk mixed with goat and sheep milk

İnek Sütü Yüzdesi	Keçi Sütü Yüzdesi	Koyun Sütü Yüzdesi	İnek - FAM Ort ^a Ct ± SD	IAC - HEX Ort ^a Ct ± SD
100	0	0	18,71 ± 0,10	20,63 ± 0,01
90	10	0	19,06 ± 0,14	20,71 ± 0,08
75	25	0	20,94 ± 0,04	20,86 ± 0,02
25	75	0	21,42 ± 0,04	20,80 ± 0,03
10	90	0	24,67 ± 0,08	20,86 ± 0,00
5	95	0	25,36 ± 0,04	20,89 ± 0,01
1	99	0	26,30 ± 0,08	20,93 ± 0,03
0	100	0	Tespit edilemedi	20,85 ± 0,06
100	0	0	19,26 ± 0,05	20,73 ± 0,03
90	0	90	21,32 ± 0,13	20,84 ± 0,04
75	0	25	23,28 ± 0,03	20,95 ± 0,04
25	0	75	23,74 ± 0,22	20,89 ± 0,02
10	0	90	26,29 ± 0,03	20,91 ± 0,01
5	0	95	27,67 ± 0,31	20,91 ± 0,04
1	0	99	29,62 ± 0,06	20,92 ± 0,02
0	0	100	Tespit edilemedi	21,24 ± 0,03

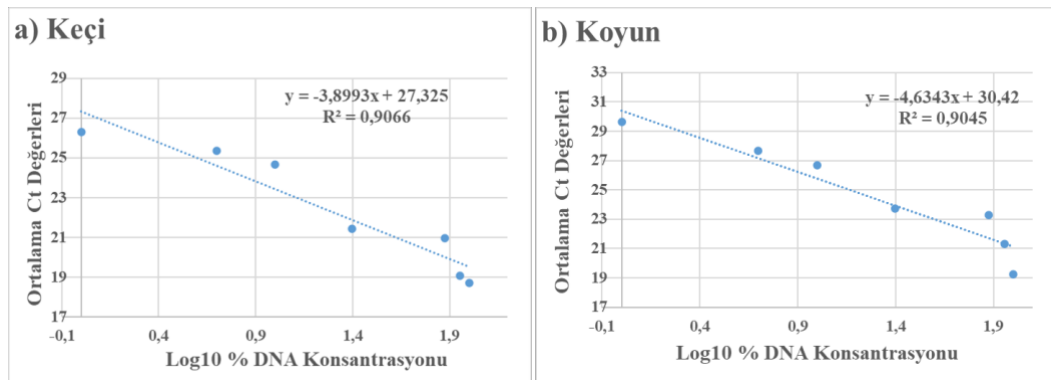
^a Üç tekrarın ortalaması ± standart sapma



Şekil 2: (a) Keçi ve (c) koyun sütüne %100, %90, %75, %25, %10, %5, %1 ve %0 oranlarında inek sütü ilave edilerek elde edilen karışımlardan izole edilen DNA'ların Real-Time PCR'daki amplifikasyon eğrileri. Keçi ve inek (b), koyun ve inek (d) karışımlarında kullanılan IAC için elde edilen amplifikasyon eğrileri

Figure 2: Real-Time PCR amplification curves of DNA isolated from cow's milk mixed with (a) goat's and (c) sheep's milk at 100%, 90%, 75%, 25%, 10%, 5%, 1% and 0% ratios. Amplification curves obtained for IAC used in mixtures of goats and cows (b), sheep and cows (d)

Karışımlardaki inek sütünün miktarının belirlenmesi için inek sütü yüzdesine karşılık gelen DNA konsantrasyonunun logaritması ve Ct değerleri ile kalibrasyon eğrileri çizildi (Şekil 3). Kalibrasyon eğrilerinin eğimi keçi ve inek sütü karışımları için -3,8993 (Şekil 3a), koyun ve inek sütü karışımları için -4,6343 (Şekil 3b) bulundu. Buna karşılık gelen korelasyon katsayıları 0,9066 (Şekil 3a) ve 0,9045 (Şekil 3b) olarak hesaplandı.



Şekil 3: (a) Keçi ve (b) koyun sütüne %100, %90, %75, %25, %10, %5, %1 ve %0 oranlarında karıştırılan inek sütü DNA'sının miktar tayini için çizilen kalibrasyon eğrileri

Figure 3: Calibration curves drawn for the quantification of cow's milk DNA (a) goat's and (b) sheep's milk mixed at 100%, 90%, 75%, 25%, 10%, 5%, 1% and 0% ratios

4. Tartışma ve Sonuç

Süt ve süt ürünleri, yüksek besin değerleri nedeniyle çocuklar, hamileler ve yaşlılar gibi bazı tüketici grupları için çok önemli olduğu düşünülen temel gıda maddeleridir (21). Yüksek besin değerinin yanında dünya genelinde en fazla tağış yapılan yedi gıdadan biri olarak bildirilmektedir (22). Süt ve süt ürünlerinde yapılan tağış yüzdesi ise ülkelere göre değişmektedir (23). Geçmişte hayvansal gıdalarda tür tespiti için klasik PCR (24, 25) ve Real-Time PCR (26) metotları kullanılmaktaydı. Ancak son yıllarda, bu tekniklerden daha spesifik olduğu ortaya konan *TaqMan* Real-Time PCR tekniğinin tercih edildiği görülmektedir (27). Mevcut araştırmada koyun ve keçi sütlerine farklı oranlarda karıştırılan inek sütü miktarı *TaqMan* Real-Time PCR ile tespit edilmiştir. Guo ve ark. (27) tarafından yapılan çalışmada kısırak ve inek sütleri karıştırılmış ve inek sütü tespit düzeyi 0,001 ng DNA olarak bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada kısırak sütüne karıştırılan %1 oranındaki inek sütü tespit edilmiştir. Guo ve ark. (28) tarafından yapılan bir diğer çalışmada tripleks *TaqMan* Real-Time PCR ile keçi sütünden elde edilen 0,005 ng DNA tespit edilebilirken, inek sütünden 0,01 ng DNA tespit edilebilmiştir. Keçi ve inek sütü karışımlarında ise %10'un altında inek sütü, %30'un altında keçi sütü tespit edilemediği bildirilmiştir. Mevcut çalışmada ise *TaqMan* Real-Time PCR ile tek türe ait DNA tespiti yapıldığı için prob sayısı azdır ve daha düşük tespit limitine ulaşılmıştır. Biçer ve Sönmez (29) tarafından yapılan araştırmada inek ve koyun sütleri karıştırılarak üretilen yoğurt örneklerinde 0,01 ng inek ve koyun DNA'sı ve %1 oranında farklı tür süt varlığı tespit edilmiştir. Snirc ve ark (30) ve Fekete ve ark (31) tarafından yapılan çalışmalarda sırası ile koyun ve keçi sütlerine karıştırılan %0,5 oranında inek sütünün tespit edilebildiği ve *TaqMan* Real-Time PCR metodunun hassasiyetinin 0,001 ng DNA olduğu bildirilmiştir. Deng ve ark. (32) tarafından yapılan çalışmada deve, at ve keçi sütlerine %0,1 oranında karıştırılan inek sütü dubleks PCR ile tespit edilmiştir. Benzer şekilde Tortorici ve ark. (33) tarafından keçi ve inek peynirlerinde %0,1 koyun sütü, inek ve koyun peynirlerinde %0,1 keçi sütü varlığının tespit edildiği bildirilmiştir. Çalışmalarda farklı tespit limitlerinin ve yüzdelerinin elde edildiği görülmektedir. Bu duruma çalışmalarda farklı tür süt ve ürünlerinin kullanılması, uzun süreli fermantasyon aşamasının ve ısı işlem prosedürünün DNA bütünlüğünü bozmasının sebep olabileceği öne sürülmektedir. Bunlara ek olarak süt ürünlerinden elde edilen nispeten düşük kaliteli DNA'nın ve dolayısı ile izolasyon tekniğinin de yöntemin hassasiyetini etkilediği düşünülmektedir. Ayrıca, gıdalarda, özellikle de süt ürünlerinde, farklı türlerin düzeyinin belirlenmesinin çözüm aranan bir sorun olduğu ve DNA temelli yöntemlerin yalnızca yaklaşık değerler sağlayabileceği bildirilmektedir (34).

Küçükbaş hayvan yetiştiriciliği kırsal bölgelerde yaşayan, dar gelirli ailelerin beslenme ve gelir kaynakları arasında yer almaktadır. Bu hayvanlardan elde edilen ürünlerin başında gelen süt ve süt ürünleri de günümüzde giderek artan bir talep görmektedir. Ancak haksız kazanç elde etmek için bu ürünlere inek sütü karıştırılması ve bunun etikette beyan edilmemesi gibi durumlardan dolayı tüketicinin bu ürünlere olan güveni azalmaktadır. Et ürünlerinde farklı türlerin düzeylerinin tespit edilmesinde yaşanan güçlükler nedeni ile karışım ürünlerin satışı yasaklanmıştır. Süt ve süt ürünlerinde ise özellikle bazı yöresel peynirlerin yapım metotları gereği koyun, keçi ve inek sütleri belirli oranlarda karıştırılarak üretilmeleri nedeniyle böyle bir yasak söz konusu değildir. Ancak tüketicilerin sosyo-ekonomik yönden korunmaları için etikette beyan edilen miktarların hassas ve güvenilir tekniklerle belirlenebilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada koyun ve keçi sütlerine deneysel olarak %1 karıştırılan inek sütü *TaqMan* Real-Time PCR metodu ile tespit edilmiş ve metodun hassasiyeti 0,003 ng DNA olarak bulunmuştur. Dolayısı ile *TaqMan* Real-Time PCR'in sütte tür tespiti için hassas ve güvenilir bir metot olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Yazar Katkısı Beyanı

Fikir/kavram: Yusuf Biçer, Gonca Sönmez

Deney tasarımı: Yusuf Biçer, Gonca Sönmez

Denetleme/Danışmanlık: Yusuf Biçer, Gonca Sönmez, Gürkan Uçar

Veri toplama: Yusuf Biçer, Gonca Sönmez, Gamze Turkal, Tahir Yılmaz, M. Hüdayi Çulha

Veri analizi ve yorum: Yusuf Biçer, Gonca Sönmez, Gamze Turkal, Tahir Yılmaz, M. Hüdayi Çulha

Kaynak taraması: Yusuf Biçer

Makalenin yazımı: Yusuf Biçer

Eleştirel inceleme: Gürkan Uçar

Etik Onay

Bu makaledeki sunulan verilerin, bilgilerin ve dokümanların akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde edildiği, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçlarının bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunulduğuna dair yazardan etik beyan alınmıştır.

Kaynaklar

1. Qin C, Liu L, Wang Y, Leng T, Zhu M, Gan B ve ark. Advancement of omics techniques for chemical profile analysis and authentication of milk. *Trends Food Sci Technol* 2022;127:114-128.
2. Grant C, Rotherham B, Sharpe S, Scragg R, Thompson J, Andrews J ve ark. Randomized, double-blind comparison of growth in infants receiving goat milk formula versus cow milk infant formula. *J Paediatr Child Health* 2005;41(11):564-568.
3. Lad SS, Aparnathi K, Mehta B, Velpula S. Goat milk in human nutrition and health—a review. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 2017;6(5):1781-1792.
4. Guo MR, Dixon PH, Park YW, Gilmore JA, Kindstedt PS. Seasonal changes in the chemical composition of commingled goat milk. *J Dairy Sci* 2001;84:E79-E83.
5. Li Q, Zhao Y, Zhu D, Pang X, Liu Y, Frew R ve ark. Lipidomics profiling of goat milk, soymilk and bovine milk by UPLC-Q-exactive orbitrap mass spectrometry. *Food Chem* 2017;224:302-309.
6. Da Paixao Teixeira JL, Dos Santos Carames ET, Baptista DP, Gigante ML, Pallone JAL. Vibrational spectroscopy and chemometrics tools for authenticity and improvement the safety control in goat milk. *Food Control* 2020;112:107105.
7. Dabrowska A, Walecka E, Bania J, Zelazko M, Szoltysik M, Chrzanowska J. Quality of UHT goat's milk in Poland evaluated by real-time PCR. *Small Rumin Res* 2010;94(1-3):32-37.
8. Azad T, Ahmed S. Common milk adulteration and their detection techniques. *Int J Food Contam* 2016;3(1): 22.
9. Teixeira J, Carames E, Baptista DP, Gigante ML, Pallone J. Rapid adulteration detection of yogurt and cheese made from goat milk by vibrational spectroscopy and chemometric tools. *J Food Compos Anal* 2021;96:103712.
10. Pinto PA, Anconi ACSA, de Abreu LR, Magalhães EJ, Nunes CA. Strategies to determine lactose in cow milk by mid infrared spectroscopy. *J Food Compos Anal* 2021;104:104176.
11. Mafra I, Roxo Á, Ferreira IM, Oliveira MBP. A duplex polymerase chain reaction for the quantitative detection of cows' milk in goats' milk cheese. *Int Dairy J* 2007;17(9):1132-1138.
12. Silanikove N, Leitner G, Merin U, Prosser CG. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. *Small Rumin Res* 2010;89(2-3):110-124.
13. García V, Rovira S, Boutoial K, López MB. Improvements in goat milk quality: A review. *Small Rumin Res* 2014;121(1):51-57.
14. Di Pinto A, Terio V, Marchetti P, Bottaro M, Mottola A, Bozzo G ve ark. DNA-based approach for species identification of goat-milk products. *Food Chem* 2017;229:93-97.

15. Li Q, Yu Z, Zhu D, Meng X, Pang X, Liu Y ve ark. The application of NMR-based milk metabolite analysis in milk authenticity identification. *J Sci Food Agric* 2017;97(9):2875-2882.
16. Balthazar CF, Pimentel TC, Ferrão LL, Almada CN, Santillo A, Albenzio M ve ark. Sheep milk: physicochemical characteristics and relevance for functional food development. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2017;16(2):247– 262.
17. Tribst AAL, Falcade LTP, Leite Júnior BRDC, De Oliveira MM. Why are most physicochemical parameters not useful in predicting the quality of sheep milk? *Int J Dairy Technol* 2020;73(1):292– 295.
18. Valizadeh Yonjalli R, Mirzaei Aghjehgheshlagh F, Mahdavi A, Navidshad B, Staji H. The effects of tannin extract and linseed oil on yield, physicochemical characteristics and fatty acid profile of ewe milk. *Int J Dairy Technol* 2020;73(4):656-666.
19. Wang Z, Li T, Yu W, Qiao L, Liu R, Li S ve ark. Determination of content of camel milk in adulterated milk samples by normalized real-time polymerase chain reaction system based on single-copy nuclear genes. *J Sci Food Agric* 2020;100(8):3465–3470.
20. Murphy AM, Shariflou MR, Moran C. High quality genomic DNA extraction from large milk samples. *J Dairy Res* 2002;69(4):645– 649.
21. Souza SS, Cruz AG, Walter EHM, Faria JAF, Celeghini RMS, Ferreira MMC ve ark. Monitoring the authenticity of Brazilian UHT milk: a chemometric approach. *Food Chem* 2011;124(2):692e695.
22. Moore JC, Spink J, Lipp M. Development and application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. *J Food Sci* 2012;77(4):R118-R126.
23. Kamal M, Karoui R. Analytical methods coupled with chemometric tools for determining the authenticity and detecting the adulteration of dairy products: A review. *Trends Food Sci Technol* 2015;46(1):27-48.
24. Golinelli LP, Carvalho AC, Casaes RS, Lopes CSC, Deliza R, Paschoalin VMF ve ark. Sensory analysis and species-specific PCR detect bovine milk adulteration of frescal (fresh) goat cheese. *J Dairy Sci* 2014;97(11):6693-6699.
25. Keyvan E, İplikçioğlu Çil G, Çınar Kul B, Bilgen N, Şireli UT. Identification of meat species in different types of meat products by PCR. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2017;64(4):261-266.
26. Agrimonti C, Pirondini A, Marmioli M, Marmioli N. A quadruplex PCR (qPCR) assay for adulteration in dairy products. *Food Chem* 2015;187:58-64.
27. Guo L, Qian JP, Guo YS, Hai X, Liu GQ, Luo JX ve ark. Simultaneous identification of bovine and equine DNA in milks and dairy products inferred from triplex TaqMan real-time PCR technique. *J Dairy Sci* 2018;101(8):6776-6786.
28. Guo L, Ya M, Hai X, Guo YS, Li CD, Xu WL ve ark. A simultaneous triplex TaqMan real-time PCR approach for authentication of caprine and bovine meat, milk and cheese. *Int Dairy J* 2019;95:58-64.
29. Biçer Y, Sönmez G. Detecting cow milk in sheep yoghurt by Taq Man real - time PCR. *Int J Dairy Technol* 2022;75(4): 803-808.
30. Snirc M, Fekete T, Belej L, Židek R, Golian J, Haščík P ve ark. Detection of ovine milk adulteration using TaqMan real-time PCR assay. *Potr S J F Sci* 2017;11(1):338-343.
31. Fekete T, Šnirc M, Belej L, Židek R, Golian J, Haščík P ve ark. Authentication of caprine milk and cheese by commercial qPCR assay. *Potr S J F Sci* 2017;11(1):580-586.
32. Deng L, Li A, Gao Y, Shen T, Yue H, Miao J ve ark. Detection of the bovine milk adulterated in camel, horse, and goat milk using duplex PCR. *Food Anal Methods* 2020;13(2):560-567.
33. Tortorici L, Di Gerlando R, Tolone M, Mastrangelo S, Sardina MT. 12S rRNA mitochondrial gene as marker to trace Sicilian mono-species dairy products. *Livest Sci* 2016;193:39-44.
34. Mayer HK, Bürger J, Kaar N. Quantification of cow's milk percentage in dairy products—A myth? *Anal Bioanal Chem* 2012;403(10):3031–3040.