

PAPER DETAILS

TITLE: HELAL VE HELAL OLMAYAN GIDA BİLESENLERİNİN TESPİTİNDE DNA TABANLI
ANALİZ YÖNTEMLERİNDEN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONUNUN (PZR) KULLANILMASI

AUTHORS: Zühal ALKAY

PAGES: 83-95

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/2538328>



HELAL VE HELAL OLMAYAN GIDA BİLEŞENLERİNİN TESPİTİNDE DNA TABANLI ANALİZ YÖNTEMLERİNDEN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONUNUN (PZR) KULLANILMASI

Zühal ALKAY

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Geliş tarihi: 14 Temmuz 2022
Düzeltilme tarihi: 13 Aralık 2022
Kabul tarihi: 16 Aralık 2022

Anahtar Kelimeler: Helal gıda, biyoteknoloji, PZR, taklit-tağış

ÖZET

Helal gıda ve kalitesi, Müslümanların günlük yaşamlarında büyük önem taşımaktadır. Helal gıdaların kullanımında karşılaşılan ana zorluklarından biri, gıda tağışının tespiti ve yasak bileşenlerin varlığının genellikle fark edilememesi veya çıplak gözle belirlenememesidir. Bu yüzden helal gıda ürünlerinin güvenilirliği konusunda endişelenen Müslüman tüketicilerin bilinçlenmesi ile gıdalarda yer alan bileşenlerin doğrulanmasında çeşitli yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. Gıda ürünlerinin helal uygunluk değerlendirilmesinin hızlı bir şekilde sağlanabilmesi için hassas, kullanımı kolay ve güvenilir yöntemler tercih edilmektedir. Bu tekniklerden en yaygın olanı, DNA analizlerinde kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemidir. Bu yöntemin analizlerde kullanılması da çok çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Bu derleme çalışmasında, gıda bileşenlerinin helal orijinli olup olmadıklarının belirlenmesinde kullanılan PZR tekniği ve yapılan son çalışmalar ele alınmıştır.

THE USE OF POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR), ONE OF THE DNA-BASED ANALYSIS METHODS IN THE DETECTION OF HALAL AND NON-HALAL FOOD COMPONENTS

ABSTRACT

Halal foods and their quality is of great importance in the daily lives of Muslims. One of the main challenges of halal foods is the detection of food adulteration and the presence of any of the prohibited ingredients which is often undetectable and undetectable with the naked eye. Therefore, thanks to the awareness of Muslim consumers who are concerned about the authenticity of food products, various methods have been used to verify the halal ingredients in the foods produced around the world. Sensitive, easy-to-use and reliable methods have been preferred to provide halal authentication of food products rapidly. The most common of these techniques is Polymerase Chain Reaction (PCR). This method provides several advantages. Consequently, the review deals with recent studies on the PCR technique used in the analysis of halal food authenticity.

Keywords: Halal food, biotechnology, PCR, adulteration

Sorumlu Yazar: Zühal ALKAY, E-mail: zuhalalkay21@hotmail.com, Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2420-3369>

1. Giriş

İnsan yaşamı için temel ihtiyaç kaynağı olan gıda, İslam alimleri arasında tartışılan konuların başında gelmektedir (Fadzlillah ve ark., 2011). Dolayısı ile gıda tüketiimi; kişisel, manevi kişilik ve ibadetler gibi birey üzerinde etkili olabilecek parametreler açısından incelenmesi gereken faktörlerin en önemlisini oluşturmaktadır (Mohd Riza ve ark., 2022). Son zamanlarda gıda üretime bakıldığı zaman modern bilim ve teknolojinin ilerlemesine dayalı olarak hazırlandığı görölmektedir. Gıda ürünlerinin üretiminde çeşitli kaynakların kullanıldığı ve bu kaynakların ilgili otoriteler tarafından kontrol edilerek ya izin verilmiş (helal) ya da yasaklanmış (haram) olduğu belirtilmektedir (Fadzlillah ve ark., 2011).

“Helal” kavramı, İslam hukukuna göre Müslümanlar tarafından tüketilmesine izin verilen, şer’i Kanunlar olarak bilinen ve herhangi bir ürünle ilişkilendirilen Arapça bir terim olarak karşımıza çıkmaktadır (Sudjadi ve ark., 2016) ve kutsal kitap olan Kuran-ı Kerim’de yer alan bir ayetten (Bakara süresi, 168) türetildiği görölmektedir. Bu ayet Halalan Tayyiban kavramını vurgulamaktadır. Tayyiban kelimesi, sağlıklı, saf, temiz ve besleyici anlamlarını ifade eden tayyib kökünden gelmektedir ve kavramsal olarak bütönlük kavramını desteklemektedir (Shuhaimi ve ark., 2022). Günümüzde dini inançlar ve yaşam felsefesi gibi faktörlerin tüketicilerin gıda tüketimi üzerinde kısıtlayıcı bir etkiye sahip olduğu bahsedilir (Karahalil, 2020). Bu yüzden İslam’da iki önemli dini metin olan Kuran (İslam’ın Kutsal Kitabı) ve Hadis, gıda tüketim tercihlerinin belirlenmesinde önem arz edip, insanlara haram (yasak) olmadığı sürece istedikleri her şeyi yiyip içmeleri konusunda seçme özgürlüğu getirmiştir

(Karahalil, 2020; Nugraha, 2015). Bu yönlendirmeler Müslümanların yaşam tarzlarını, ekonomisini, kültürünü, diyetlerini, sağlık sorunlarını etkilemektedir. Bu sayılan parametrelerin tümü yiyecek seçimlerinde belirleyici etkenler olmaktadır (Mortas ve ark., 2022). Dolayısı ile bu etkenler göz önüne alındığında toplum sağlığı, geleceği, göreneği, dini inancı ve yaşam şekli gereği tüketecek oldukları gıda ürünlerinin başında gelen et ve et ürünlerinin kökenini bilmek istemesi uzun yıllardan beri gıda bilimcilerinin başlıca araştırma konularından birisi olmuştur. Özellikle Müslüman tüketicilerde domuz eti ve domuz türevlerinin işlenmiş gıdalarda kullanılıp kullanılmadığı şüphesi oluşmuştur. Bu da son yıllarda helal beslenme bilincinin gelişmesini ve yaygınlaşmasını sağlamıştır (Batu, 2013). Bunun için gıda ürünlerinin helal uygunluk değerlendirme yöntemleri, tüketicilerin korunması açısından büyük önem taşımaktadır (Lubis ve ark., 2016). Bu yüzden et türlerinin helal uygunluğunun tespiti amacıyla çeşitli biyoteknolojik yöntemler (morfolojik, immünolojik, serolojik ve bazı moleküler metotlar) geliştirilmiştir. Ayrıca, yağ dokunun fiziksel özellikleri gibi histolojik yöntemlerin yanında sarkoplazmik proteinlerin elektroforetik yapı analizi, DNA (Deoksiribo nükleik asit) hibridizasyonu ve PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) tekniği de geliştirilmiştir (Batu, 2013). Bu amaçla bu derleme, bazı gıda ürünlerinin İslamda helal ve haram kavramları ve DNA tabanlı tespit yöntemlerinden PZR'nin kullanılması ile ilgili olarak son zamanlarda rapor edilen bazı çalışmalara odaklanmıştır.

2. İslamda Helal ve Haram Kavramları

Gıda endüstrisinin ulaştığı teknolojik seviye ile son yıllarda gıda ürünlerinin çeşitlenmesi, genetiği değerştirilmiş gıdalar, gıda katkı maddelerinin kaynağı ve çeşitliliği

arttırılmıştır. Bunun yanı sıra uluslararası ticaret ve refah seviyesinin artmasına bağlı olarak gıdaya olan ulaşım imkânları gelişmiştir. Bu da gıdaların helallii konusunu geçmişe göre daha karmaşık hale getirmiştir (Yetim ve Türker, 2020). Bu yüzden tüketicilerin ürün tercihlerinde en doğru kararı verebilmesi için kendi kriterlerine göre hiçbir belirsizliğin olmaması, var olan belirsizliklerin de giderilmesini istemeleri onların en doğal hakkı olmaktadır (Batu, 2012). Bu nedenle İslam hukukunda Müslümanlar, tüketiciler gıda kaynaklarının caiz olmasının önemi üzerinde durmaktadırlar. Bunun nedeni, gıda tüketicilerinin insan sağlığı ve davranışı üzerinde önemli etkilere sahip olmasıdır. Bu yüzden haram gıda ürünlerinin tketicilmesi Kuran'da, sünnet ve Müslüman hukukçuların icma'sında açıkça yasaklanmıştır. Ayrıca haram maddelerin yenmesi ve gıda ürünlerinde katkı maddesi olarak bu haram maddelerin kullanılması da yasaktır. Bunlar, Kuran'ın birçok ayetinde yer almaktadır. Müslümanlar için haram kabul edilen et çeşidi olan domuz eti/türevlerini yemeleri ise günah olduğu için yasaklanmıştır. Bu hükümler, İslam hukuku ve tüm insanlık için rehber olmaktadır (Fadzillillah ve ark., 2011).

3. Helal Gıda Pazarı

Müslüman nüfusun yaklaşık 1.7 milyar kişiye sahip olmasına (dünya nüfusunun %20'sinden fazlası Müslüman) paralel olarak helal gıda talebinde son zamanlarda artış sağlanmıştır. Dünya çapında helal gıda pazarının yaklaşık 2.1 trilyon ABD doları olduğu tahmin edilmektedir (Ahmad ve ark., 2013). Helal gıda ürünlerinin küresel ticaretinin yaklaşık 80 milyar ABD doları veya tarımsal gıda ürünlerindeki toplam ticaretin ise yaklaşık %12'si olduğu tahmin edilmektedir (Batu ve ark., 2015). Bu yüzden helal gereksinimleri karşılayan gıdalar, küresel gıda pazarında önemli ekonomik paya sahiptir. Dünya nüfusunun yaklaşık

%25'ini oluşturan Müslüman toplulukların nüfus artışı dikkate alındığında helal sertifikalı olan gıdaya olan talepte artışın devam edeceği öngörülmektedir (Karahalil, 2020). Son zamanlarda helal sertifikalı gıda tüketicilerinin özellikle Müslümanlar arasında artmasından dolayı küresel helal gıda pazarı büyük bir potansiyele sahip (Asya'dan Orta Doğu, Afrika, Avrupa ve Amerika'ya kadar her kıtada hızla ilerlemesi nedeniyle) olmuştur (Ng ve ark., 2022). Küresel helal pazar tüketicilerinin 2.6 trilyon ABD Dolarına ulaştığı yapılan çalışmalarda kaydedilmiş olup (Fathurrohman, 2022), bu miktarın 2050 yılına kadar 15.000 milyar ABD Dolarına ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bu, otomatik olarak dünya çapında 50'den fazla ülkede potansiyel ve kazançlı bir helal pazar yaratacağı anlamına gelmektedir (Ng ve ark., 2022). Pew Araştırma Merkezi, küresel Müslüman nüfusun 2030 yılına kadar 2.2 milyara ulaşacağını ve böylece Müslüman lkelere GSYİH'sinin (Gayri Safi Yurt İçi Hasıla) küresel Batı'dan daha hızlı arttığı gerçeğini kanıtlayacağını belirtmiştir. Günümüzde helal gıda endüstrisi, resmi olarak yılda 580 milyar ABD Doları değerinde olup, dünya çapında bir pazar olarak listelenmektedir (Ng ve ark., 2022). Bu pazarda helallik ilkesi önem arz eder ve bu prensip, insanların sağlığı ve sıhhatini geliştirmek için yiyecek ve içeceklerin sağlığı ve temizliğini vurgulayan İslami kurallar üzerine kuruludur. Ayrıca bu ilke, gıdalarının yönetimi ve sürdürülebilirliğini önemseyen gayrimüslim tüketicilere, özellikle de organik gıda taraftarlarına da hitap etmektedir (Lubis ve ark., 2016).

4. Gıda rnlerinin İslami Açıdan Ele Alınması

4.1. Peynir

Peynir için önemli olan kritik noktalardan biri ham madde olmaktadır. Peynir retiminde kullanılan süt, hayvansal veya bitki-

sel kaynaklardan gelebilmektedir. Dolayısıyla peynirin helal olarak değerlendirilmesi için kullanılan sütün çeşidi de önem arz etmektedir. Burada ifade edilen helal uygunluk, ancak soya fasulyesi gibi helal bitkilerden elde edilen sütün kullanıldığında mümkün olabilmektedir. Kullanılan sütün, hayvansal kaynaklardan gelmesi durumunda ise kontrol edilmesi gerekmektedir. Fakat inek, keçi, manda, deve veya koyun gibi hayvanların sütleri helal olmaktadır (Faridah ve Sari, 2019). Peynir yapım süreci için en önemli nokta pıhtılaşma aşamasıdır. Pıhtılaşma aşamasında enzimatik yöntem için, rennin (rennet) enzimi kullanılır. Peynir mayası üreten hayvanlar helal olmayan hayvanlardan olabileceği için bu risk oluşturmaktadır. Diğer bir risk ise, peynir mayası üreten hayvanlar helal olsa da, bu hayvanların kesim şeklinin İslam Kanununa göre yapılmaması olacaktır (Fathurrohım, 2022). Bu yüzden Müslüman tüketici üretilen ürünlerin, işleme aşamasından son aşamasına kadar helallığı göz önünde bulundurmalı ve helal rennet kullanımına dikkat etmesi gerekmektedir (Nugraha, 2015). Peynir üretimi için önemli olan bir diğer faktör, mikrobiyolojik yöntemdir. Peynir üretiminde bazen biyo-koruyucu olarak laktik asit bakterileri (LAB) kullanılabilir. Bu aşamadaki en büyük risk ise LAB gelişimi için kullanılan besiyeri olmaktadır. Çünkü LAB geliştirmek için kullanılan besiyerinde maya özütü bulunabilmektedir. Dolayısıyla maya özütü, bira işlenmesinden oluşan bir yan ürün olmasından dolayı bir risk oluşturabilmekte ve helal olarak kabul edilmektedir (Fathurrohım, 2022).

4.2. Yoğurt

Streptococcus thermophilus ve *Lactobacillus bulgaricus* laktik asit bakteri suşlarının kullanılması ile elde edilen fermente edilmiş ve işlenmiş ürün ‘yoğurt’ olarak tanımlanmaktadır (Fathurrohım, 2022). Amen ve ark. göre, (2020) yoğurt yapma sürecinde üç önemli kritik nokta mevcuttur.

- ✓ Bunların ilk aşamasını; süt, yağsız süt tozu, kazein ve peynir altı suyu eklenme süreci oluşturur. Kullanılan sütün, yağsız tozunun ve peynir altı suyunun helal kategoride olmayan hayvan türlerinden elde edilme riski önem arz eder.
- ✓ İkinci önemli nokta, yoğurt oluşumunda kullanılan bakterilerin üretimi veya çoğaltılması (gelişimi) sırasında kullanılan besiyerlerdir. Bu besiyerler, helal olmayan maddeler içerebilmektedir.
- ✓ Üçüncü kritik nokta ise, içeriği net olmayan gıda katkı maddelerinin eklenmesi sürecidir (Fathurrohım, 2022).

Ek olarak, jelatin, emülgatörler, renklendiriciler, stabilizatörler ve enzimler gibi diğer bileşenler de genellikle istenilen dokuyu, rengi üretmek ve raf ömrünü uzatmak için süte eklenebilir. Diğer tüm bileşenlerin helal kaynaklardan elde edilmesi şartıyla, oluşan süt ürünü helal kabul edilir (Lubis ve ark., 2016).

4.3. Et ve hayvansal gıdalar

Dünyadaki birçok Müslümana habersiz olarak çok sayıda domuz/domuz türevleri ile muamele edilmiş gıdalar tüketirebilmektedir. Fakat bu çok ciddi bir sorun olmasına rağmen dikkate alınmamaktadır. Bu işlevlerden dolayı, Müslüman bir annen baba masum çocuğunu herhangi bir haram madde tüketiminden korumak için çaba sarf etmektedir (Batu, 2013). Bu yüzden modern Müslüman Türk toplumu için et bazlı ürünlerin orijinallığı ve izlenebilirliği önemli konular arasında yer almaktadır. Bunun yanı sıra, gıda endüstrisinde düzenleyiciler, üreticiler ve tüketiciler dâhil tüm taraflar için en önemli konuların başında gelmektedir. Köfte gibi et ürünleri, insan vücudunun ihtiyaç duyduğu protein kaynakları olarak bilinmektedir. Ayrıca, lezzet açısından kabul edilebilirliği nedeniyle insanlar için önemli bir diyet kaynağı haline

gelmiştir. Bu yüzden FAO-UN, et ve et bazlı gıda ürünlerine duyulan ihtiya n hızla arttığını bildirmiştir. Helal olmayan domuz eti ile helal olan sığır eti arasında fiyat farkının bulunmasından dolayı ve ekonomik kazanç motivasyonundan ötürü bazı köfte üreticileri helal sığır etini, domuz eti ile karıştırmaya/ ikame etmeye çalışmaktadır. Fakat bu ikame eylemi hem ekonomik yönden hem de dini nedenlerle yasaklanmıştır (Orbayinah ve ark., 2019).

Müslümanlar için domuz eti, domuz yağı ve bunların her türlü yan ürünlerinin t ke-tilmesi haram sayılmaktadır (Tayar ve Doğan, 2019). Bu yüzden, helal gıdalara domuzdan ge ebilece  çapraz kontaminasyon ihtimali tamamen önlenmelidir. Bunun yanı sıra bu ürünlerin satılmaması, taşınmaması veya hiçbir şekilde kullanılmaması gerekmektedir (Atasever ve Alişarlı, 2020). İşlam'da izin verilen et  eşitleri, keçi, koyun, sığır, manda ve deve gibi evcil hayvanlardan elde edilen etlerdir (Tayar ve Doğan, 2019). Bunların yanı sıra tavuk, ördek, hindi, güvercin ve bıldırcın gibi kuşlara izin verilirken, kartal, şahin ve akbaba gibi keskin pençeli av kuşlarına izin verilmemektedir (Lubis ve ark., 2016; Keskin, 2007). İzin verilen hayvan uygun kesildiği zaman ve kesim yeri domuz eti veya türevleri ile kontamine olmadığı sürece bu hayvandan elde edilen etin helal olduğu değerlendirilmiştir. Bunun yanı sıra etin çeşitli işlemlere tabi tutulması ile orijinal tadında, yapısında ve dokusunda değişiklikler meydana gelebilmektedir. Ek olarak, etin işlenmesi sırasında, etin, domuz eti gibi daha ucuz ve daha kolay bulunabilen alternatif etlerle karıştırılması veya ikame edilmesiyle tağışış meydana gelebilmektedir (Lubis ve ark., 2016).

Bir diğer önemli hayvansal gıda kaynağını balık ve deniz ürünleri oluşturmaktadır. Genel olarak, Müslümanların tüketimi için yumuşakçalar ve kabuklular gibi balıklar

ve deniz ürünlerinin helal olduğu kaydedilmiştir (Hassan ve Lewis, 2014; Khattak ve ark., 2011).

4.4. İçecekler ve alkol içeren yiyecekler

Kuran ve Peygamberimizin (s.a.v) hadislerini baz alan İşlam Hukuku'na göre, alkollü içecekler de dahil olmak üzere tüm sarhoş edici maddeler yasaklanmıştır (Lubis ve ark., 2016). Kuran'da alkol için kullanılan "hamr" terimi Arapça, "fermente edilmiş" anlamına gelmektedir. Bu hem şarap, bira, viski ve brendi gibi alkollü içecekler hem de sarhoş edici veya kişinin düşünce sürecini etkileyen her şeyi ifade etmektedir (Regenstein ve ark., 2003). Bunu açıklayan umum  hadiste, " ok a içildiğinde sarhoş eden şeyin az miktarda tüketilmesi de haramdır" buyurulmuştur (Eb  Dâvud, "Eř-ribe", 5; Tirmizî, "Eşribe", 2; İbn Mâce, "Eşribe", 10; Nesâî, "Eşribe", 25).

5. Helal Gıda Analizinde Modern Biyoteknolojik Yaklaşım Olarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Gıda endüstrisinde şeffaflığa yönelik olan talep yüksek olmaktadır. Bu yüzden, gıda bileşenlerinin analizi için yöntemlerin geliştirilmesi hızlandırılmıştır. Fakat son zamanlarda gıda endüstrisinde helal uygunluk, büyük bir endişe kaynağı haline gelmiştir. Bu yüzden gıda üretimlerinde haram madde bileşenlerinin karıştırılmasıyla ilgili dünya çapında birçok çalışma rapor edilmiştir. Ayrıca, modern bilim ve teknolojinin gelişmesiyle birlikte Müslüman tüketiciler arasında gıdaların birçok işlemden geçirilip dünyanın farklı bölgelerine taşınması endişe uyandırmıştır. Bunun yanı sıra işlenmiş gıdaların haram madde içerip içermediği konusu merak edilmiştir (Fadzillillah ve ark., 2011). Bu yüzden biyoteknolojinin gelişmesiyle birlikte, helal analiz veya domuz türevlerinin tespiti için kullanılan teknikler önem kazanmıştır. Hızlı, sağlam ve

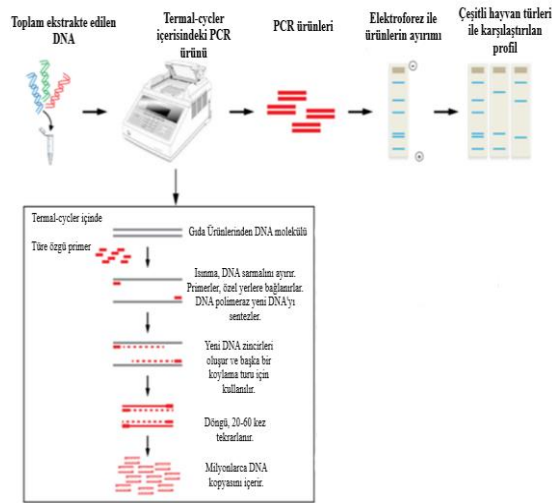
güvenilir tespit sağlamasından dolayı yüksek teknolojik analitik ekipmanların kullanımında artış yaşanmıştır (Lubis ve ark., 2016).

Biyoteknolojiye katkı sunan teknikler arasında biyokimya, hücre biyolojisi, mikrobiyoloji, genetik, moleküler biyoloji, immünoloji, kimya mühendisliği ve çalışmalarını biyoinformatik alanına genişleten bi-lişim yer almaktadır (Fathurrohman, 2022). Genel olarak biyoteknolojik uygulamaların insan refahını yükselttiği ve istenmeyen durumları/hastalıkları ortadan kaldırmaya yardımcı olduğu kabul edilmektedir. Biyoteknolojinin bu tür olumlu faydaları, İslam inancına göre biyoteknolojinin kullanımını zorunlu hale getirebilmektedir (Karahalil, 2020). Bu yüzden gıda ürünlerindeki hayvan türlerini tespit etmek için önem arz eden helal doğrulama için çeşitli analitik yöntemler kullanılmıştır (Atasever ve Alişarlı, 2020) ve halihazırda, gıdalardaki kontaminasyonu tespit etmek veya hayvan türlerini belirlemek için birçok teknik uygulanmaktadır (Zia ve ark., 2020). Bunlara multispektral görüntüleme (Feng ve ark., 2018), spektroskopi (Bilge ve ark., 2016), yakın kızılötesi spektroskopi (Pieszczyk ve ark., 2018), Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (Rohman, 2019), kromatografi (Fornal ve Montowska, 2019), immüno-lojik testler (Hendrickson ve ark., 2021), polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) (Ilhak ve Arslan, 2007), gerçek zamanlı PZR (RT-PZR) (Okuma ve Hellberg, 2015), dijital PZR (Ren ve ark., 2017), döngü aracılı izotermal amplifikasyon (Ahmed ve ark., 2010), yüksek çözünürlüklü erime analizi (HRMA) (Lopez-Oceja ve ark., 2017) ve biyosensörler dahildir (Zhang ve diğerleri, 2019; Denyinghot ve ark., 2022). Bu tekniklerden gerçek zamanlı PZR analizleri ve türe özgü primerler ile güvenilir sonuçların alındığı belirtilmektedir (Batu, 2013).

5.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), spesifik oligonükleotitlerin (bir hedef DNA) hibridizasyonuna ve bunların sentezine dayanan bir tekniktir (Mortas ve ark., 2022). DNA içeren herhangi bir uygun örneğin tanımlanmasını sağlar. Ayrıca, DNA dizi verileri protein testlerinden daha fazla bilgi sağlayabilmektedir. DNA tabanlı teknikler arasında yer alan PZR’da, türe özgü PZR primerleri (çok küçük DNA miktarlarını tespit etmek için) kullanılmaktadır. Bu teknik kullanılan en yaygın yaklaşım olarak değerlendirilmekte ve gıda ürünlerinde türe özgü genetik materyallerin varlığını belirlemektedir (Mafra ve ark., 2007). Yüksek özgüllüklere ve duyarlılıklara sahip olmaları nedeniyle birkaç PZR tabanlı yöntem önerilmiştir. Bu yaklaşımlar, kalitatif PZR (konvansiyonel PZR), kısıtlama fragman uzunluğu polimorfizmlerinin (RFLP) tespiti ve gerçek zamanlı PZR veya kantitatif PZR’yi içerir (Popping, 2002). PZR, anlaşılması ve kullanılması basit bir tekniktir ve hızlı sonuçlar vermesinin yanı sıra oldukça hassastır. Ayrıca dizileme, klonlama ve analizde kullanım için belirli bir ürünün birden fazla kopyasını üretme potansiyeline sahiptir (Erwanto ve ark., 2018). PZR aşamaları **Şekil 1’de** gösterilmiştir. Kısaca açıklamak gerekirse PZR; **denatürasyon, yapışma ve uzama** olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Denatürasyon sırasında yüksek sıcaklıkta bir inkübasyon sağlanarak, çift sarmallı olan DNA’yı tek sarmal haline getirtir ve tek sarmallı DNA’daki ikincil yapıyı gevşetir. PZR aşamasında kullanılan DNA polimeraz enziminin dayanabileceği en yüksek sıcaklık ise yaklaşık 95°C olmaktadır. Eğer DNA örneğinin GC (Guanin Sitozin) içeriği yüksek ise denatürasyon süresi arttırılmalıdır. Yapışma aşamasında ise tamamlayıcı diziler hibritleşmektedir. Bu yüzden reaksiyonda kullanılan sıcaklık, primerle-

rin (primer Tm'nin 5°C altında) hesaplanan erime sıcaklığına (Tm) dayanmaktadır. Yapışma esnasında primerler, DNA örneğinin yapışmasına olanak sağlar. Bunun için sıcaklık genellikle 45–60°C'ye kadar düşürülür. Yapışma sıcaklığının uygun olmaması durumunda ise primer template DNA etki-leşimi engellenir. Bu koşullar göz önüne alındığında sıcaklığın optimize edilmesi gerektiği kaydedilmiştir. Son aşama olan uzama esnasında ise, DNA polimeraz akti-vitesini maksimize etmek için reaksiyon sı-caklığı 70-72°C olmaktadır. Bu, primer uzantısının saniyede yaklaşık 100 baz hı-zında ilerlemesine izin verir. Gerçek za-manlı PZR ile amplifikasyon için hedef di-zinin kısa olması durumunda yapışma ve uzama adımları genellikle birleştirilir ve reaksiyon sıcaklığı 60°C olmaktadır (Erwanto ve ark., 2018).



Şekil 1. Polimeraz zincir reaksiyonu (Lubis ve ark., 2016). (PZR hazırlanmadan önce gıda örneklerinden DNA ekstrakte edilir. DNA, PCR için template olarak kullanılır ve türe özgü primerler ve DNA polimeraz ile termal-cycler ci-hazına yerleştirilir. Isınma ile DNA ayrılır ve primerlerin hedef bölgeye bağlanmasını sağlar. DNA polimeraz, zincir reaksiyonunu içeren ilerideki kopyalama turu için template olarak kullanılan yeni DNA zincirlerini sentezler. DNA template, milyonlarca DNA kopyasını oluşturur).

6. Güncel Literatür

Son zamanlarda helal sertifikalı gıdaya olan talebin artması, helal gıda miktarının ve kalitesinin artırılmasına ve geliştirilme-sine olanak sağlamıştır (Fathurrohman, 2022). Bu nedenle gerçek zamanlı PZR gibi tekniklerin kullanımı, helal gıdanın doğrulanmasında önemli olmaktadır. Yapı-lan bazı çalışmalarda PZR tekniği ile hay-yan türlerinin tespit edilmesinin protein bazlı yöntemlere nazaran oldukça spesifik, duyarlı ve kullanışlı olduğunu göstermiştir. Bu amaçla literatürde domuz, at ve diğer uygun olmayan etlerde helal uygunluk de-ğerlendirmesinin yapılması için PZR ta-banlı tespit yöntemi hakkında yayınlanmış birkaç çalışma bulunmaktadır (Mortas ve ark., 2022).

Kang ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada, gerçek zamanlı PZR'nin domuz jelatinin tespitinde başarılı olduğunu belirtmiş ve bu işlemi, saf numunelerde ve katkılı ramen stok tozunun karışımlarında kullanmıştır. Bu da, PZR'nin tekrarlanabilir olduğunu ve güvenilir bir tanımlama sağladığını göster-mektedir.

Denyingyhot ve ark., (2022) çalışmaları-rında helal olduğu onaylanan gıdalarda, he-lal olmayan 5 hayvandan (maymunlar, kö-pekerler, sıçanlar, domuzlar ve kediler) kon-tamine olan ürünleri belirlemek için PZR kullanmıştır. Bu yüzden helal olmayan her hayvanın mitokondriyal genlerinden ör-nekler alınarak bunlar için türe özgü modi-fiye primerler kullanılmıştır. Seçilen pri-merlerin, helal olmayan her hayvan için yüksek özgüllük gösterdiği ve amplifikas-yondan sonra elde edilen PZR ürünlerinin ise DNA şeridi kullanılarak tespit edilebil-diği belirtilmiştir. Tespit sınırının 0.01 ppm ile 1 ppm arasında olduğu (köpekler, 1 ppm; kediler, 0.1 ppm; domuzlar, 0.01 ppm; maymunlar, 0.01 ppm ve sıçanlar, 0.01 ppm) vurgulanmıştır. 16 numunenin domuz DNA'sı ile kontamine olduğu, an-cak diğer helal olmayan hayvanların

DNA'sı ile kontaminasyonun bulunmadığı kaydedilmiştir. Bu nedenle, bu tekniğin, Tayland'daki helal ürünlerdeki helal olmayan hayvan kirleticilerinin yerinde izlenmesi için yüksek potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir.

Prachugsorn ve ark., (2022) çalışmalarında çiğ ve işlenmiş gıdalarda domuz DNA'sının çıplak gözle tespiti için taşınabilir bir led ışık kutusuna sahip floresan biyosensör ve doğrudan asimetric PZR geliştirmeyi amaçlamıştır. Çünkü doğrudan PZR kullanılması maliyet, zaman tasarrufu ve amplikon saptamada esneklik sağladığı belirtilmiştir. Dolayısı ile testin tekrarlanabilirliğini, özgüllüğünü ve duyarlılığını test etmişlerdir. Çalışmalarında en düşük saptama limitleri domuz DNA'sı için 0,01 ng olurken, ikili domuz-sığır eti karışımı için % 0,1 olmuştur.

Rokhim ve ark., (2021) moleküler teknolojiyi kullanarak UINSA bölgesindeki kantinlerde yer alan gıdalarda domuz DNA kontaminasyonunun olup-olmadığını belirlemiştir. PZR tekniğı kullanılarak toplamda 22 numune analiz edilmiştir. Analiz için DNA izolasyonu, elektroforez, PZR ve ardından jel elektroforezi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan primer ise geni, 149 bp DNA fragmanı üreten sitokrom b (cyt b) için kodlamayı gerçekleştirmiştir. Sonuçlarda, 22 gıda örneğinde domuz kontaminasyonunun olmadığı belirtilmiştir. Dolayısı ile UINSA çevresindeki gıda ürünlerinde domuz DNA kontaminantlarını tespit etmek için PZR yönteminin gıdaların helal tüketimi için güvenli olduğu sonucuna varılmıştır.

Rosman ve ark. (2016), PZR'nin çikolata-daki domuz yağı katkısını tespit etme yeteneğindeki eksikliklerin nedenini araştırmışlardır. Bu çalışmada şeker, süt tozu, kakao yağı ve kakao tozu gibi dört temel çikolata bileşeni, domuz yağı ile karıştırılmış ve PZR tekniğı kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlarda, domuz yağı ile karıştırılmış

çikolatadan domuz yağı DNA'sının çıkarılmasında kakao tozunun engelleyici olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca, PZR testinin literatürdeki gıdalarda domuz taşışını tespit etmede mükemmel sonuçlar sağladığı ve o gıdanın helal olup-olmadığını doğrulamak için potansiyel olarak güvenilir bir teknik olduğu gösterilmiştir (Mortas ve ark., 2022).

Gökmen, (2019) yaptığı çalışmada 2010 ve 2017 yılları arasında her yıl piyasadan rastgele aldığı 48'şer adet çiğ et, sucuk, salam, sosis örneğinde farklı et çeşitlerinin kullanılıp- kullanılmadığını incelemek için PZR ve ELİSA yöntemlerini kullanmıştır. Sonuç olarak kırmızı et örneklerinde at, eşek ve domuz etlerine rastlanmadığı belirtilmiştir. Fakat alınan numunelerin hijyen ve sanitasyon kurallarına uygun depolanmadığı kaydedilmiştir. Ek olarak sucuk, salam ve sosislerden alınan örneklerde de kanatlı etlere rastlanmadığı vurgulanmıştır.

Khatun ve ark., (2021) Bangladeş'te işlenmiş et ve süt ürünleri arasında etiket bilgilerinin doğruluğunu merak ettiklerinden ülkeye özgü bir rapor hazırlayarak et ve süt türlerinin tanımlanmasını araştırmıştır. Bunun için tavuk olarak etiketlenen et ürünleri (64; sosis, hamburger köftesi, köfte, kebab), Bangladeş'te yapılan ve denizasıri orijinli sığır eti ve Mozzarella tipi peynirler (25) tür tespiti için analiz edilmiştir. Türe özgü mitokondriyal sitokrom b (cyt b) gen primerleri ile iki dupleks PZR (sığır-manda ve tavuk-domuz) yöntemi uygulanmıştır. Bu tekniğın et ve süt ürünlerinde tür tanımlaması için doğru olduğu kaydedilmiştir. Bangladeş menşeli sığır etiketli ürünlerin manda eti ile karıştırıldığı belirtilmiştir. Ayrıca, sığır olarak beyan edilen peynir örneklerinin manda DNA'sı içerdiği ve ithal edilen altı peynir örneğinde sığır veya manda DNA'sına rastlanmadığı tespit edilmiştir. Örnekler domuz DNA'sı içermediğı için tüm et ve peynir ürünleri helal olarak değerlendirilmiştir.

Kamandi ve ark., (2022) Tahran pazarlarından 30 adet jöle ürünü numunesi toplayıp, jelatin kaynağını belirlemek için moleküler tanımlamayı kullanarak test etmişlerdir. Sanayide kullanılan jelatin esas olarak sığır ve domuz türlerinden üretilmektedir. Dolayısı ile jelatinin yapısında bulunan türlerin tespiti önemli olmaktadır. Çünkü bu tespit, dini inançların yanı sıra hem gıda güvenliği açısından hem de tüketicinin sağlığı için gerekli olmaktadır. Bunun için domuz türlerini saptamak için 277 bp domuz D-loop bölgelerini hedefleyen türe özgü bir PZR reaksiyonu kullanılmıştır. Ürünlerin hiçbirinin domuz jelatini içermediği tespit edilmiştir. Bu nedenle, bu kalitatif PZR analizinin, gıda ürünlerindeki jelatin türlerinin kökenini izlemek için yararlı ve etkili bir yöntem olduğu vurgulanmıştır. Bu analiz yönteminin jelatin içindeki domuz DNA'sını ve helal uygunluk değerlendirme yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir.

Sultana ve ark., (2020) tek bir test platformunda sığır, domuz ve balık jelatin türlerini ayırt etmek için TaqMan probu kullanarak multipleks kantitatif PZR (qPCR) testini uygulamışlardır. Kullanılan test, sığır, domuz ve balıklara özgüdür ve jelatinle karıştırılmış domuz türü saptama sınırının, 0.005 ng/μL olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak, 35 örnekten sadece ikisinin domuz türleri için pozitif olduğu saptanmıştır.

Muin ve ark., (2019) tarafından geleneksel PZR tekniği ve Domuz gen çipi (OliproTM, Selangor, MY) kullanılmış olup, bu iki tekniğin duyarlılığı karşılaştırılmıştır. Farklı yüzdelerde domuz jelatini (1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01 ve %0 w/w) eklenmiş ve daha sonra iki farklı şekilde pişirilmiş (buharda pişirilmiş ve fırınlanmış) 15 adet muffinden oluşan deneysel numuneler, jelatin içindeki domuz DNA'sının varlığı açısından analiz edilmiştir. Bu çalışmada hem Domuz gen çipi hem de PZR analizi, sitokrom b (cyt b) genini hedeflemiştir. Gen çipi tekniğinin kullanılması ile muffin örnek-

rinde bulunan domuz DNA'sı %73 oranında bulunurken, bu oran PZR tekniğinde %53 olmuştur.

Guo ve ark., (2018) süt ve süt ürünlerinde sığır ve at DNA'sının tanımlanması için gerçek zamanlı PZR analizini (türe özgü TaqMan problemlerine dayalı) uygulamışlardır. Sığır ve at DNA'sı, geliştirilmiş primerler ve problemler kullanılarak spesifik olarak tanımlanmıştır. Bu yöntemin tespit limitleri sırasıyla; inek sütü, yoğurt ve kısrak sütü için 0.001 ng, ekşi çorba ve kıyma için 0.005 ng olarak bulunmuştur.

7. Sonuç ve Öneriler

Müslüman tüketiciler için gıda üretiminde kullanılan bileşenler büyük önem taşımaktadır. Bu bileşenlerin moleküler olarak tespiti hem insan sağlığı hem de dini kaygıların giderilmesinde yardımcı olmaktadır. Moleküler analizlerde kullanılan PZR, türlerin tanımlanması için güvenilir, hızlı, hassas ve spesifik bir yaklaşım sunar. Çünkü DNA, bir organizmanın tüm hücre tiplerinde aynı bilgileri taşır. Ayrıca DNA, işlenmiş ve ısıtılmış gıdaları analiz etmek için kullanılabilen kararlı bir moleküldür. Dolayısı ile PZR yaklaşımının, gıdaların orijinalliğini doğrulamak için ve gıda ürünlerindeki DNA'ların varlığını tespit etmek için uygun olduğu söylenebilir.

Teşekkür

Desteklerinden ötürü Prof. Dr. Hasan Yetim'e teşekkür ederim.

8. Kaynaklar

Ahmad, N. B., Abaidah, T. B. T., and Abu-Yahya, M. B., (2013). A study on halal food awareness among Muslim customers in Klang Valley. 4th International conference on business and economic research (4TH ICBER 2013) Proceeding, 04-05 March. Bandung, Indonesia.

- Ahmed, M. U., Hasan, Q., Hossain, M. M., Saito, M., & Tamiya, E. (2010). Meat species identification based on the loop mediated isothermal amplification and electrochemical DNA sensor. *Food Control*, 21(5), 599–605.
- Amen, O., Jumiono, A., & Fulazzaky, M. A. (2020). Penjaminan Mutu Dan Kehalalan Produk Olahan Susu. *Jurnal Ilmiah Pangan Halal*, 2(1), 42-48.
- Atasever, M., & Alişarlı, M. (2020). Helâl Gıda. *Academic Platform Journal of Halal Life Style*, 2(2), 95-101.
- Batu, A. (2012). Helal (Mahzursuz) gıda belgelendirmesindeki sorunlar ve çözüm önerileri. *Electronic Journal of Food Technologies*, 7(2), 60-75.
- Batu, A. 2013. Helal Gıda Ürünlerinde Domuz Türevleri ve Belirleme Yöntemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 8(3): 22-33.
- Batu, A., Regenstein, J. M., & Dogan, I. S. (2015). Gelatin Issues In Halal Food Processing For Muslim Societies. *Electronic Turkish Studies*, 10(14).
- Denyingyhot, A., Srinulgray, T., Mahamad, P., Ruangprach, A., Sa, S., Saerae, T., ... & Keeratipibul, S. (2022). Modern on-site tool for monitoring contamination of halal meat with products from five non-halal animals using multiplex polymerase chain reaction coupled with DNA strip. *Food Control*, 132, 108540.
- Ebû Dâvud, “Eşribe”, 5; Tirmizî, “Eşribe”, 2; İbn Mâce, “Eşribe”, 10; Nesâî, “Eşribe”, 25.
- Erwanto, Y., Rohman, A., Arsyanti, L., & Pranoto, Y. (2018). Identification of pig DNA in food products using polymerase chain reaction (PCR) for halal authentication-a review. *International Food Research Journal*, 25(4), 1322-1331.
- Fadzillillah, N. A., Man, Y. B. C., Jamaludin, M. A., Rahman, S. A., & Al-Kahtani, H. A. (2011). Halal food issues from Islamic and modern science perspectives. In *2nd international conference on humanities, historical and social sciences* (Vol. 17, pp. 159-163). Singapore: IACSIT Press.
- Faridah HD dan Sari SK. (2019). Pemanfaatan Mikroorganisme dalam Pengembangan Makanan Halal Berbasis Bioteknologi. *Journal of Halal Product and Research*. Vol 2, No. 1. pp: 33 -33.
- Fathurrohman, M. F. (2022). Narrative Review: Study Of Microbial-Based Tipping Points As Halal Food Products. *International Journal Mathla'ul Anwar of Halal Issues*, 2(1), 1-5.
- Feng, C.-H., Makino, Y., Oshita, S., & Martín, J. F. G. (2018). Hyperspectral imaging and multispectral imaging as the novel techniques for detecting defects in raw and processed meat products: Current state-of-the-art research advances. *Food Control*, 84, 165–176.
- Fornal, E., & Montowska, M. (2019). Species-specific peptide-based liquid chromatography–mass spectrometry monitoring of three poultry species in processed meat products. *Food Chemistry*, 283, 489–498.
- Gökmen, S (2019). Muş ilinde bazı et ve et ürünlerinin güvenilirliği üzerine bir araştırma. *Journal of Health Sciences and Medicine*, 2(1), 9-12.
- Guo, L., Qian, J. P., Guo, Y. S., Hai, X., Liu, G. Q., Luo, J. X., & Ya, M. (2018).

Simultaneous identification of bovine and equine DNA in milks and dairy products inferred from triplex TaqMan real-time PCR technique. *Journal of dairy science*, 101(8), 6776-6786.

Hassan, M. K., & Lewis, M. K. (Eds.). (2014). *Handbook on Islam and economic life*. Edward Elgar Publishing.

Hendrickson, O. D., Zvereva, E. A., Vostrikova, N. L., Chernukha, I. M., Dzantiev, B. B., & Zherdev, A. V. (2021). Lateral flow immunoassay for sensitive detection of undeclared chicken meat in meat products. *Food Chemistry*, 344, Article 128598.

Ilhak, O. I., & Arslan, A. (2007). Identification of meat species by polymerase chain reaction (PCR) technique. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 31(3), 159–163.

Kamandi, N., Ghobadi Dana, M., & Ghamami, M. (2022). Molecular Identification of Gelatin Origin in Pastilles and Jelly Products Collected from Tehran Markets. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 12(1), 11-18.

Kang, S. S. N., Lee, H. G., & Kim, H. (2018). Development and comparison of a porcine gelatin detection system targeting mitochondrial markers for halal authentication. *LWT*, 97, 697–702.

Karahalil, E. (2020). Principles of halal-compliant fermentations: Microbial alternatives for the halal food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 1-9.

Keskin, Y. Z. (2007). Hadislere göre avcılık ve avlanma esasları. *Hadis Tetkikleri Dergisi*, 5(1), 33-48.

Khattak, J. Z. K., Mir, A., Anwar, Z., Abbas, G., Khattak, H. Z. K., & Ismatullah, H. (2011). Concept of halal food and biotechnology. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(5), 385-389.

Khatun M. S., Hossain, A., Hossain, M. S., Munshi, M. K., & Huque, R. (2021). Detection of species adulteration in meat products and Mozzarella-type cheeses using duplex PCR of mitochondrial cyt b gene: A food safety concern in Bangladesh. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 2, 100017.

Lopez-Oceja, A., Nunez, ~ C., Baeta, M., Gamarra, D., & De Pancorbo, M. (2017). Species identification in meat products: A new screening method based on high resolution melting analysis of cyt b gene. *Food Chemistry*, 237, 701–706.

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.

Mafra, I., Ferreira, I. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2008). Food authentication by PCR-based methods. *European Food Research and Technology*, 227(3), 649-665.

Mohd Riza, N. S., Md Ariffin, M. F., Hamdan, M. N., & Ramli, N. (2022). Halal food: a social responsibility on cartel meat issue in Malaysia. *Food Research*, 6(3), 92-100.

Mortas, M., Awad, N., & Ayvaz, H. (2022). Adulteration detection technologies used for halal/kosher food products: an overview. *Discover Food*, 2(1), 1-23.

Muin, N. M., Abd Mutalib, S. A. H. I. L. A. H., Elias, A., Sani, N. A., Abdullah, A.,

- Sedek, R., & Kashim, I. A. M. (2019). Detection Of Porcine Dna In Gelatin Containing Muffins Using Porcine Gene Chiptm Analysis. *Malaysian Applied Biology*, 48(2), 125-130.
- Ng, P. C., Ahmad Ruslan, N. A. S., Chin, L. X., Ahmad, M., Abu Hanifah, S., Abdullah, Z., & Khor, S. M. (2022). Recent advances in halal food authentication: Challenges and strategies. *Journal of Food Science*, 87(1), 8-35.
- Nugraha, W. T. (2015). Development of Halal Goat Cheese using Rennet Like from Vegetable Source to Replace Commercial Rennet Source. In *International Seminar on Tropical Animal Production (IS-TAP)* (pp. 733-737).
- Okuma, T. A., & Hellberg, R. S. (2015). Identification of meat species in pet foods using a real-time polymerase chain reaction (PCR) assay. *Food Control*, 50, 9–17.
- Orbayinah, S., Widada, H., Hermawan, A., Sudjadi, S., & Rohman, A. (2019). Application of real-time polymerase chain reaction using species specific primer targeting on mitochondrial cytochrome-b gene for analysis of pork in meatball products. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 6(2), 260.
- Pieszczyk, L., Czarnik-Matusiewicz, H., & Daszykowski, M. (2018). Identification of ground meat species using near-infrared spectroscopy and class modeling techniques—Aspects of optimization and validation using a one-class classification model. *Meat Science*, 139, 15–24.
- Popping, B. (2002). The application of biotechnological methods in authenticity testing. *Journal of biotechnology*, 98(1), 107-112.
- Prachugsorn, A., Thanakiatkrai, P., Phooplub, K., Ouiganon, S., Sriaead, Y., Thavarungkul, P., ... & Kitpipit, T. (2022). Temporary Removal: Detection of porcine DNA in food using direct asymmetric PCR and catalyzed hairpin assembly fluorescent biosensor: A novel assay for halal food analysis. *Food Control*, 108989.
- Regenstein, J. M., Chaudry, M. M., & Regenstein, C. E. (2003). The kosher and halal food laws. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2(3), 111-127.
- Rohman, A. (2019). The employment of Fourier transform infrared spectroscopy coupled with chemometrics techniques for traceability and authentication of meat and meat products. *Journal of advanced veterinary and animal research*, 6(1), 9.
- Rokhim, S., Tyautari, I., Firmansyah, M. A., & Rachmawati, Y. (2021). End point polymerase chain reaction for porcine detection on food product of UIN Sunan Ampel Surabaya canteen. *Indonesian Journal of Halal Research (IJHAR)*, 3(1), 21-26.
- Rosman NN, Mokhtar NFK, Ali ME, Mustafa S (2016). Inhibitory effect of chocolate components toward lard detection in chocolate using real time PCR. *Int J Food Prop.*19(11):2587–95.
- Shuhaimi, A. A. M., Ab Karim, M. S., Fatimah, S., Mohamad, U. F. U. Z. A., & Arshad, M. M. (2022). A Review on Halal and Kosher Regulations, Certifications, and Industrial Practices. *Journal of Academic Research in Business and Social Sciences*, 12(2), 182-192.
- Sudjadi, Wardani, H. S., Sepminarti, T., & Rohman, A. (2016). Analysis of porcine Gelatin DNA in a commercial capsule shell

using real-time polymerase chain reaction for halal authentication. *International Journal of Food Properties*, 19(9), 2127-2134.

Sultana, S., Hossain, M. M., Azlan, A., Johan, M. R., Chowdhury, Z. Z., & Ali, M. E. (2020). TaqMan probe based multiplex quantitative PCR assay for determination of bovine, porcine and fish DNA in gelatin admixture, food products and dietary supplements. *Food chemistry*, 325, 126756.

Tayar, M., & Doğan, M. (2019). Helal kesim. *Academic Platform Journal of Halal Lifestyle*, 1(2), 62-76.

Yetim, H., Türker, S. (2020). Helal ve Sağ-

lıklı Gıda, s.149. Yayınevi: İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, ISBN: 978 6050667516, İstanbul.

Zhang, C., Zhang, X., Liao, G., Shang, Y., Ge, C., Chen, R., Wang, Y., & Xu, W. (2019). Species-specific TM-LAMP and Trident-like lateral flow biosensor for on-site authenticity detection of horse and donkey meat. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 301, Article 127039.

Zia, Q., lawami, M., Mokhtar, N. F. K., Nhari, R.M. H. R., & Hanish, I. (2020). Current nalytical methods for porcine identification in meat and meat products. *Food Chemistry*, 324, Article 126664.