

**İŞLENMİŞ GIDA ÜRÜNLERİNDE  
GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ (GD) ÜRÜNLERİN VE  
UYGUN DNA İZOLASYONU METODUNUN BELİRLENMESİ**

**Hilal KESKİN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı**

**Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU**

**Ocak - 2014**

**T.C.**  
**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İŞLENMİŞ GIDA ÜRÜNLERİNDE GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ (GD)  
ÜRÜNLERİN VE UYGUN DNA İZOLASYONU METODUNUN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Hilal KESKİN**

**Anabilim Dalı: BİYOLOJİ**

**Programı: MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK**

**Tez DanıŐmanı: Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU**

**KARAMAN- 2014**

## TEZ ONAYI

Hilal KESKİN tarafından hazırlanan “İşlenmiş Gıda Ürünlerinde Genetiği Değiştirilmiş (GD) Ürünlerin ve Uygun DNA İzolasyonu Metodunun Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Jüri Üyeleri

İmza:

Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM

Doç. Dr. Muhammad AASIM

Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Tez Savunma Tarihi: 30/01/2014

**Yukarıdaki Sonucu Onaylarım**

**Enstitü Müdürü**

Prof. Dr. Fevzi KILIÇEL

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

**Hilal KESKİN**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### İŞLENMİŞ GIDA ÜRÜNLERİNDE GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ (GD) ÜRÜNLERİN VE UYGUN DNA İZOLASYONU METODUNUN BELİRLENMESİ

Hilal KESKİN

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Ocak, 2014, 100 Sayfa

Genetiği değiştirilmiş organizmaların (GDO) ve bunların ham madde olarak kullanıldığı işlenmiş gıdaların analizleri yapılmalı ve etiketlenmelidir. Bu amaçla öncelikle işlenmiş gıdalara özgü farklı DNA izolasyonu protokollerinin geliştirilmesi, belirlenmesi ve gerekirse ürün bazında bu protokollerin modifiye edilerek GDO taramasında uygulanması gerekmektedir.

Bu çalışmada ülkemizde satışa sunulmuş soya ve/veya mısır içeren farklı işlenmişlik seviyelerindeki farklı markalardan 12 çeşit ürün olmak üzere toplam 27 adet gıda ürünü (bisküvi (4), mısır gevreği (2), kraker (4), mısır cipsi (5), mısır nişastası (2), mısır unu (2), cin mısır, tatlı mısır, bebek maması (2), kek (2), mısır patlağı, soya unu) ile negatif (buğday tohumu) ve pozitif kontrol için standart materyaller (GD soya küspesi ve GD mısır) kullanılmıştır. Altı farklı DNA izolasyonu protokolü ve iki adet DNA kiti kullanılarak her bir işlenmiş ürün için en uygun izolasyon yöntemi belirlenmiş, elde edilen DNA'ların kalite ve miktarının gıda türüne ve işlenmişlik düzeyine bağlı olarak farklılık gösterdiği saptanmıştır. Gıda örneklerinde lektin/zein geni taraması ile 18 örneğin zein geni, 4 örneğin ise lektin geni içerdiği saptanmıştır. İncelenen ürünlerde genetiği değiştirilmiş organizmalar kalitatif olarak PZR analizleri ile saptanmıştır. Gıda ürünlerinin 35S promotör, nos ve tNos terminatör dizileri bakımından moleküler taraması yapılmıştır. Tarama sonucunda gıda ürünlerinin bazılarının genetiği değiştirilmiş ürünler içerdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, ülkemizde satışa sunulan mısır-soya içeren bazı ürünlerin genetiği değiştirilmiş hammadde içerdiği ve kontrollerin yapılarak etiketlenmeleri gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Genetiği Değiştirilmiş Organizma, GDO, DNA, İşlenmiş Gıda Ürünü, Soya, Mısır

Bu çalışma, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Proje No: 02-YL-13).

## **ABSTRACT**

**Ms Thesis**

### **DETERMINATION OF GENETICALLY MODIFIED (GM) PRODUCTS AND APPROPRIATE DNA ISOLATION METHOD IN PROCESSED FOOD PRODUCTS**

**Hilal KESKİN**

**Karamanoğlu Mehmetbey University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology**

**Supervisor: Asstt. Prof. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU**

**January, 2014, 100 pages**

Genetically modified organisms (GMOs) and their raw materials used in processed foods should be analyzed and labelled. Keeping in view, there is need to determine different DNA extraction protocols specific to processed food and these protocols should be modified and must be applied to test GMOs.

In this study, six different DNA extraction protocols and two DNA kits were used for soy or corn based 12 kinds of products with total of 27 processed food products of different brands including (biscuits (4), cornflakes (2), crackers (4), corn chips (5), corn starch (2), corn flour (2), popcorn, sweet corn, baby food (2), cakes (2), popcorn, soy flour alongwith negative control (wheat grains) and positive control (GM soy cake and GM corn). 6 different isolation protocols and 2 DNA kits were used in order to determine the most suitable DNA isolation method of each processed food, and results showed that DNA quantity and quality varied with type of food and processing. Investigation of genetically modified organisms in these products was determined by qualitative PCR analysis. Food products were at first screened by lectin/zein gene and in 18 samples zein gene and in 4 samples lectin gene was determined. Later on, molecular screening of these food products were carried out by using 35S promoter and nos or tnos terminator sequence. Screening of these products revealed the presence of genetically modified products. As a result, some of the products sold in our country containing corn-soy based raw material were found to be genetically modified and must be labelled after control process.

**Keywords:** Corn, DNA, Genetically Modified Organism, GMO, Processed Food, Soybean

This research received financial support from Karamanoglu Mehmetbey University Scientific Research Projects (Project No: 02-YL-13).

## ÖN SÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bana bilgisi, görüş, öneri, yardımlarıyla büyük katkı sağlayan ve beni sabırla destekleyen değerli tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU'na ve olumlu eleştirileri, engin bilgisi ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM'a ve laboratuvar çalışmalarım sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Muhammad AASIM ve Yrd. Doç. Dr. Gökhan SADİ'ye içtenlikle teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, tezimin istatistik analizlerinin yapılmasında emeği geçen Arş. Gör. Buğrahan EMSEN'e, çalışmalarım esnasında göstermiş olduğu katkı ve hoşgörüden dolayı çalışma arkadaşlarım Ayşegül KÜTÜK, Asuman KOCA AYHAN, Ayşegül ÇINAR, Seval ÇINAR BELYURT, Davut BOZAN, Yasin UZUN'a ve isimlerini buraya sığdıramadığım ama her türlü katkılarını benden esirgemeyen tüm araştırmacı arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca, öğrenim hayatım boyunca maddi manevi desteklerinin yanı sıra dualarını esirgemeyen değerli hocam Hanife CEYLAN'a, babam, annem Sinan-Kadriye KESKİN başta olmak üzere tüm aileme ve çalışmalarım sırasında bana mutluluk veren biricik yiğenim Ebrar KOCA'ya en içten duygularıyla teşekkür ederim.

**Hilal KESKİN**

**Ocak - 2014**

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>ÖN SÖZ</b> .....	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iv
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	3
2.1.Genetiği Değiştirilmiş Bitkilerin Sınıflandırılması.....	4
2.2.Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Potansiyel Faydaları.....	5
2.2.1. Bitkisel ve Hayvansal Ürün Veriminin Artırılması .....	5
2.2.2. Besin Kalitesinin Artırılması .....	6
2.2.3. Meyve ve Sebzelerin Raf Ömrü ve Organoleptik Kalitelerinin Artırılması.....	7
2.2.4. Yenilebilir Aşı ve İlaç Üretimi .....	7
2.2.5. İnsan Hastalıklarının Tedavisinde ve Organ Naklinde Kullanılması .....	8
2.2.6. Bio-fabrikalar ve Endüstriyel Kullanım İçin Ürün Ham Materyali Olarak Kullanımı .....	8
2.2.7. Çevresel Faydaları.....	9
2.3. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Potansiyel Riskleri .....	9
2.3.1. Besin Kalitesindeki Değişiklik ve Gıda Güvenliği .....	9
2.3.2. Alerjik Reaksiyonlar ve Toksik Etkiler .....	10
2.3.3. Gen Patentleme ve Terminatör Teknolojisinin Etkisi .....	11
2.3.4. Genetiği Değiştirilmiş Gıdaların Etiketlenmesi İle İlgili Kaygılar .....	11
2.3.5. Çevresel Kaygılar .....	12
2.3.6. Biyolojik ve Genetik Çeşitliliğin Tehdidi .....	12
2.3.7. Çeşitli Grupların Kaygıları ve Dini, Kültürel ve Etik Kaygılar .....	12
2.4. Dünya’da GDO’lu Ürünlerin Mevcut Durumu.....	13
2.5. Türkiye’de GDO’lu Ürünlerin Mevcut Durumu .....	13
2.6. Genetik Değişime Uğratılmış Bitki Türleri .....	14
2.7. Ticari Bir Üründe Maksimum GDO Bulunma Sınırı .....	15
2.8. Gıda Zincirinde GDO .....	16



	<b>Sayfa</b>
2.9. GDO Analizi Zorunluluğu .....	17
2.10. Genetiği Değiştirilmiş Organizmayı Tespit Etme Metodları.....	19
2.10.1.PZR'ye Dayalı Yaklaşım .....	21
2.10.2. Proteine Dayalı Yaklaşım .....	22
<b>3. MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>33</b>
3.1. Materyal .....	33
3.2. Metod.....	34
3.2.1.DNA İzolasyonu .....	34
3.2.1.1. Protokol -1 Wizard Yöntemi.....	35
3.2.1.2. Protokol -2 Lysis Buffer İçinde % 1 BME Eklenmiş Modifiye Wizard Metodu.....	37
3.2.1.3. Protokol -3 Örneklerin TNE Tamponu ile Ön İnkübasyonuna Dayalı Kombinasyon Yöntemi .....	37
3.2.1.4. Protokol -4 CTAB Yöntemi .....	39
3.2.1.5. Protokol -5 Lysis Buffer İçinde % 1 BME Eklenmiş Modifiye CTAB Metodu	39
3.2.1.6. Protokol -6 CTAB Yöntemi .....	39
3.2.1.7. Protokol - 7 GENESpin, EurofinsGeneScan DNA Ekstraksiyon Kit Protokolü	41
3.2.1.8. Protokol -8 QiagenDNeasy® mericon™ FoodHandbook Standart Kit Protokolü.....	42
3.2.2. DNA Analiz Yöntemleri .....	43
3.2.3. DNA'sı İzole Edilen Örneklerde Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Belirlenmesi .....	45
3.2.3.1. DNA İzolasyonu Yapılan Örneklerde Soya - Mısır DNA'sı Taraması .....	46
3.2.3.2. GDO Tarama Aşaması .....	48
3.2.3.3. İstatistik Analiz .....	53
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>54</b>
4.1. Gıda Ürünlerinde DNA İzolasyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması.....	54
4.1.1. Protokollerin İzole Edilen DNA Miktarı Bakımından Karşılaştırılması.....	54
4.1.2. Protokollerin İzole Edilen DNA Saflığı Bakımından Karşılaştırılması.....	66
4.2. DNA İzolasyonu Yapılan Örneklerde Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Belirlenmesi.....	76
4.2.1. Lektin ve Zein Geni Amplifikasyonu ile GDO Taraması.....	76
4.2.2. Örneklerin 35S Promotör ve Nos ve tNos Terminatör ile Taranması.....	80
<b>5. SONUÇ .....</b>	<b>88</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>91</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>100</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1	: GDO analizi için kullanılan örnekler .....	33
Çizelge 3.2	: Soya ve mısır DNA'sı taramasında kullanılan primerler, baz dizisi ve beklenen bant büyüklükleri .....	46
Çizelge 3.3	: Lec ve Zein primerlerinin amplifikasyonunda kullanılan PZR reaksiyon koşulları .....	47
Çizelge 3.4	: Lec primerinin amplifikasyonunda kullanılan PZR döngü koşulları .....	47
Çizelge 3.5	: Zein primerinin amplifikasyonu için kullanılan PZR döngü koşulları .....	48
Çizelge 3.6	: 35S promotör ve nos terminatör taramasında kullanılan primerler .....	49
Çizelge 3.7	: 35sPF/R, Nos1/3, t-Nos2-3/5 amplifikasyonu için kullanılan PZR reaksiyon koşulları .....	49
Çizelge 3.8	: 35sPF/R promotörü amplifikasyonu için kullanılan PZR döngü koşulları .....	50
Çizelge 3.9	: Nos terminatörü amplifikasyonu için kullanılan PZR döngü koşulları ..	50
Çizelge 3.10	: tNos terminatörü amplifikasyonu için kullanılan PZR döngü koşulları ..	51
Çizelge 4.1	: Soya ve mısır içeren gıda ürünlerinde farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri baz alınarak DNA miktarının karşılaştırılması ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ DNA) .....	56
Çizelge 4.2	: Farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri ile soya ve mısır içeren gıda ürünleri baz alınarak DNA miktarının karşılaştırılması ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ DNA) ..	62
Çizelge 4.3	: Soya ve mısır içeren gıda ürünlerinde farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri baz alınarak DNA kalitesinin karşılaştırılması (A260/A280) .....	67
Çizelge 4.4	: Farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri ile soya ve mısır içeren gıda ürünleri baz alınarak DNA kalitesinin karşılaştırılması (A260/A280) ...	72
Çizelge 4.5	: Soya ve mısır bakımından kalitatif PZR sonuçları .....	79
Çizelge 4.6	: Kalitatif PZR sonuçları .....	84

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 :	GDO'lu ürünlerin belirlenme aşamaları .....	23
Şekil 3.1 :	Havanda dövülerek homojenize işlemi yapılan gıda örnekleri .....	35
Şekil 3.2 :	Gıda örneğinden elde edilen süpernatant kısım .....	36
Şekil 3.3 :	Süpernatant ve kloroform ayrımı gerçekleşmiş gıda örneği .....	38
Şekil 3.4 :	DNA konsantrasyonunun ölçülmesinde kullanılan spektrofotometre cihazı ....	44
Şekil 3.5 :	UV transillüminatör cihazı .....	45
Şekil 3.6 :	PZR'de kullanılan thermal cyclers .....	45
Şekil 3.7 :	Kuyucukları işaretlenmiş jel fotoğrafı.....	51
Şekil 3.8 :	Bantları işaretlenmiş jel fotoğrafı.....	52
Şekil 3.9 :	Ladder'ları işaretlenmiş jel fotoğrafı .....	52
Şekil 4.1 :	Bazı soya ve mısır örneklerinin DNA jel görüntüsü.....	54
Şekil 4.2 :	Gıda örneklerindeki 277 bç'lik zein geni amplifikasyonunun jel görüntüsü.....	77
Şekil 4.3 :	Gıda örneklerindeki 164 bç'lik lektin geni amplifikasyonunun jel görüntüsü.	78
Şekil 4.4 :	35S promotör ile yapılmış olan 143 baz çiftlik PZR taramasının jel görüntüsü.	81
Şekil 4.5 :	Nos terminatör ile yapılmış olan 180 baz çiftlik PZR taramasının jel görüntüsü.....	82
Şekil 4.6 :	tNos terminatör ile yapılmış olan 151 baz çiftlik PZR taramasının jel görüntüsü.....	83

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

<b>bç</b>	Baz çifti
<b>M</b>	Molar
<b>MA</b>	Moleküler ağırlık
<b>mg</b>	Miligram
<b>ml</b>	Mililitre
<b>mM</b>	Milimolar
<b>ng</b>	Nanogram
<b>µl</b>	Mikrolitre
<b>µM</b>	Mikromolar

### Açıklama

### Kısaltmalar

<b>BME</b>	β-mercaptoethanol
<b>CTAB</b>	Cetyltrimethylammonium bromide
<b>dNTP</b>	Deoksi Nükleozin Trifosfat
<b>dk</b>	Dakika
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>EDTA</b>	Ethylenediaminetetraacetic
<b>ELISA</b>	Enzyme-linked immunosorbent assay acid (Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Asit Tahlili)
<b>GD</b>	Genetiği Değiştirilmiş
<b>GDO</b>	Genetiği Değiştirilmiş Organizma
<b>GM</b>	Genetik Olarak Modifiye
<b>GMO</b>	Genetik Olarak Modifiye Organizma
<b>ha</b>	Hektar
<b>HCl</b>	Hidroklorik asit
<b>ISAAA</b>	International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (Tarımsal Biyoteknoloji Uygulamaları İçin Uluslararası Hizmetler Enstitüsü)
<b>NaCl</b>	Sodyum klorür
<b>nos</b>	Nopalin sentaz
<b>NA<sub>2</sub>EDTA</b>	Disodyum etilendiamin tetraasetat
<b>MAM</b>	Marmara Araştırma Merkezi
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	Magnezyum Klorür
<b>OD</b>	Optik Dansite
<b>PZR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RNA</b>	Ribonükleik asit
<b>rpm</b>	Revolutions per minute
<b>sn</b>	Saniye
<b>TAE</b>	Tris/ Asetik Asit/ EDTA
<b>Taq</b>	<i>Thermus aquaticus</i>
<b>Tris-HCl</b>	Tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride
<b>TÜBİTAK</b>	Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu

## 1. GİRİŞ

Gereksinim duyulan özelliklere (hastalıklara ve zararlı organizmalara dirençli, herbisitlere toleranslı, ürün kalitesi artırılmış vb.) sahip genetiği değiştirilmiş tarım ürünlerinin global ekim alanları gün geçtikçe artmaktadır. Bunu takiben, son yıllarda genetiği değiştirilmiş ürünleri içeren gıdaların kullanımında da önemli oranda artış yaşanmaktadır. Ancak, gelişen biyoteknolojik yöntemler sayesinde elde edilen bu yeni çeşitlerin insan sağlığı ve çevre üzerinde olası olumsuz etkileri olacağı konusunda endişe duyulmaktadır. Dolayısıyla bu ürünlerin, üretiminden tüketiciye ulaşma aşamasına kadar sıkı bir şekilde incelenip risk değerlendirmelerinin yapılması ve çoğu zaman da tüketicilerin bilerek tercih yapabilmeleri için etiketlenmesini kapsayan bir dizi düzenlemelerin oluşturulması gerekmektedir. Ülkemizde, biyoçeşitliliğin korunması ve bilinçli tüketimin sağlanabilmesi için genetiği değiştirilmiş organizmaların (GDO) ve bunların ham madde olarak kullanıldığı işlenmiş gıdaların analizleri yapılmalı ve bu gıdaların etiketlenmeleri zorunlu hale getirilmelidir. Limanlarda, gümrük kapılarında kontrol laboratuvarları kurulması ve ithal olarak ülkemize gelen tohumların ise GDO testine tabi tutulması gerekmektedir.

Ülkemizde, transgenik ürünlerin yetiştirilmesi yasak olmasına rağmen, ithalat yoluyla gelen transgenik ürünler çeşitli denetimlerden geçerek market raflarında yerini almaktadır. Mısırın yaklaşık 700, soyanın ise 900 çeşit gıda maddesi içerisinde kullanıldığı (Anonim, 2005a) varsayıldığında, GDO'lu ürün tüketim miktarının önemi daha da iyi anlaşılacaktır. Mısır ve soya kökenli yağ, un, nişasta, glikoz şurubu, sakkaroz, fruktoz içeren gıdalar günlük tüketilen maddeler arasında yerini almaktadır. GDO'lu olma riski taşıyan ürünlerin başında; bitkisel yağlar, unlar, bebek mamaları, şekerlemeler, çikolata ve gofretler, hazır çorbalar, bisküvi, gevrek, kraker, cips, mısır ve soyayı yem olarak tüketen tavuk ve benzeri hayvanlardan elde edilen gıdalar gelmektedir.

Bu çalışmada, değişik marketlerden temin edilen mısır ve soya kökenli gıda ürünlerinde genetiği değiştirilmiş organizmaların kalitatif olarak PZR analizleri ile tespit edilmesi amaçlanmıştır. Transgenik ürünlerin başında gelen mısır ve soyadan üretilmiş farklı işlenmişlik seviyesindeki çeşitli gıda ürünlerinde düzenleyici dizilerin (35S promotor,

nos ve tNos terminatör) belirlenmesine dayanan PZR analizleri ile kalitatif tarama yapılmıştır. Bu analizlerin sonucunda, ülkemizde satışa sunulmuş olan farklı gıda ürünlerinin GDO kökenli ürün içerip içermediği tespit edilmiştir.

Fiziksel ve kimyasal işlemler, gıda örneklerinin genomik DNA'sının rastgele parçalanmasına neden olarak miktarını azaltıp, yapısını bozabilmekte ve işlenmiş gıda ürünlerinden DNA izolasyonunu zorlaştırabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı işlenmiş gıdalara özgü farklı DNA izolasyon protokollerinin geliştirilmesi, belirlenmesi ve gerekirse ürün bazında bu protokollerin modifiye edilerek uygulanması gerekmektedir. Bu tez çalışmasında da farklı DNA ekstraksiyon protokolleri, modifiye şekilleri ve ekstraksiyon kitleri denenerek, incelenen her bir işlenmiş ürün için en uygun izolasyon metodunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Wizard metodu, lysis buffer içinde % 1 BME ( $\beta$ -mercaptoethanol) eklenmiş modifiye Wizard metodu, örneklerin TNE tamponu ile ön inkübasyonuna dayalı kombinasyon yöntemi, CTAB metodu, lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye CTAB metodu ve CTAB yöntemi olmak üzere altı farklı DNA izolasyonu protokolü ile iki adet DNA kiti (DNeasy® Mericon™ Food Handbook, Qiagen ve GENESpin, Eurofins GeneScan DNA extraction kiti) kullanılarak çalışmada kullanılan her bir işlenmiş gıda ürünü için en uygun ekstraksiyon protokolü tespit edilmiştir. Ülkemizde satışa sunulmuş soya ve/veya mısır içeren farklı işlenmişlik seviyelerindeki farklı markalardan 12 farklı çeşit olmak üzere toplam 27 adet gıda ürünü farklı izolasyon yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilen DNA izolasyonları sonucunda, elde edilen DNA'ların kalite ve miktarı gıda türüne ve işlenmişlik düzeyine bağlı olarak değişiklik göstermiştir.

İncelenen gıda ürünlerinin GDO taramaları da yapılmış ve GDO'lu ürün içerip içermedikleri belirlenmiştir. İncelenen mısır ve soya kökenli ürünlerde, yabancı genlerin varlığı, Avrupa Birliği tarafından onaylanmış pek çok transgenik mısır ve soyada bulunan düzenleyici diziler olan 35S promotor, nos ve tNos terminatör dizilerinin kalitatif PZR analizleriyle araştırılmıştır. Gıda ürünlerine özgü olan lektin – zein geni taraması da yapılmıştır. Yapılan analizlerle incelenen gıda materyallerinin çoğunun genetiği değiştirilmiş ürünler içerdiği belirlenmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda ülkemizde GDO'ların tespiti ve etiketlenmesiyle ilgili daha hassas denetimlere ihtiyaç duyulduğu belirlenmiştir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Uzun yıllardır çiftçiler, başta seleksiyon olmak üzere klasik ıslah yöntemleri sayesinde bilmeden de olsa, bitkiler üzerinde genetik modifikasyona sebep olmakta ve daha gelişmiş çeşitler üretmeye çalışmaktadırlar. Bitkilerin kalite ve verimliliğinde meydana gelen uzun vadeli ancak yavaş gerçekleşen bu değişimler yaklaşık olarak 10.000 yıllık bir süreçten bu yana izlenmektedir (Parekh ve Gregg, 2004). Daha sonra geliştirilen rekombinant DNA teknolojisiyle, istenilen genin türler arasında aktarımının mümkün hale gelmesi ve bu çağ atlaticı teknolojinin çeşitli sektörlerde yoğun olarak kullanılmaya başlanmasıyla beraber “genetik modifikasyon” kavramı çok daha özel bir anlam kazanmıştır (Huffman, 2004).

Geliştirilen biyoteknoloji teknikleri sayesinde verimi ve kalitesi yüksek bitki çeşitlerine yeni özellikler kazandırmak amacıyla, bir ya da bir kaç gen kolayca aktarılabilir. Bu işlem sonucunda organizmaların genetik yapılarında belirli amaçlar dahilinde şekillendirilmeler ve değişiklikler yapılabilmektedir. Biyoteknolojik yöntemlerin uygulanması, başta ıslah süresinin kısaltılmasının yanında; genetik bağlılık sorunlarını, melezlemede karşılaşılan engelleri ve gen havuzlarından yararlanmadaki sınırlamaları kolayca ortadan kaldırılabilmektedir (Özcan ve Özgen, 1996). Bitki biyoteknolojisi iki önemli tekniğin temelini oluşturmuştur. Bunlardan ilki tek bitki hücrelerinden laboratuvar şartlarında doku kültürü (*in vitro*) tekniklerini kullanarak hücrenin genetik yapısını değiştirmeksizin yeni bitkilerin elde edilmesidir. İkincisi ise, bitkilerde kök boğazı uruna neden olan *Agrobacterium tumefaciens* bakterisinden bitki kromozomlarına yapılan doğal gen aktarım mekanizmasıdır (Özcan ve Sancak, 2005). Bu iki tekniğin birlikte kullanılmasıyla hemen hemen tüm kültür bitki türlerine gen aktarımı mümkün hale gelmiştir.

Bu yöntemler sayesinde ürünlerin, üretim miktarı ve kalitesinde ilerlemeler olacağına ilişkin beklentiler zaman geçtikçe daha da artmaktadır. Özellikle, son yıllarda genetiği değiştirilmiş organizmaların kullanımında büyük oranda artış olmuştur. Ancak, GDO'ların kullanımının yaygınlaşmasıyla, bu ürünlerin çevre ve insan sağlığı üzerinde olumlu - olumsuz etkileri olduğuna ilişkin endişeler de artmaktadır.

Genetiği değiştirilmiş organizmalar en basit haliyle Dñnya Sağlık rgñtñ (WHO) tarafından, ‘‘Genetik kodları doğal olmayan yollarla değiştirilen organizmalar’’ olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2009). GDO, biyoteknolojik yñntemlerle canlıların sahip olduğu gen dizilimleriyle oynanarak, mevcut özelliklerinin değiştirilmesi veya canlılara yeni özellikler kazandırılması ile elde edilen organizmalara verilen isimdir (Kulaç ve ark., 2006). GDO, aslında bir molekñler bitki ıslahıdır. Gen teknolojisi veya genetik mñhendisliđi (modern biyoteknoloji) ile geleneksel ve ıslah edici yñntemlerin tersine gıdalarda ũrñnñ karakteristiğini değiştirmek için gen ve tñr arasında kopyalama ve transferler yapılarak gıdalardaki organizmaların doğal yapısı değiştirilmektedir. Organizmaların bu yolla genetik olarak değiştirilmesiyle ortaya çıkan yeni tñrlere, genetik olarak değiştirilmiş organizma (genetically modified organisms - GMO) denilmektedir. Örneğin, balıktan alınan bir genin domatese nakledilmesiyle domatesin doğal yapısı değişmekte ve yeni bir özellik kazandırılmaktadır (Yanaz, 2008). Genetik mñhendisliđi yñntemleriyle bñnyelerine yabancı genler dahil edilerek ‘‘genetik yapıları’’ değişikliğe uğratılan, bu yabancı genlerin genomlarına sabit olarak entegre edildiği ve bu özellikleri gñsteren bitki, hayvan ve mikroorganizmalar, genetik yapısı değiştirilmiş organizma olarak adlandırılmaktadır (Demir ve ark., 2006). Diğer bir ifadeyle, GDO biyoteknolojik yñntemlerle canlıların sahip olduğu gen dizilimleriyle oynanarak, mevcut özelliklerinin değiştirilmesi veya canlılara yeni özellikler kazandırılması ile elde edilen organizmalara verilen isimdir (nal, 2009). Rekombinant organizmalar, GMO (genetically modified organism, genetik olarak modifiye organizma) ve GDO (genetik olarak değiştirilmiş organizma) ile Transgenik/Biotek/Rekombinant Organizma veya LMO (living modified organism) gibi farklı isimlerle adlandırılabilir (Tozzini ve ark., 2000; Gzñkırımı, 2002; Eser ve Kılınçarslan, 2005; Lipp ve ark., 2005). GDO kısaca, gelişen teknolojiyle bitkinin genetiğiyle oynanarak kendisinde bulunmayan yeni özellikleri bitkiye kazandırmaktadır.

## **2.1. Genetiği Değiştirilmiş Bitkilerin Sınıflandırılması**

İlk transgenik bitkiler insan ve hayvan beslenmesi amacıyla ũretilmiř olup, agronomik özellikleri geliştirilmiş bitkilerdir. Birinci nesil olarak da adlandırılan bu bitkiler (Haver ve ark., 2003), pestisitlere (Tuzun ve ark., 1996) ve/veya yabancı ot kontrolñ



için bazı herbisitlere dayanıklı olmaları için üretilmiştir (Stewart ve Sorensen, 1997; Haver ve ark., 2003).

İkinci nesil GD bitkiler, verim ve besleme kalitesinde artış sağlanmış bitkilerdir ve ticari anlamda yaygın bir şekilde üretilen birinci nesil bitkilerin aksine, besin değerleri artırılmış ya da değiştirilmiş bitkilerdir. İkincil/yeni nesil olarak adlandırılan bitkiler üzerinde, henüz yaygın olarak üretim yapılmamakla birlikte, yoğun çalışmalar devam etmektedir (Haver ve ark., 2003).

İnsan tedavisinde çokca kullanılan pahalı aşı ve ilaçların üretildiği ayrıca biyo - yakıt üretimine de yatkın olan bitkiler ise üçüncü nesil GD bitkiler olarak isimlendirilir ve bu bitkiler araştırma ve geliştirme aşamasındadır (Fernandez - Cornejo ve Caswell, 2006).

## **2.2. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Potansiyel Faydaları**

Her teknolojinin olduğu gibi GDO'nun da potansiyel yarar ve zararları mevcuttur. Genetik mühendisliği teknolojisi ve elde edilen genetiği değiştirilmiş bitkiler ile dünya popülasyonunun giderek büyümesi sonucu gerekli olan gıda ve ilacın istenildiği derecede üretilebileceği düşünülmektedir (Uzogara, 2000). Buna ek olarak bu teknolojinin; hızlı büyüyen, hastalık ve böceklere dirençli, herbisitlere dayanıklı bitkisel ürünlerin yanı sıra daha lezzetli, güvenli, verimli, besleyici, uzun ömürlü ve sağlık açısından da daha faydalı bitkisel ve hayvansal ürünler ile endüstriyel ve farmakolojik üretime katkı sağlayacak organizmaların elde edilmesi gibi potansiyel faydalara sahip olacağı da ileri sürülmektedir (Uzogara, 2000; Kıyak, 2004; Çelik ve Turgut, 2007). Genetiği değiştirilmiş organizmaların getireceği potansiyel faydalar aşağıda verilmiştir.

### **2.2.1. Bitkisel ve Hayvansal Ürün Veriminin Artırılması**

Dünya nüfusunun 2025 yılına yaklaşıldığında 8 milyarı aşması beklenmekte ve bu kalabalık nüfusun besin ihtiyacının karşılanması büyük bir sorun olarak görülmektedir. Ekilebilir alanların artışı mümkün olamayacağı gibi, tarımsal üretim için kullanılacak tatlı su kaynakları da giderek azalma göstermektedir. Artan nüfusu

besleyebilmek için, birim alandan elde edilen ürün veriminin artırılması gerekmektedir. Klasik ıslah yöntemleriyle elde edilebilecek biyolojik verim artışının da artık sınırlarına geldiği düşünüldüğünde, bitki ve hayvan ıslahı çalışmalarında gen aktarım teknolojisinin kullanılmasının kaçınılmaz olduğu görülmektedir (Kıyak, 2004).

Genetiği değiştirilmiş bitkiler, ürün verimini artırmak ve ayrıca böcekler, yabancı otlar, herbisitler, virüsler, tuzluluk, pH, sıcaklık, don ve kuraklık gibi çeşitli çevresel faktörlere dayanıklı bitkiler üreterek ürün kaybını azaltmak için kullanılabilir (Uzogara, 2000; Kıyak, 2004). Bir yıllık olan önemli tahıl ürünleri genetiği değiştirilerek çok yıllık ürünlere dönüştürülebilir. Böylece, toprağın daha az işlem görmesi (çift sürme vb.) ile erozyonun azalması ve yıl boyunca ürün alınması sağlanabilmektedir (Hemmer, 2005).

Klonlama teknolojisi, hayvanlarda protein ürünleri ve et talebini karşılamak amacıyla büyük oranda çiftlik hayvanlarının üretimini sağlamaktadır. 1993 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi (US FDA) tarafından onaylanan rSBH (rekombinant sığır büyüme hormonu) ile sağlıklı ineklerin süt üretiminde artış olduğu gözlenmiştir. Böylece, et ve süt kaynağı bakımından yetersiz kalan ülkelere bu ürünlerin daha ucuz şekilde ihraç edilmesi için bol miktarda üretilebileceği düşünülmektedir (Uzogara, 2000; Çelik ve Turgut, 2007).

### **2.2.2. Besin Kalitesinin Artırılması**

Rekombinant DNA teknolojisi ile protein kalitesi (örneğin proteinin metiyonin ve lisin içeriği) artırılarak ürünlerin esansiyel amino asit içeriklerinde artış sağlanabilmektedir (Uzogara, 2000). Bu yöntemle tavuklarda üremeyi olumsuz etkileyen lisin azlığı dolayısıyla genellikle tahıllarda çok az bulunan lisin miktarının artırılması; et, süt ve yün üretimi kükürt içeren amino asitlere (metiyonin ve sistein) bağlı olan çiftlik hayvanlarının besinlerinin bu amino asitlerle zenginleştirilmesi mümkün olabilmektedir (Arda, 1995).

Monsanto Şirketi tarafından üretilen nişasta içeriği artırılmış Russert Burbank patatesleri sayesinde kızartma işlemi esnasında daha az yağ çeken, pişirme süresi ve maliyeti azaltılmış patates üretimi sağlanmıştır (Whitney ve ark., 2004). Afrika'da kassava mozaik virüsüne ve genel mozaik virüslerine dirençli, yüksek besin değerine sahip kassava üretmek için bu bitkilerin genetiği değiştirilmiştir (Uzogara, 2000).

### **2.2.3. Meyve ve Sebzelerin Raf Ömrü ve Organoleptik Kalitelerinin Artırılması**

Domateslerin olgunlaşma, yumuşama ve çürüme işlemleri geciktirilerek uzun bir raf ömrüne sahip olmalarını sağlamak için, bu bitkilerin genetiği değiştirilmiş ve Flavr Savr adı verilen yeni bir ürün oluşturulmuştur (Uzogara, 2000). Olgunlaşma ve yumuşama, büyük oranda, meyve hücreleri tarafından etilen üretimine bağlıdır. Bu olgunlaşmanın geciktirilmesi işlemi, etilen üretiminde rol oynayan genlerin kontrol edilmesi veya farklı bir strateji olarak hücre duvarını bozan bir enzim olan poligalakturonaz enziminin baskılanarak pektin yıkımının ertelenmesi ile olmaktadır (Arda, 1995; Uzogara, 2000). Böylece koku, lezzet, yumuşaklık/sertlik derecesi gibi organoleptik özellikler verilebilmekte ve daha uzun raf ömrü sağlanabilmektedir. Ürünlerin nakliye ve işlenmeye dayanıklı olması, soğutma sistemlerinin güvensiz, pahalı ve nakliye ağının yetersiz olduğu düşünülürse gelişmekte olan ülkelerdeki çiftçiler ve tüketiciler için de faydalı olacaktır (Uzogara, 2000; Kıyak, 2004).

### **2.2.4. Yenilebilir Aşı ve İlaç Üretimi**

GDO'lar hem gıda hem de ilaç olarak etki edecek ürünler şeklinde de tüketilebilirler. Örneğin; brokolinin anti - oksidant içeriğini; çayın flavonoid içeriğini zenginleştirmek mümkün olabilir. Patates, muz ve domates, aşı depolamak için genetik olarak değiştirilebilir. Özellikle olgunlaştığı zaman çiğ olarak tüketilen muz gibi bazı tropikal ürünler; hepatit, kuduz, dizanteri, kolera ve ishal ile diğer bağırsak enfeksiyonlarına karşı kullanılabilen proteinleri üretmek için genetik olarak değiştirilebilmektedir. Yenilebilir ürünlerdeki bu aşular, ürünlerin yetiştirildiği, düşük maliyetle dağıtıldığı ve özellikle aşı üretimi için kaynağın ve tıbbi alt yapının yetersiz olduğu gelişmekte olan

ülkeler düşünülduğünde çocuklar için faydalı olacaktır (Uzogara, 2000; Çelik ve Turgut, 2007).

### **2.2.5. İnsan Hastalıklarının Tedavisinde ve Organ Naklinde Kullanılması**

Genetiği değiştirilmiş hayvanlar, hemofili hastaları tarafından kullanılan pıhtılaşma faktörü veya diyabet hastaları tarafından kullanılan insülin gibi farmakolojik proteinleri üretmek için de kullanılabilir. Keçi, koyun ve domuz gibi bazı hayvanlar klonlanabilir ve insana nakil için uygun olan kalp, karaciğer, böbrek ve fetal hücreler vb. geliştirmek için kullanılabilirler (Uzogara, 2000).

Doku reddinin önemli bir nedeni insan hücrelerinde bulunmayan fakat domuz hücrelerinin yüzeyinde bulunan  $\alpha$ -1,3-galaktoz karbonhidratının immün reaksiyonudur.  $\alpha$ -1,3-galaktozil transferaz geninin “knock out” teknolojisi kullanılarak uzaklaştırılması hücre yüzeylerinde bu karbonhidratı taşımayan hayvanların üretilmesini sağlayabilir (Çelik ve Turgut, 2007). Böylece hastalara organ nakli için bekleme süresi ortadan kaldırılabilir.

### **2.2.6. Bio-fabrikalar ve Endüstriyel Kullanım için Ürün Ham Materyali Olarak Kullanımı**

Genetiği değiştirilmiş organizmalar; vitaminler, monoklonal antikolar, aşılar, antikanser bileşikler, anti-oksidantlar, plastikler, fiberler, polyesterler, afyonlu ilaçlar/uyku ilaçları, interferon, insan kan proteinleri ve karotenoid üretmek için de kullanılmakta ve ilaç endüstrisinde de yaygın bir kullanım alanı oluşturmaktadırlar. Ayrıca, gıda endüstrisinde sıkça kullanılan protein, enzim, stabilizatör, kıvam artırıcı, emülgatör, tatlandırıcı, koruyucu, renklendirici ve tat verici gibi gıda karışımlarının üretiminde de kullanılabilir (Uzogara, 2000).

### 2.2.7. Çevresel Faydaları

Tarımsal üretimde bitkilerin büyük çoğunluğunun genetiğiyle oynanarak virüs, böcek, yabani ot, herbisit, hastalık ve çeşitli çevresel etkenlerle mücadele etmek amacıyla direnç kazandırılmaktadır. Örneğin, patates, soya ve mısır gibi ürünlerin çoğuna *Bacillus thuringiensis*'in (Bt) insektisidal (böcek öldürücü) potansiyeline sahip bir geninin aktarılmasıyla böceklere karşı dirençli Bt bitkiler elde edilmiştir. Bt proteini mısır kurdu, patates böceği gibi böceklere karşı toksik etki sağlamakla beraber insan için toksik değildir ve mide asidi ile parçalanmaktadır (Uzogara, 2000). Bitkilere bu özelliğin kazandırılması neticesinde kimyasal insektisite olan ihtiyaç da ortadan kalkmakta ve bu sayede insektisitlerin hedefi olmayan arı, predatör gibi böceklerin zarar görmesi de büyük oranda engellenmektedir. İnsektisidal Bt proteininin bitkinin dokularında üretilmesi ile bitkinin bütün kısımlarına ulaşmayan kimyasal insektisitlere göre daha etkili bir böcek kontrolü sağlanabilir (Hails, 2000; Çelik ve Turgut, 2007).

## 2.3. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Potansiyel Riskleri

### 2.3.1. Besin Kalitesindeki Değişiklik ve Gıda Güvenliği

Transgenler, gıda ürünlerine aktarıldıklarında, bazılarının besin değerlerini artırırken bazılarınınkini de azaltıp besinsel özelliklerini değiştirebilirler. Genetiği değiştirilmiş ürünlerin sağlık üzerinde, özellikle uzun dönemde meydana getirebileceği etkiler üzerinde henüz net bir bilgi bulunmamaktadır. Bu sebeple GDO'ların sağlık açısından riskleri göz önüne alınarak etiketleme yoluyla tüketicilerin bilgi edinme ve seçme hakkının sağlanması gerektiği düşünülmektedir (Topal, 2004).

Mikrofloradaki bakteriler hücre içine aldıkları yabancı DNA'nın kendi genomlarına katılmasını ve ifade edilmesini engelleyen mekanizmaya sahip olmalarına rağmen bakteriyel kökenli genlerin bakteriler tarafından yapıya alınması teorik olarak mümkündür (Tüysüzoğlu ve Gülsaçan, 2004; Van den Eede ve ark., 2004). GDO üretimi sırasında markör gen olarak kullanılan antibiyotik direnç genleri çoğunlukla bakteriyel kökenli olup bu açıdan en çok tartışılan olasılıktır. GDO'lu ürünlerin

tüketilmesi ile bu antibiyotik direnç genlerinin insan bağırsak mikroflorasına veya patojen mikroorganizmalara aktarılması mikroorganizmalarda antibiyotiğe karşı direnç düzeyinin artmasına yol açabilir (Kuiper ve ark., 2004; Tüysüzoğlu ve Gülsaçan, 2004). Bu durum patojenik mikroorganizmaların tedavisi için antibiyotiklerin terapötik değerlerini ortadan kaldırarak insan ve hayvan sağlığı için bir risk oluşturabilir.

Tüketilen genetiği değiştirilmiş ürünlerdeki DNA'nın memeli hücrelerine transfer edilmesi ve dolayısıyla yatay gen aktarımlarının insana sıçraması gıda güvenliği açısından üzerinde durulan konulardan biridir. Gıdalardaki çeşitli kökenden DNA parçacıklarına (örn; bitki, hayvan, mikroorganizma, virüs) maruz kalan bağırsak astarındaki somatik epitel hücrelerin devamlı bir şekilde dökülmesi ve yenilenmesi ile vücuttan atılacağı ve bu sebepten dolayı sağlık açısından önemli bir risk oluşturmayacağı düşünülmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda, mısırla beslenen sığır ve tavuklarda mısır kloroplast DNA'sının çeşitli dokulara girdiği gözlenmiştir (Çelik ve Turgut, 2007).

### **2.3.2. Alerjik Reaksiyonlar ve Toksik Etkiler**

Gelişen gen aktarım teknolojisi ile organizmaya yerleştirilen yeni genin özellikleri, insanlar için alerjik reaksiyonlara neden olabilmekte veya mevcut alerjik reaksiyonlar şiddetlendirilebilmektedir (Uzogara, 2000; Zülal, 2003). Bu konunun ciddiyeti, Brezilya fıındığında bulunan bir genin soyaya aktarılması ile sağlanan gen modifikasyonunun, Brezilya fıındığına alerjisi olan tüketicilerde alerjik reaksiyonlara neden olması örneğiyle kanıtlanmıştır (Kıyak, 2004; Çelik ve Turgut, 2007). Konuya ilişkin iddialardan birisi genlerin tek başına, bağımsız çalışmadığı ve bir organizmaya transfer edilen genin ya da genlerin daima beklenmeyen ve istenmeyen yan etkilerinin olabileceğidir (Yanaz, 2003). Aktarılmış olan transgenin ekspresyonu ve genetik fonksiyonu tahmin edilemeyecek değişimlere yol açabilir ve böylece transgenin protein ürünü, beklenmeyen reaksiyonlara ve potansiyel toksinlerin ortaya çıkmasına neden olabilir (Fagan, 2005). Ayrıca transgenlerin, genom üzerindeki doğal bir toksinin düzenleme bölgesini etkileyerek toksin üretimine neden olabileceği bildirilmektedir (Çelik ve Turgut, 2007).

### **2.3.3. Gen Patentleme ve Terminatör Teknolojisinin Etkisi**

Biyoteknoloji şirketleri önemli genleri patentleyerek kontrol altına almak isteyebilmektedir (Zülal, 2000). Bu durumun etik olmadığını ve bu genler hakkında araştırma yapmak isteyen araştırmacılara engel olabileceğini düşünen kesim genlerin patentlenmesine karşı çıkmaktadır (Zülal, 2003). Biyoteknoloji şirketleri yine ürettikleri genetiği değiştirilmiş bitkilerin tohumlarını kontrol altına almak için terminatör teknolojisini geliştirebilir (Zülal, 2000). Terminatör teknolojisi, biyoteknoloji şirketlerinin patentleri kendilerine ait olan GD tarım ürünlerinin tohumlarını toplayarak bir sonraki yıl yeniden üretilmelerine engel olmak için geliştirdikleri kısır bitki üretme teknolojisidir. Terminatör teknolojisi birçok şekilde uygulanmakta ve bu genelde üç adımı içermektedir: (i) Genetiği değiştirilmiş ürüne terminatör gen ilave edilir, (ii) tohum şirketleri, tohumu satmadan önce bir indükleyici ilave ederek terminasyon işlemini başlatır, (iii) çiftçiler, bitki tohumunu ekerek ürün elde ederler. Ancak elde edilen tohum veya ürün kısırdır (Van Den Eede ve ark., 2004; Anonim, 2005b).

Terminatör teknolojisi, çiftçilerin her yıl uluslararası şirketlerden tohum satın almalarını gerektirmekle beraber bu uluslararası şirketlere bağımlı kalmayı ve tohumları yüksek fiyata almayı da beraberinde getirecektir (Uzogara, 2000; Topal, 2004). Ayrıca tohum şirketleri, tekelleşmenin boyutunu gen patenti ve tohum kontrolü ile sınırlamayıp spesifik GDO'lar için spesifik kimyasal ilaç üreterek çiftçileri bu ürünlerden almak zorunda bırakabilirler (Yanaz, 2003; Kıyak, 2004).

### **2.3.4. Genetiği Değiştirilmiş Gıdaların Etiketlenmesi ile İlgili Kaygılar**

Avrupa Birliği yönetmelikleri herhangi bir gıda ürününün geleneksel benzerlerinden farklılaştığı andan itibaren GDO kökenli olduğu yönünde etiketlenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (Topal, 2004). ABD'de gıda kaynaklarının güvenilirliği ve sağlıklı olması (et ve kümes hayvanları hariç) ABD Gıda ve İlaç İdaresi (US FDA) tarafından düzenlenmektedir, ancak bu ajans GDO'ların etiketlenmesine karşıdır (Uzogara, 2000).

### **2.3.5. Çevresel Kaygılar**

Bitkiler arasında gen alışverişi hayvanlara göre daha kolay olduğundan gen kaçıışı, genetiği değiştirilmiş bitkilerin barındırdığı en önemli riski oluşturmaktadır (Tüysüzoğlu ve Gülsaçan, 2004). Çevreciler, genetiği değiştirilmiş ürünlerin geniş bir alanda ekimi yapıldığı takdirde çevresel risklerinin olacağı konusunda kaygı duymaktadırlar (Uzogara, 2000). GD bitkiler, doğal türlerle rekabete girerek onların ortadan kalkmasına da neden olabilir (Zülal, 2003). Ayrıca, bitkilere transfer edilen yeni genetik özelliklerin çapraz tozlaşma esnasında doğal ve yabani türlere ya da böceklerle kaçıışı da söz konusu olabilir. Aynı durum ıslah yöntemleriyle elde edilmiş bitki türleri için geçerli olsa da herbisitlere dayanıklılık veya böcek öldürücü toksin üretmek üzere bitkilere aktarılan genlerin çapraz tozlaşma ile yabani türlere geçmesi durumunda ortadan kaldırılması güç olan süper yabani türler oluşabilir (Uzogara, 2000; Tüysüzoğlu ve Gülsaçan, 2004; Fagan, 2005).

### **2.3.6. Biyolojik ve Genetik Çeşitliliğin Tehdidi**

Çevre açısından ciddi tehlikelerden biri, genetiği değiştirilmiş bitkilerin çevreye salınımını takiben doğal türlerde genetik çeşitliliğin kaybına, ekosistemdeki tür dağılımının ve dengenin bozularak genetik kaynakları oluşturan yabani türlerin doğal evolüsyondan sapmalarına neden olabileceği düşüncesidir. Bu açıdan gen kaynakları tehdit altına girmiştir (Yanaz, 2003). Genetiği değiştirilmiş bitki türleri ile rekabete yenik düşen doğal türlerin hızla kaybolması genetik çeşitliliğin yanı sıra biyolojik çeşitliliği de tehdit etmektedir (Günaydın, 2004). Dünya yüzeyindeki karasal biyoçeşitliliğin yaklaşık % 80'inin gen aktarımı teknolojisi için gereken hammaddeleri sağlayabilen ülkelerde olması ise bu tehdidi daha da artırmaktadır (Yanaz, 2003).

### **2.3.7. Çeşitli Grupların Kaygıları ve Dini, Kültürel ve Etik Kaygılar**

Hayvan hakları grupları, hayvanlarla yapılan genetik mühendisliğinin ve klonlamanın her şekline ve araştırmalarda hayvan kullanımına şiddetle karşı çıkmaktadırlar. Yine bazı insanlar, GDO'ların doğallarından ayırt edilememesinin yanı sıra kişisel, etik,



kültürel ve estetik nedenlerle GD gıdalara karşı çıkmaktadır. Genetiği değiştirilmiş ürünler bazı inanışlarda etik sorunlara yol açmıştır. Örneğin; Müslümanlar, Hindular ve Yahudiler gibi inanç grupları, içinde böcek, hayvan ve insan geni bulunan meyve ve sebzeleri tüketmeyi uygun bulmamaktadırlar. Müslüman ve Yahudiler, domuz geni içeren tahıllara karşıdır ve gıdalarda bu özelliğin olmamasında ısrarcıdır (Uzogara, 2000; Kıyak, 2004).

#### **2.4. Dünya’da GDO’lu Ürünlerin Mevcut Durumu**

İlk transgenik bitkiler 1985 yılında tarla denemelerine alınmış olmasına rağmen, üretimlerine kayda değer olarak 1996 yılında başlanmıştır. (Martineau, 1996; Haspolat, 2004). ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri - Biotechnology Applications) verilerine göre transgenik ürünler ilk olarak 1996 yılında üretilmeye başlanmışlardır. Dünya nüfusu sekiz milyara yaklaşırken, GD ürünlerin ekim alanı artışı devam etmektedir. GDO’lar, güçlü büyümesini 2012 yılında da devam ettirmiş ve ekime başlandığı ilk yıldan bu yana 100 kat artış göstererek 1,7 milyon ha alandan 170 milyon ha alana ulaşmıştır. Bu teknolojiyi kullanan 28 ülkeden 20’si gelişmekte olan ülkelere; sekizi ise gelişmiş ülkelere oluşturmaktadır. 2012 yılı itibariyle Sudan (Bt pamuk) ve Küba (Bt mısır)’nın bu teknolojiyi kullanan ülkeler arasında yerini almasıyla GDO’lu üretim yapan ülke sayısı 30’a yükselmiştir. Ayrıca, 2012 yılında gelişmekte olan ülkeler ilk defa endüstriyel ülkelere göre en az üç kat daha hızlı bir artış göstererek dikkat çekici bir büyüme oranı sağlamıştır (Anonim, 2013a).

#### **2.5. Türkiye’de GDO’lu Ürünlerin Mevcut Durumu**

26 Mart 2010 tarihli ve 27533 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan Biyogüvenlik Kanunu’nun esaslarına göre ülkemizde genetiği değiştirilmiş bitki ve hayvanların üretimi, GDO ve ürünlerinin kurul tarafından piyasaya sürme kapsamında belirlenen amaç ve alan dışında kullanımı ile GDO ve ürünlerinin bebek mamaları ve bebek formülleri, devam mamaları ve devam formülleri ile bebek ve küçük çocuk ek besinlerinde kullanılması yasaklanmıştır (Öztürk, 2011). Ancak, ülkemizde transgenik bitkilerin ithalâtı hususunda hukukî ve kurumsal alanda ciddi boşluklar olmakla birlikte

bilimsel ve teknik açıdan da yetersizlikler bulunmaktadır. Türkiye’de GDO içeren yerli ürün üretimi bulunmamaktadır. Fakat, ithal edilen ham ve işlenmiş bazı ürünlerin GDO içerip içermediği konusunda gıda güvenliği açısından fiilen yeterli bir denetleme de söz konusu değildir. GDO’lu tohumların Türkiye’de satışı yasaklanmış olsa dahi bu tip ürünlerin ithalâtının kontrolleri yapılamamakla birlikte, girişler sadece beyana dayalı olarak ve gümrüklerde kontrolsüz olarak devam etmektedir. Türkiye’de bu alandaki araştırma geliştirme çalışmalarının çok yetersiz olmasından ve teknik altyapının eksikliğinden de (uzman, laboratuvar vb.) söz edilebilmektedir.

Türkiye’de Biyogüvenlik Kurulu tarafından; AB’nin de içinde yer aldığı pek çok ülke tarafından risk değerlendirmesi yapılarak tüketiminde sorun teşkil etmeyeceği ileri sunulan örneklerden, 26 Ocak 2011’de üç adet soya çeşidine, 24 Aralık 2011’de 13 mısır çeşidine ve son olarak 21 Nisan 2012’de üç adet mısır çeşidine yalnızca yem sanayisinde kullanılması amacıyla izin verilmiştir. Biyogüvenlik kurulunun önerisi ışığında onaylanmış genler için, ürünün GDO’lu olarak etiketlenmesini gerektiren alt sınır % 0,9 olarak onaylanarak uygulamaya aktarılmıştır (Anonim, 2013b).

## **2.6. Genetik Değişime Uğratılmış Bitki Türleri**

18 Mayıs 1994’de piyasaya sürülen Flavr Savr domates ticari olarak satışa sunulan ilk genetiği değiştirilmiş bitkisel üründür (Kramer ve Redenbaugh, 1994). Flavr Savr domateste, poligalakturonaz (PG) enziminin gen anlatımını düzenlemek amacıyla antisens RNA teknolojisi kullanılmıştır (Sheehy ve ark., 1987). PG enzimi meyvenin olgunlaşması sırasında pektin metabolizmasında rol oynayan en önemli enzimdir, olgun domates meyvesinde en bol bulunan proteindir ve meyvenin yumuşamasından sorumlu enzimdir (Hobson, 1965; Brady ve ark., 1985). PG geninin anlatımını azaltacak bir antisens RNA teknolojisi olgunlaşan domateste pektin yıkımının azalmasına neden olduğundan domates uzun süre taze kalabilmektedir (Kramer ve ark., 1992).

Genetiği değiştirilmiş olan soya, mısır, kolza ve pamuk gibi ürünler herbisitlere ve bazı zararlılara karşı direnç sağlama amacıyla üretime sunulmuştur. Genetiği değişikliğe uğratılmış diğer bitki türleri arasında pirinç (A vitamini miktarı artırılmış), papaya

(Papaya Ringspot virüsüne dirençli), patates, şeker pancarı ve keten tohumu da bulunmaktadır. Bu teknolojinin en fazla kullanıldığı bitkiler ise; mısır, soya fasulyesi, domates, patates, pamuk, tütün ve kolzadır. Genetiği değiştirilmiş bitkilerin önemli örneklerinden bazıları aşağıda verilmiştir;

- Hepatit B gibi bulaşıcı hastalıklara karşı insan aşıları içeren muzlar,
- Zararlı böceklere karşı kendi zehrini üreten mısır çeşitleri,
- *Bacillus thuringiensis*'den alınan bir genle bu böcekler için zehirli olan ancak başka canlılara zarar vermeyen madde üretimi,
- Omega-3 yağ asidince zengin keten üretimi,
- Kızamık, çocuk felci, difteri, kuduz ve viral hastalıklara karşı kullanılan aşıların transgenik bitkilerde üretimi,
- İnsan sütüne benzer inek sütü üretimi,
- Brezilya'da virüse dayanıklı fasülye üretimi,
- Japonya'da virüse dayanıklı papaya taze meyve üretimi,
- Amino asit içeriği yükseltilmiş tahıl ve patatesler,
- Kutuplarda yaşayan bir tür balıktan izole edilen anti-freeze (bitki dokularında donmayı engelleyen) geninin domates ve çilek gibi bitkilere aktarılarak soğuğa dirençli GD domatesler ve çilekler (geliştirilme aşamasında) geliştirilmesi,
- Kistik fibrozis ve karaciğer hastalıklarında kullanılan alfa-1-antitripsin proteinin çeltik bitkisinde üretilmesidir.

## **2.7. Ticari Bir Üründe Maksimum GDO Bulunma Sınırı**

Bir üründe GDO bulunma sınırı (Anonim, 2012a);

- Onaylanmamış GDO için % 0
- AB tarafından onaylanmış GD ürünler için % 0,9
- AB tarafından güvenli olarak kabul edilmiş fakat yetiştirilmesine izin verilmemiş GD ürünler için % 0,5'dir.

Tohumluk için GDO bulunma sınırı ise;

- Kolzada % 0,3
- Sebzeler, pancar, pamuk, mısır ve patatete % 0,5

- Soyada % 0,7'dir.

Topraktan soframıza kadar bir döngü halinde gelen besinlerin, bu zincire dahil edilmesi aşağıdaki şekilde meydana gelmektedir.

## 2.8. Gıda Zincirinde GDO

Gıda sanayinde yaygın olarak kullanılan bir hammadde olan mısırın işlenmesinden elde edilen birçok ürün de işlenmiş gıda maddeleri için katkı olarak kullanılabilir. Ayrıca, mısırdan nişasta elde edilir ve mısır nişastasından elde edilen glukoz şurubu ise şekerli ürünlerin yapımında yaygın bir kullanıma sahipken, mısır şurubundan elde edilen maddeler de gıda boyası amaçlı kullanılabilir. Mısır ve soyadan üretilen yağ, un, nişasta, glikoz şurubu, sakkaroz, fruktoz içeren gıdalar günlük tüketim maddeleri arasında önemli bir yere sahiptir. Örneğin, bisküvi, kraker, pudingler, bitkisel yağlar, bebek mamaları, şekerlemeler, çikolata ve gofretler, hazır çorbalar, mısır, pamuk ve soyayı yem olarak tüketen tavuk ve benzeri hayvanlardan elde edilen gıdalar GDO'lu olma riski taşıyan ürünlerin başında yer almaktadır. Mısırın işlenmesi esnasında meydana gelen birçok yan ürün de yem sanayinde kullanıma sunulmaktadır. Ayrıca, soya fasülyesi de yem sanayi için önem arz etmektedir.

Ürünlerinin “GDO'suz” olduğu konusunda hem fikir olmak isteyen gıda üreticilerinin tüm gıda zincirinde izlenebilirliği, ürünün çiftlikten alınıp ürün olarak tüketiciye sunulana kadar geçen her aşamada, girdilerin tanımlanmasını gerektiren, üretici ve tüketiciler için gıda zincirindeki bütün ürünleri izleyebilme olanağı sağlayan bir yöntem sağlaması zorunluluk haline getirilmiştir. Bunu sağlamanın öncelikli yolu, çiftçinin kullandığı tohumun GDO'suz olduğunun belirlenmesi için analiz edilmesinden geçer. GDO'suz ürün yetiştiren çiftçilerin, GDO'lu ürünlerden GDO'suz ürünlere bulaşma olmadığını kontrol etmeleri de gerekmektedir. GDO'lu ve GDO'suz ürünlerin yetiştirildiği araziler arasındaki mesafenin 300 m olması tavsiye edilir. Hasat sonrasında da işleme ve nakliye esnasında GDO'lu ve GDO'suz ürünlerin farklı ekipmanlar kullanılarak ayrılmasına dikkat edilmelidir. ABD'de “StarLink” adlı mısır türünün sadece insan tüketimi dışındaki amaçlar için üretimine izin verilmektedir. Bunun nedeni ise “StarLink”de yer alan bir Bt protein türünün daha yavaş sindirilmesinden dolayı

bazı kişilerde allerjik reaksiyonlara yol açtığına açıklanmıştır. Bu sınırlamaya rağmen işlenmiş gıda ürünlerinde “StarLink” mısıra rastlanılmıştır (Şenyuva ve ark., 2013).

Bu örneklerin ışığı altında tükettiğimiz besinlerin bu zincire dahil edildiği düşünülürse, GDO analizinin neden zorunlu olduğu aşağıdaki şekilde açıklanabilir.

## **2.9. GDO Analiz Zorunluluğu**

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) biyoteknolojik tarım ürünlerinin, üretim sistemlerinin etkinliğinin geliştirilmesi, gıdaların besin değerlerinin artırılması ve allerjik potansiyellerinin azaltılması ile halk sağlığı açısından büyük öneme sahip olduklarının altını çizmektedir (Tan, 2008). Aynı zamanda, biyoteknolojik tarım ürünleri daha az işgücü ve pestisit ihtiyacı gerektirdiği için üretim maliyetlerinin düşmesinde, ürün verimliliğinin artmasında ve gıdaların market fiyatlarının düşmesinde de etkin bir role sahiptir (Brookes ve Barfoot, 2009). Ancak, genetik mühendisliği yöntemleriyle elde edilen yeni çeşitlerin insan sağlığı ve çevre üzerindeki olası olumsuz etkileri konusundaki endişeler, GDO olarak da bilinen bu bitkilerin üretiminden tüketiciye sunulmasına kadar geçen çeşitli aşamaların sıkı bir şekilde incelenip risk değerlendirmelerinin yapılmasını, belirli koşullar altında üretilip çoğu zamanda tüketicilerin bilerek tercih yapabilmeleri için etiketlenmelerini zorunlu kılan bir dizi düzenlemelerin oluşturulmasına yol açmıştır (Çetiner ve Budak, 2007). Bu nedenle Avrupa Birliği, bilgilendirme ve etiketlemeyi, tüketicilerin bilinçli tercih yapabilmeleri için bir araç olarak tanımlamış ve 1997’den beri ürünlerin GDO içeriklerinin etiketlenmesi ile belirtilmesini zorunlu tutmuştur (Avrupa Komisyonu, 1997). GDO etiketleme ile ilgili Avrupa Birliğince yapılan en güncel düzenleme Ekim 2003’de EC 1830/2003 Kanunu olarak yayınlanmış olup, bu kanun GDO’lu gıdaların 2013 yılında da kullanılan etiketleme kurallarını belirlemektedir.

Geliştirilen yeni teknolojilerin sağlık ve çevre üzerindeki olumlu/olumsuz etkilerinin ortaya çıkması ya da anlaşılabilmesi uzun yıllar gerektirir. Aynı şekilde GDO’lu ürünler için de henüz yeterli zaman geçmediğinden insan sağlığı ve çevre üzerine etkileri hala tartışılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda ve Tarım Örgütü’ne (FAO) göre (WHO, 2005), süregelmis yöntemlerle geliştirilmiş gıda ürünlerinde ya da hazır

gıdalarda genellikle hiçbir ileri alerji testi yapılmazken, GDO'lu gıdalar analiz testlerinden geçirilerek değerlendirilmektedir. WHO ve FAO raporları dünya pazarındaki GDO'lu gıdaların tüm testlerinin yapıldığını ve hiçbir alerjik etkinin gözlenmediğini belirtmektedir. Risk değerlendirmeleri sonucunda alerjik etkiye sebep olan ürünlerin pazara sunumuna izin verilmeyip ve başvuruları geri çevrilmiştir. Aynı şekilde GDO'lu ürünlerin tüketildiği ülkelerde, bu tüketimin sonucunda insan sağlığı üzerinde hiçbir etkiye rastlanılmadığı açıklanmaktadır. WHO özellikle GDO'lu ürünlerin güvenli olup olmadığıyla ilgili genel yorumlar yapılamayacağını belirterek her farklı ürün için ayrı ayrı değerlendirme yapılabileceğinin üzerinde durmaktadır. Diğer taraftan bu açıklamaların tersine GDO'ların insan sağlığı üzerinde önemli etkilerinin olduğunu işaret eden akademik çalışmaların olduğu bildirilmiştir. Örneğin; transgenik mısır ile beslenen farelerde karaciğer lezyonlarının (Anonim, 2008), transgenik patates ile beslenen farelerde ise pankreas büyümesinin olduğunu ve bağışıklık sisteminde reaksiyonlar geliştiğini göstermektedir (Artemis ve Arvanitoyannis, 2009).

2004-2005 yılları arasında, Hindistan'ın Madya Pradeş bölgesinde GDO'lu pamuğa maruz kalan yüzlerce tarım işçisi, pamuk üretici ve işleyicileri ciddi alerjik rahatsızlıklar yaşadığı ileri sürülmüş olup vaka incelemesi ve sonuçları 2006 yılında Science and Society isimli dergide yayımlanmıştır. 2005 yılında, Canberra, Avustralya'daki Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization'daki bilim adamları, normalde zararsız bir protein içeren bir transgenik fasulyeyi farelerde test ettikleri ve akciğerlerinde iltihaplanma görüldüğünü ayrıca fasulyenin içine dahil edilen yabancı proteinin, diğer besinlerdeki proteinlere karşı da hassasiyeti kışkırttığını belirtmişlerdir. Aynı şekilde, İtalya'daki Urbino, Perugia ve Pavia Üniversitelerindeki bilim adamları, yayınladıkları raporlarda GDO'lu soylarla beslenen genç farelerin pankreas, akciğer ve testis hücrelerinin etkilendiğini ileri sürmüşlerdir (Anonim, 2012b). Örneklerden anlaşılacağı üzere GDO'lu ürünlerin dünya pazarına sunulmadan önce risk analizlerinin yapılması zorunlu ve kaçınılmaz olmaktadır.

AB'deki Rapid Alert sistemi 2008 yılında yaptığı açıklamayla gıda ve yem sanayine yönelik 34 ithal üründe kullanımına izin verilmeyen GDO'nun varlığının tespit edildiğini bildirmiştir. Bunlardan 19'u Çin'den gelen Bt63 türü GDO'lu pirinçtir. Aynı

şekilde 2009 yılında da yine Çin'den gelen üç Bt63 pirinç, bir Bt63 pirinç erişttesi ve bir adet de Tayland pirinci tespit edilmiştir. Dolayısıyla, yasal olmayan yollarla pazara sunulan hammaddelerin ve işlenmiş ürünlerin kullanımına izin verilmeyen GDO'lar açısından analizi zorunludur. AB pazarına ürün satan ihracatçıların da % 0,9'luk etiketleme sınırına uyma zorunluluğu bulunmaktadır. Tüketicilerin GDO konusunda hassas davrandığı pazarlarda ise üreticiler tüm ürünlerini GDO'suz kaynaklardan üretme kararı alabilmekte ve kullandıkları hammaddeler için analiz yoluna gitmektedirler (Şenyuva ve ark., 2013). Özellikle AB tarafından onaylandığı halde marketlerimizde satışa sunulmuş olan bazı gıdalarda yapılan risk değerlendirmeleri sonucunda insan sağlığı açısından çok fazla güvenilir olmadığı sonucuna varılan NK 603, MON 810 ve MON 863 mısır çeşitlerinin kullanımının yaygınlığı hususunda analiz zorunluluğu gerekmektedir (Öztürk, 2011).

GDO analizinde dikkat edilmesi gereken nokta; analiz işleminin kontrolü ve denetiminin ileri bir basamakta olmayıp; gıda zincirine girmeden, işlenmeden önce yapılması gerekliliğidir. Aksi halde, ürünün işlenmiş olduğu baz alınırsa çok sayıda son ürünün analizi gerekecektir. Ülkemizde GDO analizini yürüten çeşitli kurum ve kuruluşlar bulunmaktadır. Bunlardan biri olan TÜBİTAK MAM Gıda Enstitüsü, gıda güvenliğine yönelik çalışmalar kapsamında gıda, tohum ve yem örneklerinde de kantitatif GDO analizlerini yapmaya devam etmektedirler.

## **2.10. Genetiği Değiştirilmiş Organizmayı Tespit Etme Metodları**

GDO tanı teknolojisinin temeli, değiştirilmemiş çeşit ile transgenik bitki arasındaki farkın kullanılmasına dayanır. Bu işlem ya aktarılan yeni DNA'nın veya ifade edilen yeni proteinin belirlenmesi ya da (eğer enzim ise) enzimatik reaksiyonların ürününü tespit etmek için kimyasal analiz yöntemlerinin kullanılmasıdır.

Genetiği değiştirilmiş organizmaları tespit etmek amacıyla kullanılan iki temel yöntem bulunmaktadır. Birincisi, antijen ve antikor arasındaki bağlanma özelliğinden yararlanılarak özel proteinlerin varlığının test edildiği ELISA testi, diğeri ise Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemidir. PZR yöntemi, istenilen bitkiye aktarılmış olan

DNA sekanslarının belirlenmesine dayanır. Bu iki yöntem de örnekteki miktar (%) hakkında bilgi verebilmektedir. Pietsch ve ark. (1997) tarafından geliştirilen bu metot, aktarılan genin konakçı organizmada işlevselliğini artırmak amacıyla gerek duyulan 35S promotör ve nos terminatör kontrol tayinine dayandırılmaktadır. Bunun yanı sıra, DNA temelli yöntemler daha hassas ve güvenilir sonuçlar verdiği için genetiği değiştirilmiş ürünlerin analizinde yaygın olarak kullanılırlar (Querci, 2010). PZR tekniğine dayalı yöntemler istenen kalitatif ve kantitatif analiz yapılmasına olanak sağlar (Anklam ve ark., 2002).

Bitki üzerinde uygulanan genetik manipülasyonlar bir tek istenilen özelliğin değil, belirli bir gen zincirinin aktarılmasıyla meydana gelmektedir. Bu zincirin bileşenleri; promotör (başlatıcı, İng. ‘promoter’) gen olarak isimlendirilen ve bitkiye istenilen özelliği kazandıran (örneğin hebisit direnci) bir yapı, bir terminatör (sonlayıcı, İng. ‘terminator’) ve markör (işaretleyici, belirteç, İng. “marker”) genlerden oluşmaktadır. Promotör, terminatör ve markör genler kendi içerisinde spesifik olmadıkları gibi gerçekleşen değişimin ne olduğu konusunda da fikir vermezler. Bu genler sadece bitkinin genetik bir değişime maruz kalıp kalmadığı hususunda (tarama amaçlı) iyi bir işaretler. Bitkide meydana gelen genetik değişikliğin türünün ve miktarının belirlenmesi amacıyla ise daha detaylı araştırma yapmak gerekmektedir.

GDO’ların tayininde kullanılan farklı PZR yaklaşımları bulunmaktadır. PZR’nin hassasiyeti de doğru primerlerin seçimine bağlıdır. Bu primerler, transformasyon işleminde kullanılmak amacıyla farklı genetik elementlere yönlendirilebilmektedir. PZR tayin sistemleri çoğunlukla tarama yöntemleri olarak adlandırılır. Transformasyonda sıklıkla kullanılan ortak sekanslar, özel primerlerin yerleşimi ve kullanımı temeline dayanmaktadır. Bunlar genellikle promotör ve terminatör olarak adlandırılan düzenleyici sekanslardır.

Genetik olarak değişikliğe uğramış bitkiler, aktarılan yapısal gene göre kategorize edilebilmektedir. Reaksiyonun hassasiyetini yönlendirmenin diğer bir yolu da, değişik genetik elementlerdeki yerleşmiş DNA sekanslarına özel (promotör – yapısal gen, yapısal gen–terminatör) primerler seçmekle mümkün olmaktadır. Özel ve tam sekans bilgisi varlığında ise, genetik olarak değiştirilmiş bitki için gerçekten özel analiz



metotları geliştirmek m¼mk¼n hale gelir. Yalnızca bu ¼zel hatta yer alan ¼zg¼n bir sekans kombinasyonu se¼meyle ¼zel analiz y¼ntemleri geliştirilebilmektedir. Bu işlem genellikle aktarılan yabancı DNA ile konak DNA arasındaki birleşme b¼lgesini boydan boya kapsayan ve DNA dizilimine karşılık gelen bir primer geliştirilerek elde edilebilmektedir. Eklenen DNA (T-DNA) ile konak DNA arasında bulunan birleşme b¼lgesi, olduk¼a hassas PZR testi i¼in ideal bir hedef sağlayan, ¼zg¼n bir n¼kleotid sekansı olmaktadır. DNA'ya dayalı sık¼a kullanılan iki yaklaşım; karşılaştırılmalı PZR ve real time PZR'dir (Querci, 2010).

### **2.10.1. PZR'ye Dayalı Yaklaşım**

DNA'nın izolasyonu ve saflaştırılması, GDO'lu ¼r¼n tespiti ve ¼l¼m¼ işleminde ilk basamağı oluşturmaktadır. Mısır gibi hammaddelerde bu işlem olduk¼a kolay ger¼ekleřtirilmektedir. Fakat, ısıl işleme maruz kalmış ve dolayısıyla DNA'sında bozulma meydana gelmiş, işlenmiş ¼r¼nlerde ise bu işlem olduk¼a zorlaşmaktadır. Kek, bisk¼vi gibi pişmiş gıdalarda ¼r¼n y¼zeyindeki DNA bozulması daha fazla meydana gelmektedir. Bu nedenle numunenin yapısına uygun (asitli, yağlı vb.) farklı DNA izolasyon teknikleri uygulanmalıdır (şenyuva ve ark., 2013).

GDO tayin işlemindeki ¼n şart meydana getirilmiş olan genetik modifikasyonun t¼r¼ hakkında, kullanılan promot¼r ve terminat¼r¼ de i¼ine alacak şekilde transfer edilen genin molek¼ler oluşumu hakkında bilgiye sahip olunması gerektiğidir. Analiz, hedef geni de i¼ine alacak bi¼imde b¼t¼n DNA'yı kapsayan minimum miktarda ¼r¼nek materyal ile yapılmaktadır (Querci, 2010).

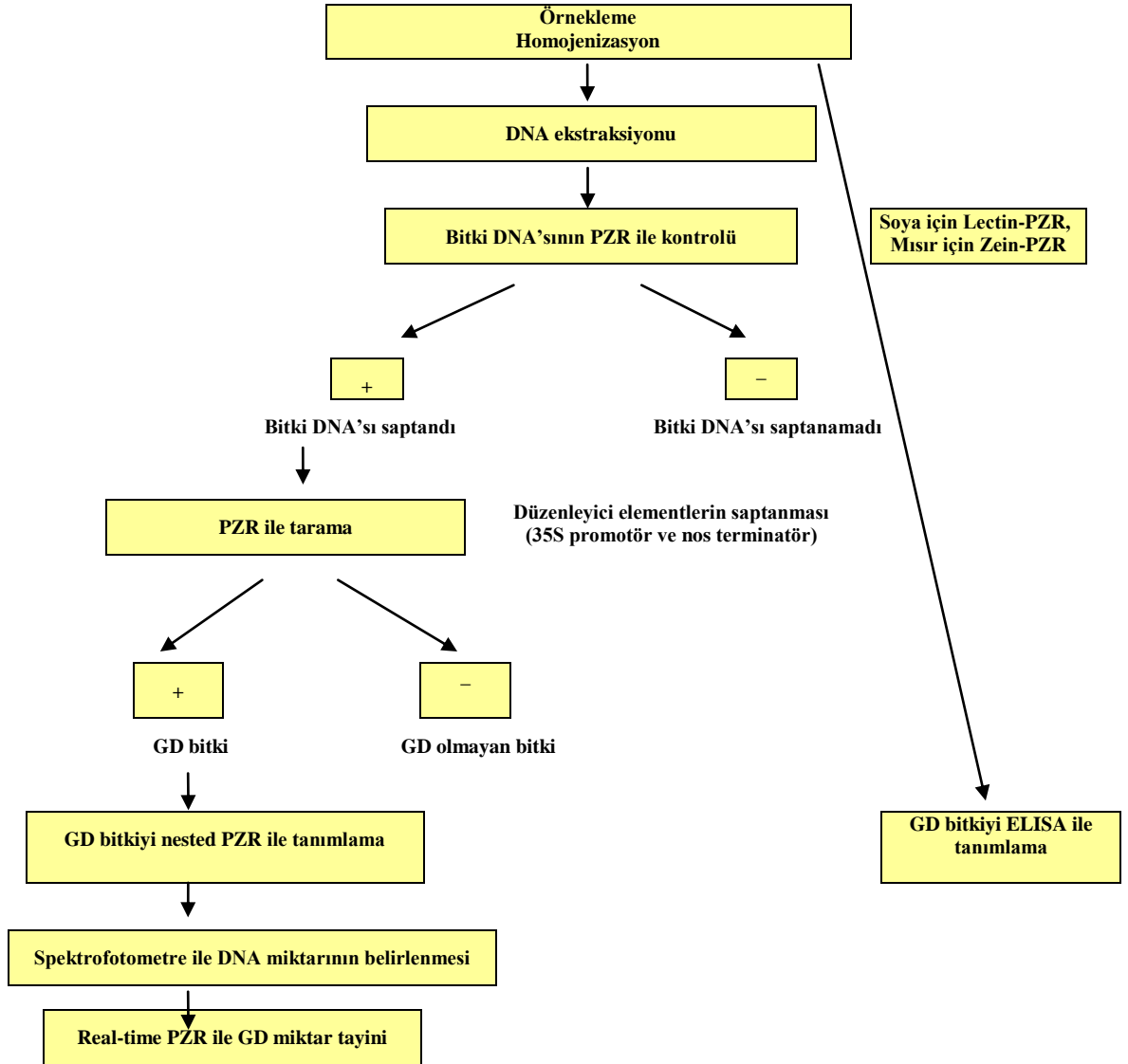
PZR reaksiyonunun g¼venilirlięini sınamak i¼in ¼¼ tip kontrol kullanılabilir. PZR reaksiyonunun verimliliğini sınamak i¼in hedef diziyi i¼erdięi bilinen bir ¼r¼nek pozitif kontrol olarak kullanılmalıdır. Reaksiyon hassasiyetini ve ¼zg¼nl¼ę¼n¼ ¼l¼mek i¼in hedef diziyi i¼ermedięi bilinen bir DNA negatif kontrol olarak kullanılmalıdır. Reaksiyon karışımında oluşabilecek kontaminasyon riskine karşı DNA yerine su kullanılan kalıpsız bir kontrol de kullanılmalıdır.

## 2.10.2. Proteine Dayalı Yaklaşım

İlgi duyulan proteine karşı geliştirilmiş özel antikorlar kullanılmaktadır. ELISA testi özel olarak yahut diğer benzer olmayan proteinlerin de içinde bulunduğu örnekte, istenilen proteini tespit eder ya da ölçer. ELISA testinde esas olarak şu yapılar kullanılmaktadır; özel bir proteine bağlanması amacıyla bir antikor, tespiti çoğaltabilmek amacıyla ikinci bir antikor (isteğe bağlı) ve ilgilenilen protein standardı ile karşılaştırılarak, reaksiyonun sonucunu bir renk ürünü olarak ölçebileceğimiz, antikora bağlı olan bir enzim. ELISA tekniğinin temelini, enzim ile işaretlenmiş immunoreaktan ve immunosorbentin katı bir desteğe bağlanması oluşturmaktadır (İpekçi, 2002; Lübeck, 2002; Yücel, 2002). Test edilecek materyal ile immünize olan hayvan serumundan izole edilmiş özgün proteinler antijen olarak adlandırılır. Bu antijen hayvana enjekte edildiği takdirde hayvan immunosistemi, bu maddeyi yabancı olarak tanımlar ve buna karşı antikor üretimi sağlayarak bir cevap oluşturur. Antijen serumundan izole edilerek indikatör moleküller ile konjuge edilir, kalitatif ve kantitatif analizlerde kullanılır (İpekçi, 2002; Lübeck, 2002). ELISA'nın çok farklı uygulama şekilleri bulunmaktadır. Antijen ile kaplanmış ELISA plakları kullanılabilir (Yücel, 2002).

ELISA testi ile PZR yönteminin karşılaştırılması şu şekilde yapılmıştır; PZR yöntemi bir organizmadaki tüm genetik materyal veya genomda, arzu edilen genin bir ya da birkaç kopyasını tespit edebilecek kadar hassas olabilmektedir. Bunun sonucu olarak da, dikkatsizlik sonucu oluşabilecek çok düşük seviyelerdeki kontaminasyonda dahi yanlış pozitif sonuç verebilmektedir (Querci, 2010). ELISA, PZR'den daha az hassas çalışmaktadır ve yanlış pozitif sonuçlarla daha az karşılaşılmaktadır. Aynı protein özelliğini gösteren farklı transgenik vakalar arasındaki fark, bu test ile ayırt edilemeyebilir. PZR'nin tam aksine proteine dayalı olan testler, sadece ölçülebilir bir protein üretildiği takdirde pratik ve etkili bir analiz yöntemi oluşturmaktadır. Ancak, genetiğiyle oynanmış ürünler yalnızca bazı gelişim safhalarında veya belli bitki bölümlerinde üretilebilmektedir, dolayısıyla bu ürünleri ELISA ile çok kolay bir şekilde ölçmek mümkün olmayabilir. Yine, endüstriyel işlemlerle proteinlerin kolayca bozulması meydana gelmekte ve işlenmiş gıdalarda ELISA testini kullanmak problemli olabilmektedir (Querci, 2010).

GDO'lu ürünlerin belirlenmesi birbirini takip eden farklı aşamalarda yapılmaktadır. İlk aşama DNA'sı izole edilen ürünün GDO'lu olup olmadığına yönelik olan tarama aşamasıdır. Bu aşamada, standart PZR yöntemi ile özellikle en çok kullanılan 35S promotör ve nos terminatör bölgelerinin amplifikasyonu yapılmaktadır. Eğer sonuç pozitif çıkarsa ikinci aşamada hangi çeşit GDO olduğunu belirlemeye yönelik spesifik PZR yöntemleri uygulanır. Son aşamada ise ikinci aşamada belirlenen GDO'nun Real-time PZR kullanılarak kantitatif olarak tayini yapılır (Şekil 2.1) (Querci, 2010). Bu çalışmada da işlenmiş gıda ürünlerinden izole edilen DNA'larda lektin ve zein geni için PZR taraması yapılmış ve daha sonra 35S promotör ve nos terminatör bölgeleri için geliştirilmiş primerler kullanılarak hangi ürünlerin GDO'lu olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2.1. GDO'lu ürünlerin belirlenme aşamaları (Querci ve ark., 2010)

Gıda örneklerinin üretim aşamasında uygulanan fiziksel ve kimyasal işlemler genomik DNA'nın rastgele parçalanmasına ve yapısının bozulmasına neden olarak miktarını azaltmaktadır (Kakihara ve ark., 2005). Bu faktörler işlenmiş gıda ürünlerinden DNA izolasyonunu zorlaştırmaktadır (Holden ve ark., 2003; Gryson ve ark., 2004; Kakihara ve ark., 2005). Bu nedenlerden dolayı her bir işlenmiş gıdaya özgü farklı DNA izolasyon yöntemleri geliştirilmeli ve gerekirse ürün bazında bu protokoller modifiye edilerek uygulanması sağlanmalıdır. Bu konuda dünyada yapılmış çok sayıda araştırmadan bazılarında ait literatürler aşağıda verilmiştir. Tüm araştırmacıların ortak kanıları, işlenmişlik seviyeleri arttıkça DNA ekstraksiyonunun zorlaştığı ve bu nedenle ürüne özgü farklı DNA ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesi ve belirlenmesi gerektiğidir.

Sanhoty ve ark. (2002), değişik marketlerden topladıkları gıda ürünlerinde genetiği değiştirilmiş mısır ve soyanın belirlenmesi için yapmış oldukları çalışmada, DNA izolasyonu sonrasında işlenmiş ürünlerden elde edilen DNA konsantrasyonunu, tohumlardan elde edilen DNA konsantrasyonuna oranla çok daha düşük bulmuşlardır. İşlenmiş ürünlerdeki DNA konsantrasyonunun yok denecek kadar az bulunmasının nedenini bu ürünlerin pişirilme esnasında yüksek sıcaklığa maruz kalmalarına ve dolayısıyla DNA'ların yüksek sıcaklıkta degrade (bozulma) olmalarına bağlamışlardır.

Wang ve Fang (2005), soya ve mısır ürünlerinde yapmış oldukları DNA izolasyonunda CTAB metodunu kullanmışlar, soya ve mısırdaki yer alan protein ve polisakaritleri kloroform ve fenolle uzaklaştırabildiklerini belirtmişlerdir.

Pinto ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; Wizard promega food kiti ile çikolata ve mısır yağı dışındaki bitkisel kökenli yiyeceklerde yapmış oldukları DNA izolasyonundan pozitif sonuç almışlardır. Ancak, elde edilen DNA konsantrasyonunun PZR için yetersiz olduğunu bildirmişlerdir.

Genetiği değiştirilmiş soyayı belirlemek için en uygun DNA izolasyon protokolünün ve PZR metodunun araştırıldığı bir çalışmada; soya tohumu, soya sütü, soya sütü tozu, bebek maması ve meşrubat içeren 26 örnekte DNA izolasyonu için üç çeşit CTAB

metodu kullanılmış, ancak soya sütü, bebek maması ve meşrubat örneklerinin hiçbirinden DNA elde edilememiştir (Ferrari ve ark., 2007).

Kurabiyede ve kurabiye hamurunda genetiği değiştirilmiş soyayı belirlemek amacıyla yürütülen bir araştırmada; sıcaklığın DNA üzerine olan etkisini incelemek için pişirilmeden önce ve sonra kurabiye hamurundan DNA izolasyonu yapıp, elde edilen DNA miktarı karşılaştırılmıştır (Gryson ve ark., 2007). Çalışma sonucunda hamurdan izole edilmiş olan DNA konsantrasyonunun yüksek olduğu ve pişirilmiş ürünün konsantrasyonunun sıcaklıktan dolayı oldukça azaldığı tespit edilmiştir.

Turhan (2008), işlenmiş gıda materyallerinde yapılan DNA izolasyonu araştırmasında Nucleospin food kiti ile DNA izole edebilirken; CTAB metoduyla yapılan DNA izolasyonundan iyi sonuç alınamadığını bildirmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre ham materyalin işlenme aşamaları arttıkça DNA konsantrasyonunun da giderek azaldığı görülmüştür. İstenilen düzeyde DNA elde edilememesinin nedeninin gıdaların pişirilme sırasında yüksek sıcaklığa maruz kalmalarından dolayı DNA'larının yapılarının bozulması olduğu ileri sürülmüştür.

Öztürk (2011), mısır unu, mısır gevreği, mısır nişastası, cin mısır, bebek maması, mısır cipsi, mısır turşusu ve tatlı mısırı içeren çeşitli gıda örneklerinden ve sertifikalı referans materyallerden CTAB DNA izolasyon yöntemini kullanarak DNA izole etmiştir. DNA izolasyonları sonucunda, elde edilen DNA'ların konsantrasyon ve kalitesinin gıda türüne ve işlenmişlik düzeyine bağlı olarak değişiklik gösterdiğini belirterek mısır unu, mısır cipsi, mısır gevreği örneklerinde miktar bakımından daha verimli fakat düşük kalitede DNA'lar elde edildiğini açıklamıştır. Sebep olarak, bu ürünlerin daha yüksek oranda yağ, protein ve karbonhidrat içerdiğinden (hem mısır tanesinin besin kısmından hem de mısır dışı bileşenlerden kaynaklanan) ve DNA izolasyonu sırasında bu bileşenlerin tamamı uzaklaştırılmadığından bu ürünlerden elde edilen DNA'ların saflık bakımından daha kalitesiz olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, yağ, nişasta, mısır gevreği gibi işlenmiş ürünlerden işlenmemiş ya da az işlenmiş ürünlere göre daha düşük verimde DNA elde edilmiş bu durumun bitkilerden üretilen gıdalarda rastlanan bir durum olduğu savunulmuştur (Berdal ve Host-Jensen, 2001; Çetiner ve Budak, 2007).

Yapılan bir diğerk çalışmada, iki GM soya fasulyesi, 13 GM mısır, üç GM kanola ve bir GM pamuk olmak üzere toplam 19 adet genetiği değiştirilmiş organizmanın analizi için bir DNA mikroarray sistemi geliştirilmiştir (Kim ve ark., 2010). Güney Kore ve ABD pazarlarında satılan 37 adet mısır içeren gıda ürünü bu mikroarray sistemi kullanarak GM mısır varlığı açısından test edilmiştir. Bu sistemde 37 gıda numunesinin 11'inde GM mısır tespit edilmiş ve bu sonuçlar spesifik DNA mikroarray sisteminin işlenmiş gıdalarda GDO tespiti için kullanılabilir olduğunu göstermiştir.

Gryson ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada değişik oranlarda Roundup Ready içeren bisküviler hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, pişirmeden kaynaklı toplam DNA fragment uzunluğunun azaldığı ve bunun sonucunda da GDO analizinin zorlaştığı ifade edilmiştir.

Pinto ve ark. (2007), Wizard Magnetic DNA pürifikasyon (Promega) ve DNeasy Tissue Kitleri (Qiagen) olmak üzere iki farklı DNA ekstraksiyon sistemini değişik gıda ürünlerinde karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda Wizard Magnetic DNA pürifikasyon kitinin bitki ürünlerinde daha etkili olduğu vurgulanıp, DNeasy Tissue kitinin ise kompleks ve işlenmiş ürünlerde daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir.

Genetiği değiştirilmiş organizmaların belirlenmesi amacıyla yapılan bir araştırmada (Lipp ve ark., 1999), PZR metoduna dayalı DNA amplifikasyonu gerçekleştirilip, çoğaltılacak fragmentler 35S promotörden ve nos terminatöründen sağlanmıştır. Analiz yapılan 28 örneğin 26'sında GDO belirlenmiştir. Bu metodun yiyeceklerde GDO taramasında kullanılabilereği ifade edilmiştir.

Bitki, yiyecek ve gıda maddelerinde GDO tespiti için güvenli ve hassas metodlar geliştirilmesi önemlidir. Yapılan bir çalışmada, Türk pazarında GD mısır kaynaklı ürünlerde CaMV 35S promotör, nos terminatör ve Bt11 varlığını tespit etmek için bazı yöntemler geliştirilmiştir (Gürakan ve ark., 2011). Sonuçlara göre, ilk kez Türk gıda ve yem ürünlerinde GD mısır varlığı tespit edilmiştir.

Bir diğerk çalışmada, farklı gıda materyallerindeki analizler sonucu, bu materyallerin bazılarının yapılarında lektin-zein geni belirlenmiştir (Wang ve Fang, 2005). İkinci

aşama olarak bu genleri içeren gıda materyallerinde 35S promotör için 35sPF/35sPR primer çifti, nos terminatör için ise Nos1-Nos3 primer çifti kullanılarak tarama yapılmış ve PZR amplifikasyonu sonucunda beklenen bant büyüklüğü görülmemiştir. 35S promotörün ve nos terminatörün varlığının tespit edilememesinden dolayı analizi yapılan gıda materyallerinin GDO'lu olmadığı sonucuna varılmıştır.

Farklı bir araştırmada, 100 etiketli olmayan vejetaryen ve sağlıklı gıda ürünleri örneklerinin genetik modifikasyon varlığı analiz edilmiştir (Zdjelar ve ark., 2013). Test edilen ürünler mısır, soya ve/veya pirinç temelli hammaddelerden oluşmaktadır. Tüm numune taraması CaMV35S promotör primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, ilk taramada olumlu bulunan örnekler daha sonra GDO tipi ve kantifikasyonu için spesifik transgenik materyal analizine tabi tutulmuştur. Sekiz adet soya içeren gıda ürününde Roundup Ready bulunurken, içeriği % 0,9 sınırının altında kalmıştır. İncelenen gıda örneklerinin hiçbirinde GD mısır ve GD pirinç varlığı tespit edilmemiştir.

Oraby ve ark. (2005), hazır gıdalarda 35S promotör ve nos terminatör varlığını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; yerel marketlerden topladıkları ve analiz ettikleri 24 gıda örneği içersinden üç tanesinin 35S promotör taramasında pozitif sonuç verdiğini, nos terminatör taramasında ise tüm ürünlerin negatif sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Çok sayıda işlenmiş gıda materyalinde genetiği değiştirilmiş organizmaları belirlemek için geçerli PZR metodunu bulmak amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada, DNA izolasyonları yapılan gıda materyallerinde 35S promotörün ve nos terminatörün belirlenmesi için yapılan PZR taramalarında iyi sonuç verecek çeşitli primer çiftlerinin denemesi yapılmış ve 35S promotörü için incelenen tüm materyallerde 35S-cf3/35S-cr4 primer çiftinin en iyi sonucu verdiği gözlemlenmiştir (Lipp ve ark., 2001). Nos terminatörü için, tüm materyallerde denenmiş olan primer çiftlerinin içinden en küçük amplikonu veren HA-nos-118f/HA-nos-118r primer çifti uygun bulunmuştur.

Herzallah (2012) çalışmasında, Ürdünlü tüketicilerin GD gıdalara maruz kalma düzeyini araştırmıştır. Ürdün pazarlarında satılan 200 gıda ve 80 yem örneğinde DNA izolasyonu akabinde polimeraz zincir reaksiyonu ile tarama işlemini gerçekleştirip real-

time PZR ile de ölçüm yapmıştır. GDO tarama ve ölçümü Roundup Ready (RR) soya, Bt 176 veya 35S hedef sekans genlerinin varlığına dayanmıştır. GD pozitif örnekler real-time PZR ile ölçülmüştür. 15 gıda ve yem örneği Bt-176 veya RR soya genleri açısından pozitif bulunurken, toplam gıda test örneklerinin % 5,4'ünün GDO'lu olduğu tespit edilmiştir. Toplam ürünlerin % 62,5'inde % 1'den daha az ve % 37,5'inde % 1'den daha fazla oranda GDO saptanmıştır.

Elsanhoty ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada ham ve işlenmiş mısır ürünlerinden DNA izole etmek için altı farklı yöntemi karşılaştırmışlardır. Kullanılan farklı yöntemler ile mısır çekirdekleri (muamelesiz), mısır unu (mekanik arıtma), konserve mısır (tatlı mısır), dondurulmuş mısır, mısır nişastası, ekstrüde mısır, patlamış mısır, mısır gevreği, mısır aperişleri ve mısır unundan yapılan ekmek gibi ürünlerden DNA izolasyonu yapılmıştır. Örneklerde genetik modifikasyonun taranmasında kalitatif tespit için GMO Screen 35S/Nos test kiti kullanılmıştır. 35S promotör ve/veya nos terminatör için pozitif örnekler AB tarafından kabul edilen standart yöntemlerle belirlenmiştir. Kullanılan tüm yöntemler ile DNA izole edilmiştir. Ancak, daha saf DNA ekstraktı, DNA ekstraksiyon kiti (Roche) kullanılarak elde edilirken, bu kitin mısır kaynaklı gıdaların çoğunda en iyi sonucu verdiği tespit edilmiştir. İşlenmiş mısır kaynaklı gıdalarda ise elde edilen DNA veriminin genellikle daha düşük olduğu bildirilmiştir. 17 örnekte 35S promotör varlığı tespit edilirken, genetiği değiştirilmiş Bt-176 mısır hattının da % 34 pozitif olduğu açıklanmıştır.

Vollenhofer ve ark. (1999), genetiği değiştirilmiş organizmaları belirlemek için PZR metotları geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri bu metotları gıdalardaki böceğe dayanıklı mısırın ve glifosfat toleranslı soyanın spesifik olarak belirlenmesinde kullanmışlardır. Tarama esnasında kullanılan primerlerin geliştirilmesi 35S promotörün (Cauliflower mosaic virüsünden izole edilen), nos terminatörün (*Agrobacterium tumefaciens*'ten izole edilen) ve antibiyotik belirleyici geni olan NPTII (neomycin phospho transferase II)'nin çoğaltılmasıyla sağlanmıştır. Elde edilen metot, tohumda ve işlenmiş ürünlerdeki GDO'ları belirlemede yüksek derecede duyarlılık göstermiştir.

Roundup Ready soyanın tayininde farklı PZR protokollerinin karşılaştırıldığı bir araştırmada, yeşil bitki dokusundan DNA izole etmede CTAB protokolü kullanılmıştır



(Ovesna ve ark., 2002). DNA tayini esnasında, Leu-t RNA geni spesifik primerlerinden farklı olarak lektin kodlayan spesifik primerler kullanılmıştır. CaMV sekans spesifik primer çiftiyle yapılan testlerde spesifik olmayan ürünlerde çoğalma görülmemiştir. Araştırma sonunda nos terminatör primer çiftinin GDO taramaları için kullanılabilceği bildirilmiştir.

Mısır'da yapılan bir çalışmada genetik olarak değiştirilmiş soya ve mısırın tespit işlemi için farklı marketlerden toplanan 40 adet soya ve 40 adet mısır içeren üründe kalitatif ve kantitatif analizler yapılmıştır (Sanhoty ve ark., 2002). Bu analizlerin sonucunda, soya ürünlerinin % 20'sinin Roundup Ready, mısır ürünlerinin % 15'inin Bt176 ve % 12,5'inin Bt11 içerdiği belirlenmiştir. Bt11 ve Bt176 içeren dört örnekte StarLink mısır çeşidi karışık olarak bulunmuştur. Araştırmacılar, DNA izolasyonu sonrasında, tohumlardan elde edilen DNA konsantrasyonunun yüksek sıcaklığa maruz kalan işlenmiş ürünlerden elde edilen DNA konsantrasyonuna oranla fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Farklı bir araştırmada genetiği değiştirilmiş mısır tayini amacıyla DNA ekstraksiyonunda CTAB yöntemi kullanılmış, PZR ve ELISA testiyle de genetiği değiştirilmiş mısırın tayini yapılmıştır (Yamaguchi ve ark., 2003). Çalışma sonucunda PZR metoduyla ELISA testi arasında bir uyumsuzluğa rastlanılmamış, ancak PZR metoduyla transgenik mısırın çeşidi tespit edilebildiği için bu yöntemin daha avantajlı olduğu ifade edilmiştir.

Wang ve Fang (2005) tarafından yapılan çalışmada araştırmacılar, genetiği değiştirilmiş soyları çoklu PZR (multiple PZR) yaparak kalitatif olarak belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmada 35sP (Cauliflower mosaic virus, 35S promotör), nosT (*Agrobacterium tumefaciens*, nopaline synthase terminatör), 35sP/CTP (*Petunia hybrida*, EPSPS chloroplast transit peptide) ve Lec (lektin) primerleri olmak üzere dört primer kullanılmıştır. Çoklu PZR yapılarak marketlerden temin edilen 21 soya örneğinden 14'ünün transgenik olduğu belirlenmiştir. Soyada transgenik yiyeceklerin belirlenmesinde, çoklu PZR yönteminin etkili ve hızlı bir yöntem olduğu vurgulanmıştır.

Bir diğerk çalışmada, genetiği değiştirilmiş mısır ve soyada çoklu PZR yöntemi karşılaştırılıp yeni bir yöntem geliştirilmiştir (Forte ve ark., 2005). Bitkiye özgü primerler ile 35S promotör ve nos terminatör bölgelerini çoğaltan primerler birlikte kullanılmıştır. Sonuçta, çoklu PZR analizinin; genetiği değiştirilmiş mısır ve soya ürünlerini hızlı, ucuz, tekrarlanabilir şekilde ve daha kısa sürede analiz ettiği belirtilmiştir.

Oraby ve ark. (2005), genetiği değiştirilmiş ve genetiği değiştirilmemiş yiyecek ürünlerini belirlemek için kalitatif PZR tekniğini kullanmışlardır. Marketlerden satın alınan 24 yiyecek örneğinde, GDO analizi için çokça kullanılan iki primer ile 35S promotör ve nos terminatörü incelenmiştir. Çıkan sonuca göre, test edilen 24 örnekten üçünde 35S promotörü belirlendiği, hiçbir örnekte nos terminatörü belirlenmediği belirtilmiştir.

Margarit ve ark. (2006), transgenik mısırdaki var olan CryIA(b) geninin tayini ve CryIA(b) proteinin miktarını ölçmek amacıyla değişik yiyecek maddelerini analiz etmişlerdir. Transgenik mısırla hazırlanmış olup marketlerde satılan 32 yiyecek ürününden 8 tanesinde Bt11'in varlığı tespit edilmiştir.

PZR metoduyla genetiği değiştirilmiş organizma tayini için Brezilya'daki marketlerden soya unu, soya sütü tozu ve soyayla yapılan bebek mamaları temin edilmiş ve nested PZR yöntemiyle 169 baz çiftlik ampikon veren soya örnekleri karışımının 0,01 - % 10 ve % 0 oranında genetiği değiştirilmiş soya içerdiği saptanmıştır (Brod ve ark., 2007). Sonuçta, bebek mamalarının hiçbirinde genetiği değiştirilmiş soyaya rastlanmamıştır. Altı soya örneğinin dördünün, 25 soya sütü tozunun 15'inin Roundup Ready soya için pozitif sonuç verdiği gözlenmiştir. Araştırmacılar, nested PZR metodunu hazır ürünlerde genetiği değiştirilmiş soya tayini için uygun bulmuşlardır.

Turhan (2008) yaptığı çalışmada; Türkiye'deki farklı firma ve marketlerden satın alınan soya ve mısır tohumları ile soya veya mısır içeren un, bisküvi, çikolata, cips, mısır gevreği, nişasta ve bebek sütü gibi ürünler de GDO analizi yapmıştır. Ön tarama işlemi için 35sPF, 35sPR ve Nos1, Nos3 primerlerinin kullanıldığı araştırmada, Roundup Ready soyanın belirlenmesi için GMO5, GMO9, GMO7 ve GMO8 primerleri (Meyer

ve Jaccaud, 1997) kullanılmıştır. Mısırdaki ise MON810'un belirlenmesi için Zimmermann ve ark. (1998) tarafından geliştirilen mg1, mg2, mg3 ve mg4 primerleri; Bt176'nın belirlenmesi için Studer ve ark. (1997)'nin geliştirdiği CRYIA1, CRYIA2, CRYIA3 ve CRYIA4 primerleri; Bt11'in belirlenmesi için ise 11Bt1, 11Bt2, 11Bt3 ve 11Bt4 primerleri (Studer ve ark., 1997) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda analiz edilen tüm ithal soya ve mısır tohumlarının genetiği değiştirilmiş olduğu belirlenmiştir. Lektin ve zein geni içeren gıda materyallerinde yapılan tarama sonucunda 35S promotör ve nos terminatör için beklenen bant büyüklüğü elde edilememiştir. Bundan dolayı gıda materyallerinde GDO belirlenmemiş, analizlere devam edilmemiştir.

Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada (Öztürk, 2011) ise transgenik ürünler arasında önemli bir paya sahip mısır ve mısırdan üretilmiş gıdaların kalitatif ve kantitatif transgen içerikleri belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada çeşitli mısır ürünlerinde, yabancı genlerin varlığı ve miktarı, pek çok transgenik mısırdaki bulunan düzenleyici diziler olan CaMV 35S promotör ve nos terminatör dizilerinin kalitatif ve kantitatif PZR analizleriyle araştırılmıştır. 35S dizisinin varlığının belirlenmesi amacıyla iki farklı primer çifti kullanılmış ancak gerçekleştirilen kalitatif PZR sonucunda hiçbir örnekte 35S bölgesi tespit edilememiştir. Örneklerde 35S varlığının tespit edilememesinin 35S dizisini içeren DNA konsantrasyonunun tespit edilme limitinin altında olmasından, örneklerin DNA kalitesinin 35S promotör dizisinin saptanması için yeterli olmamasından (35S bölgesinde oluşan DNA kırılmaları) ya da söz konusu örneklerde GA21 ve MIR604 gibi nos terminatörünü içeren fakat 35S promotörünü içermeyen mısır çeşitlerinin (Anonim, 2011) kullanılmasından dolayı olabileceği ileri sürülmüştür. Nos dizisinin varlığını tespit etmek için yapılan kalitatif PZR'ler sonucunda ise on üç örnekten sekizinde nos terminatör dizisinin varlığı tespit edilmiş ve bu sekiz üründen üç tanesinin ülkemizde GDO kullanımının yasak olduğu bebek maması örneklerinde rastlandığı açıklanmıştır. Bu çalışma ile pek çok transgenik üründe onaylanmış düzenleyici diziler olarak kullanılan 35S promotörünün ve nos terminatörünün belirlenmesine dayanan PZR analizleriyle çeşitli örnek grupları kalitatif olarak taranmıştır. Bu analizler sonucunda GDO ürünlerini içerdiği saptanan gıdalarda transgen miktarı kantitatif olarak bulunmuştur. Bu analizlerin sonucunda, ülkemizde satışa sunulmuş bebek maması dahil pek çok gıda örneğinin GDO kökenli ürünleri içerdiği tespit edildiği vurgulanmıştır (Öztürk, 2011).

Başka bir çalışmada, ham ve işlenmiş olmak üzere insan yiyeceği ve hayvan yemlerinde DNA izolasyonu için iki farklı yöntem denenmiştir (Tung Nguyen ve ark., 2009). Numune olarak soya fasulyesi, mısır, hayvan yemi, peynir ve soya sütü kullanılmıştır. CTAB yöntemiyle soya fasulyesi (32,7 ng DNA/mg), mısır (28,4 ng DNA/mg) ve hayvan yemi (33,4 ng DNA/mg) örneklerinden yüksek verimde DNA izole edilirken; A260/280 absorbansta DNA kaliteleri sırasıyla 1,9, 1,9 ve 2,0 olarak kaydedilmiştir. Elde edilen DNA'lar PZR amplifikasyonu için uygun bulunmuş olup, soya fasulyesinde lectin geni için 164 bç'lik, mısırdaki zein geni için 277 bç'lik fragmentler gözlenmiştir. Peynir ve soya sütü örneklerinde Wizard izolasyon yöntemi en uygun bulunurken, sırasıyla 13,2 ve 3,4 ng DNA/mg oranında DNA izole edilmiş ve A260/280 absorbansta DNA kaliteleri 1,9 ile 1,7 olarak kaydedilmiştir.

Yapılan bu çalışmada da market raflarında satışa sunulan farklı markalara özgü bisküvi (4), mısır gevreği (2), kraker (4), mısır cipsi (5), mısır nişastası (2), mısır unu (2), cin mısır, tatlı mısır, bebek maması (2), kek (2), mısır patlağı, soya unundan oluşan toplam 27 adet gıda ürünü için altı farklı izolasyon metodu ve iki adet DNA kiti kullanılarak en iyi DNA izolasyon yöntemi tespit edilip, soya ve/veya mısır GDO taraması yapılmıştır.

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada materyal olarak değişik marketlerden temin edilen soya ve/veya mısır içeren un, bisküvi, kraker, çips, mısır gevreği ve nişasta gibi gıda ürünleri kullanılmıştır. Materyal olarak; ülkemizde satışa sunulmuş soya ve/veya mısır içeren farklı işlenmişlik seviyelerindeki farklı markalardan 12 farklı çeşit olmak üzere toplam 27 adet gıda ürünü (bisküvi (4), mısır gevreği (2), kraker (4), mısır cipsi (5), mısır nişastası (2), mısır unu (2), cin mısır, tatlı mısır, bebek maması (2), kek (2), mısır patlağı, soya unu) kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Pozitif kontrol için kullanılan standart materyaller (GD soya küspesi ve GD mısır) TÜBİTAK-MAM Biyoteknoloji Enstitüsünden temin edilmiştir. PZR analizlerinde negatif kontrol olarak buğday DNA'sı kullanılmıştır.

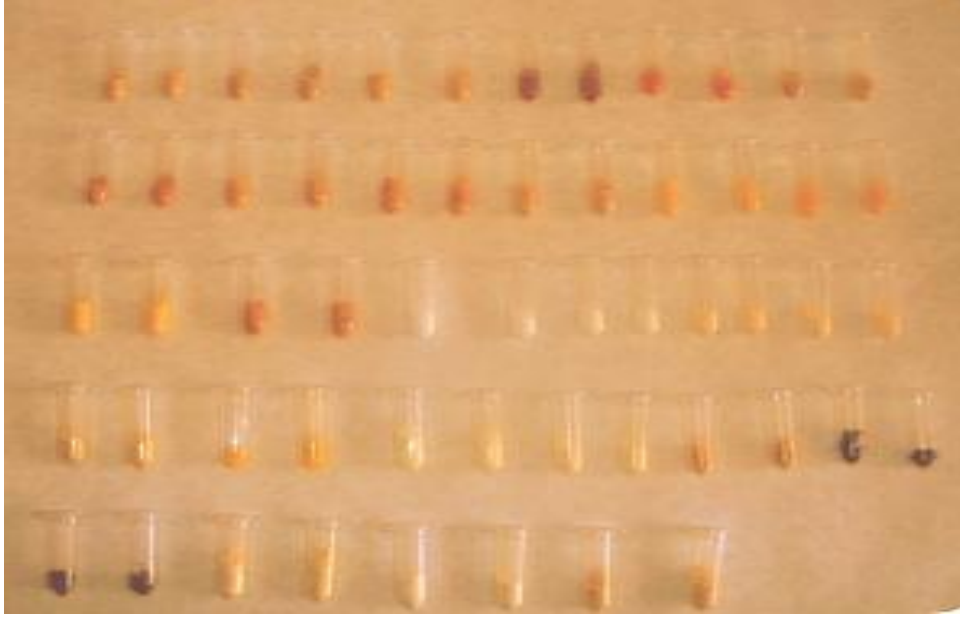
**Çizelge 3.1.** GDO analizi için kullanılan örnekler

Örnek No	Gıda Ürünü	Örnek No	Gıda Ürünü
Örnek 1	Bisküvi (marka 1)	Örnek 16	Mısır Nişastası (marka 1)
Örnek 2	Bisküvi (marka 2)	Örnek 17	Mısır Nişastası (marka 2)
Örnek 3	Bisküvi (marka 3)	Örnek 18	Mısır Unu (marka 1)
Örnek 4	Bisküvi (marka 4)	Örnek 19	Mısır Unu (marka 2)
Örnek 5	Mısır Cipsi (marka 1)	Örnek 20	Cin Mısır
Örnek 6	Mısır Gevreği (marka 1)	Örnek 21	Tatlı Mısır
Örnek 7	Mısır Gevreği (marka 2)	Örnek 22	Bebek Maması (marka 1)
Örnek 8	Kraker (marka 1)	Örnek 23	Bebek Maması (marka 2)
Örnek 9	Kraker (marka 2)	Örnek 24	Kek (marka 1)
Örnek 10	Kraker (marka 3)	Örnek 25	Kek (marka 2)
Örnek 11	Kraker (marka 4)	Örnek 26	Mısır Patlağı
Örnek 12	Mısır Cipsi (marka 2)	Örnek 27	Soya Unu
Örnek 13	Mısır Cipsi (marka 3)	Pozitif kontrol (28)	GD Mısır
Örnek 14	Mısır Cipsi (marka 4)	Pozitif kontrol (29)	GD Soya Küspesi
Örnek 15	Mısır Cipsi (marka 5)	Negatif kontrol (30)	Buğday Tohumu

## 3.2. Metod

### 3.2.1. DNA İzolasyonu

Örneklerden yüksek kalitede ve saflıkta DNA elde edebilmek için en uygun izolasyon yönteminin seçilmesi GDO analizinin birinci adımını oluşturmaktadır. Kalitatif ve kantitatif PZR metotlarının uygulanabilmesi için DNA'nın yeterli saflıkta, kalitede ve miktarda elde edilmiş olması gerekmektedir. Bu nedenle bu çalışmada Wizard metodu (Hemmer, 1997), lysis buffer içinde % 1 BME ( $\beta$ -mercaptoethanol) eklenmiş modifiye Wizard metodu (Tung Nguyen ve ark., 2009), örneklerin TNE tamponu ile ön inkübasyonuna dayalı kombinasyon yöntemi (Tung Nguyen ve ark., 2009), CTAB metodu (Jankiewicz ve ark., 1999), lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye CTAB metodu (Tung Nguyen ve ark., 2009) ve CTAB yöntemi (Rogers ve Bendich, 1985) olmak üzere altı farklı DNA izolasyonu protokolü ile iki adet DNA kiti (DNeasy® Mericon™ Food Handbook, Qiagen ve GENESpin, Eurofins GeneScan DNA extraction kiti) kullanılarak her bir işlenmiş gıda ürünü için en uygun ekstraksiyon protokolü tespit edilmiştir. İşlemin güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini test etmek amacıyla her örnek için DNA izolasyon yöntemi üç kez tekrar edilip işlem esnasında ortamdaki kaynaklanabilecek kontaminasyon riskine karşı her bir sette bir tüp içine örnek yerine su kullanılarak işlem basamakları aynen uygulanmıştır. Gıda örnekleri havanda dövülerek homojenizasyon işlemi (Şekil 3.1) gerçekleştirildikten sonra ekstraksiyon basamakları uygulanmıştır.



**Şekil 3.1.** Havanda dövülerek homojenize işlemi yapılan gıda örnekleri

Gıda ürünlerinden ekstrakte edilen DNA'ların miktarlarının belirlenmesi amacıyla % 0,8'lik agaroz jeller kullanılmıştır. Spektrofotometrik ölçümlerle de (A260/A280 absorbanı ölçümleri) izole edilen DNA'ların konsantrasyonu ve kalitesi belirlenmiştir. 260 nm dalga boyunda ölçülmüş olan absorban değerine göre DNA'ların konsantrasyonları ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) ve 260/280 oranıyla DNA'ların saflık kontrolü yapılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan farklı DNA izolasyonu yöntemlerinin modifiye şekilleri aşağıda verilmiştir. Her bir gıda örneği havanda ezilerek öğütülmüştür.

### **3.2.1.1. Protokol - 1 Wizard Yöntemi (Hemmer, 1997)**

1. Homojenize edilen gıda örneği (350 mg) 1,5 ml'lik steril eppendorf tüplere aktarılır. Üzerine 860  $\mu\text{l}$ 'lik TNE tamponu [200 ml TNE tamponu solüsyonu: 150 ml ddH<sub>2</sub>O içinde 0,315 g Tris-HCl, 1,755 g NaCl (150 mM NaCl), 0,15 g EDTA (2 mM EDTA), 2 g SDS (% 1 SDS) eklenir. 200 ml'ye tamamlanarak pH 8'e ayarlanıp otoklavlanır] eklenir ve daha sonra 40  $\mu\text{l}$  proteinaz K (20 mg/ml) ilave edilir.
2. Su banyosu içinde 55 °C'de üç saat inkübe edilir. Daha sonra 13,000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. Üstte kalan sıvı kısmın (süpernatant) yaklaşık 500  $\mu\text{l}$ 'si yeni bir 1,5 ml'lik tüp içine alınır (Şekil 3.2) ve üstüne aynı hacimde kloroform ilave edilir.



**Şekil 3.2.** Gıda örneğinden elde edilen süpernatant kısım

3. Karışım, 10 dk 13,000 rpm’de santrifüj edilir ve üst faz yeni bir 1,5 ml’lik tüpe transfer edilir. Süpernatantla tekrar aynı hacimde kloroform eklenir ve 10 dk 13,000 rpm’de santrifüj edilir ve üst faz yeni bir 1,5 ml’lik tüp içine alınır.
4. Yaklaşık 500 µl’lik süpernatanta 15 µl 3M sodyum asetat (pH 5,2) ve 50 µl saf etanol eklenir ve böylece kalan nişasta polisakkaridler çökeltilir. Karışım, 15 dk boyunca buz üzerinde tutulur ve daha sonra 13,000 rpm’de 7 dk santrifüj edilir.
5. Sonra, süpernatant yeni bir 1,5 ml’lik tüp içine alınır ve 5 µl 3M sodyum asetat (pH 5,2) ile 500 µl saf etanol ilave edilir.
6. Karışım DNA’nın çökmesine izin vermek için 15 dk süreyle buz üzerinde inkübe edilir ve sonra 12,000 rpm’de 7 dk santrifüj edilir. Santrifüjden sonra sıvı kısım dökülür ve pelet elde edilir.
7. Tüplere 500 µl % 70’lik etanol eklenerek pelet yıkanır. 12,000 rpm’de 10 dk santrifüj edilir, sıvı kısım dökülür ve pelet, içindeki etanolün tamamen uçurulmasını sağlamak amacıyla oda sıcaklığında bırakılarak kurutulur.
8. Pelet 100 µl ddH<sub>2</sub>O içinde eritilir ve -20 °C’de muhafaza edilir.

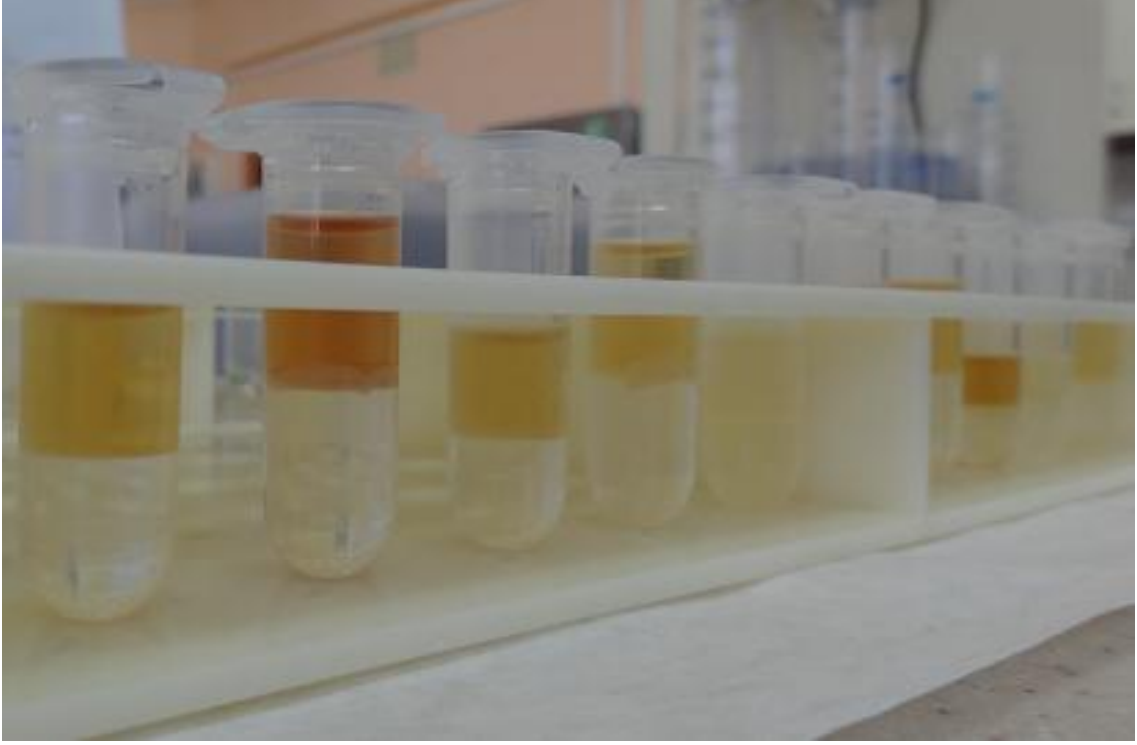


### **3.2.1.2. Protokol - 2 Lysis Buffer İçinde % 1 BME Eklenmiş Modifiye Wizard Metodu**

İlk aşamada kullanılan TNE tamponu içine % 1 BME eklenir (Tung Nguyen ve ark., 2009). Diğer aşamalar protokol 1 ile aynıdır.

### **3.2.1.3. Protokol - 3 Örneklerin TNE Tamponu ile Ön İnkübasyonuna Dayalı Kombinasyon Yöntemi (Tung Nguyen ve ark., 2009)**

1. Homojenize edilen gıda örneği (350 mg) steril eppendorf tüplere aktarılır. Üzerine 860 µl'lik TNE tamponu [10 mM Tris-HCl (pH 8), 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, % 1 SDS] eklenir ve daha sonra 40 µl proteinaz K (20 mg/ml) ilave edilerek iyice vortekslenir.
2. Karışım bir su banyosu içinde 55 °C'de 1:30 saat süre ile inkübe edilir. Daha sonra, karışıma 500 µl CTAB tamponu [200 ml CTAB tamponu içeriği (pH 8,0): 20 g/l CTAB, 1,4 M NaCl, 0,1 M Tris HCl, 20 mM Na<sub>2</sub>EDTA pH 8,0'e ayarlanıp, ddH<sub>2</sub>O ile 200 ml'ye tamamlanır ve otoklavlanır] ilave edilir ve 65 °C'de 30 dk daha inkübe edilir.
3. 13,000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. Daha sonra 650 µl süpernatant yeni bir 1,5 ml'lik tüp içine alınır, eşit hacimde kloroform eklenir ve yavaşça karıştırılır (Şekil 3.3).
4. Karışım 13,000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir ve üst faz yeni bir 1,5 ml'lik tüp içine alınır. Kloroform ekstraksiyonu net bir ara yüz elde etmek için iki kez tekrarlanır. Süpernatant yeni bir 1,5 ml'lik tüp içine alınır, eşit hacimde kloroform eklenir ve yavaşça karıştırılır.



**Şekil 3.3.** Süpernatant ve kloroform ayırımı gerçekleşmiş gıda örneği

5. Karışım 13,000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir ve üst faz yeni bir 1,5 ml'lik tüp içine alınır. Daha sonra, 500 µl'lik süpernatanta 15 µl 3M sodyum asetat (pH 5,2) ve 500 µl saf etanol ilave edilir.
6. Karışım 15 dk boyunca buz üzerinde tutulur ve daha sonra 13,000 rpm'de 7dk santrifüj edilir. Daha sonra, süpernatant yeni bir 1,5 ml'lik tüp içine alınır ve 5 µl 3M sodyum asetat (pH 5,2) ve 500 µl saf etanol ilave edilir.
7. Karışım DNA çökmesi için 15 dk süreyle buz üzerinde inkübe edilir ve daha sonra 12,000 rpm'de 7 dk santrifüj edilir ve sıvı kısım dökülerek pelet elde edilir.
8. Pelet yavaşça 500 µl % 70'lik etanol eklenerek yıkanır. 12,000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir, sıvı kısım dökülür ve pelet içindeki etanolün tamamen uçurulmasını sağlamak amacıyla oda sıcaklığında bırakılarak kurutulur.
9. Pelet 100 µl ddH<sub>2</sub>O içinde eritilir ve -20 °C'de muhafaza edilir.

### **3.2.1.4. Protokol - 4 CTAB Yöntemi (Jankiewicz ve ark., 1999)**

1. Homojenize edilen gıda örneği (350 mg) 1,5 ml'lik steril eppendorf tüplere aktarılır. Üzerine 500 µl'lik CTAB tamponu [20 g/l CTAB, 1,4 M NaCl, 100 mM Tris-HCl (pH 8), 20 mM EDTA] eklenir, karıştırılır ve 65 °C'de 30 dk inkübe edilir. Daha sonra 13,000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir.
2. Süpernatant yeni bir 1,5 ml'lik tüpe aktarılır, 200 µl kloroform ile ekstrakte edilir ve 13,000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir.
3. Üst faz yeni bir 1,5 ml'lik tüp içine transfer edilir, süpernatant ile eşit hacimde isopropanol ile çökeltilip 13,000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir.
4. Sıvı kısım atılır, pelet 500 µl % 70 etanol ile yıkanır ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılır.
5. Pelet 100 µl ddH<sub>2</sub>O içinde eritilir ve -20 °C'de saklanır.

### **3.2.1.5. Protokol - 5 Lysis Buffer İçinde % 1 BME Eklenmiş Modifiye CTAB Metodu**

Protokol 4'te kullanılan CTAB bufferın içine % 1 BME eklenir. Diğer aşamalar protokol 4 ile aynıdır (Tung Nguyen ve ark., 2009).

### **3.2.1.6. Protokol - 6 CTAB Yöntemi (Rogers ve Bendich, 1985)**

1. 100 mg'lık un haline getirilerek homojenize edilen örnek 1,5 ml'lik steril bir eppendorf tüpe aktarılır.
2. Üzerine 300 µl ddH<sub>2</sub>O eklenerek vorteks ile karıştırılır. Daha sonra üzerine 500 µl CTAB-tamponu [20 g/l CTAB, 1,4 M NaCl, 100 mM Tris-HCl (pH 8), 20 mM EDTA] eklenir ve vorteks ile tekrar karıştırılır.

3. 20 µl proteinaz K (20 mg/ml) eklendikten sonra karıştırılır ve 65 °C'de 90 dk inkübe edilir.
4. İlk inkübasyondan sonra 20 µl RNase A (10 mg/ml) eklenir ve karıştırıldıktan sonra 65 °C'de 5 dk daha inkübasyona bırakılır.
5. İnkübasyon işleminin ardından tüpler 13,000 rpm'de 10 dk santrifüjlenir.
6. Süpernatant 500 µl kloroform/isoamilalkol (24/1) içeren bir tüpe eklenir ve 30 sn karıştırılır.
7. Tüpler 13,000 rpm'de 10 dk santrifüjlenerek faz ayrımı sağlanır ve üst tabaka yeni bir reaksiyon tüpüne aktarılır.
8. İki hacim (üst tabaka çözelti hacminin iki katı) CTAB Precipitation çözeltisi (5 g/l CTAB, 0,04 M NaCl) eklenip, pipet ile iyice karıştırılır.
9. Bu işlemin ardından tüpler 60 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır.
10. Pelet oluşumunu sağlamak için 13,000 rpm'de 5 dk santrifüjlendikten sonra sıvı kısım atılır.
11. Pelet 350 µl NaCl (1,2 M)'de çözdürülüp, üzerine 350 µl kloroform: isoamilalkol (24:1) karışımı eklenerek 30 sn karıştırılır.
12. Daha sonra tüpler faz ayrımı sağlanıncaya kadar (yaklaşık 10 dk) 13,000 rpm'de santrifüjlenir.
13. Nükleik asidin çöktürülmesi amacıyla üst tabaka yeni bir reaksiyon tüpüne aktarılıp, üzerine 0,6 hacim izopropanol eklenir ve karıştırılır.
14. Tüpler 13,000 rpm'de 10 dk yeniden santrifüjlenerek, sıvı kısım atılır.
15. Pelet kısmına % 70'lik etanol çözeltisinden 500 µl eklenip, dikkatlice karıştırılır.

16. Tüpler 13,000 rpm'de 10 dk santrifüjlendikten sonra sıvı kısım tekrar atılır.
17. Pelet içindeki etanolün tamamem uçurulmasını sağlamak amacıyla tüpler oda sıcaklığında bırakılarak kurutulur.
18. Elde edilen pelet 100 µl ddH<sub>2</sub>O içinde eritilir. Sonuçta saflaştırılmış DNA elde edilir. Elde edilen DNA, daha sonra kullanmak amacıyla -20 °C'de muhafaza edilir.
19. Sonuçta saflaştırılmış DNA elde edilir. Elde edilen DNA, daha sonra kullanmak amacıyla -20 °C'de muhafaza edilir.

### **3.2.1.7. Protokol - 7 GENESpin, Eurofins GeneScan DNA Ekstraksiyon Kit Protokolü**

1. 200 mg'lık un haline getirilerek homojenize edilen örnek 1,5 ml'lik steril bir ependorf tüpe aktarılır.
2. 65 °C'de önceden su banyosunda bekletilmiş Lysis (CF) çözeltisinden 550 µL eklenir.
3. 15 sn altüst edilip, 10 µL proteinaz K eklenir ve 2-3 sn karıştırılır.
4. Numuneler 65 °C'deki su banyosunda 30 dk bekletilir. 10 µL RNase (20 mg/ml) ilave edilir.
5. Tüpler oda ısısında 30 dk bekletilir ve 13,300 rpm'de 1 dk santrifüj edilir.
6. Süpernatant kısmı yeni 1,5 ml'lik tüplere aktarılır. Eşit hacimde C<sub>4</sub> solüsyonu (3000 µL C<sub>4</sub>; 600 µL C<sub>3</sub> ve 2400 µL C<sub>2</sub> karıştırılıp, 45 °C'de 5 dk bekletilir) ve yine eşit hacimde etanol eklenip, 30 sn vortekslenir.
7. Spin kolonu, toplama tüpüne takıp 6. maddede hazırlanmış olan karışımdan (süpernatant, C<sub>4</sub>, etanol) 700 µl kolonun üstüne bırakılır ve 14,000 rpm'de 1 dk santrifüj edilir.

8. Altıncı maddedeki geriye kalan karışımın hepsi alınıp tekrar kolonun üstüne bırakılır ve 14,000 rpm'de 1 dk santrifüj edilir.
9. Toplama tüpü değiştirilip 400 µl buffer CQW kolonundan bırakılır ve 14,000 rpm'de 1 dk santrifüjlenir.
10. Tekrar temiz toplama tüpü takılıp, 700 µl buffer CF'den ilave edilir ve 14,000 rpm'de 1 dk santrifüj edilir.
11. Yeni toplama tüpü takılarak 200 µl C<sub>5</sub>'den ilave edilir ve 14,000 rpm'de 2 dk santrifüj edilir.
12. Kolon çıkarılıp yeni bir 1,5 ml'lik tüpe takılır. 70 °C'deki su banyosunda bekletilen Elution solüsyonundan 100 µl eklenerek oda ısısında 5 dk bekletilir ve 14,000 rpm'de 2 dk santrifüjlenir.
13. Elde edilen DNA -20 °C'de muhafaza edilir.

#### **3.2.1.8. Protokol - 8 Qiagen DNeasy® Mericon™ Food Standart Kit Protokolü**

1. 50 ml'lik falkon tüpüne 2 g homojenize gıda örneği konulup, üzerine 10 ml Food Lysis Buffer ilave edilir.
2. Üzerine 25 µl proteinaz K solüsyonundan eklenerek 5-10 sn vortekslenir.
3. Numuneler 60 °C'de 30 dk inkübe edilir ve inhibitör etkisi oluştursun diye oda ısısına gelene kadar buzda bekletilir.
4. 3,300 rpm'de 5 dk santrifüj edilir ve içerisinde 500 µl kloroform bulunan 1,5 ml'lik tüpe 700 µl süpernatant aktarılır.
5. 15 sn kuvvetlice vortekslenir ve 18,600 rpm'de 20 dk santrifüj edilir.

6. Yeni 1,5 ml'lik t p içerisine 350  l buffer PB eklenir ve 350  l süpernatant bu tüpe ilave edilerek iyice vortekslenir.
7. Altıncı maddedeki karışımın hepsi QIA quick spin kolonuna aktarılır ve 23,800 rpm'de 1 dk santrifüj edilir. Toplama tüpü boşaltılarak temizlenir ve tekrar takılır.
8. 500  l buffer AW2'den kolona eklenip 23,800 rpm'de 1 dk santrifüj edilir ve toplama tüpü boşaltılıp tekrar takılır.
9. Kolona bir Őey eklemeden 23,800 rpm'de 1 dk tekrar santrifüj edilir.
10. Son olarak, kolon 1,5 ml'lik tüpe takılıp üzerine 150  l buffer EB eklenerek 5 dk oda sıcaklığında bekletilir ve 23,800 rpm'de 1 dk santrifüj edilir.
11. Elde edilen DNA -20  C'de muhafaza edilir.

### **3.2.2. DNA Analiz Yöntemleri**

Spektrofotometrik ve elektroforetik yöntemler yardımıyla izole edilen DNA'ların miktar ve saflık tayinleri yapılmıştır. DNA'ların miktar ve kalitesinin belirlenmesi amacıyla spektrofotometre (Şekil 3.4) cihazında (Thermo Scientific, MultiskanGO™)  rnekerin, 260 - 280 nm dalga boylarındaki absorbans ölçümleri yapılmıştır. DNA'ların, 260 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerine göre konsantrasyonları  g/ l örnek olarak elde edilmiş olup, 260/280 oranıyla ise saflık kontrolü yapılmıştır.



**Şekil 3.4.** DNA konsantrasyonunun ölçülmesinde kullanılan spektrofotometre cihazı

İzolasyonu yapılan genomik DNA'lar % 0,8'lik agaroz jellerde koşulmuştur. DNA'nın agaroz jelde yürütülmesi için 5 x Tris-asetat (TAE) tamponu [121 g Tris-base, 28,6 ml Glasiyel asetik asit, 9,3 g  $NA_2EDTA.2H_2O$ ] kullanılmıştır.

Örneklerin yüklendiği % 0,8'lik agaroz jel; 1,8 g agaroz, 44 ml 5 x TAE buffer ve 176 ml  $ddH_2O$ 'dan oluşmaktadır. Jellere 14  $\mu$ l ethidium bromid (10 mg/ml) ilave edilmiştir. Yürütme işleminin ardından DNA'lar UV transillüminatör (Bio Rad, ChemiDoc™ MP Imaging System) kullanılarak görüntülenmiştir (Şekil 3.5).

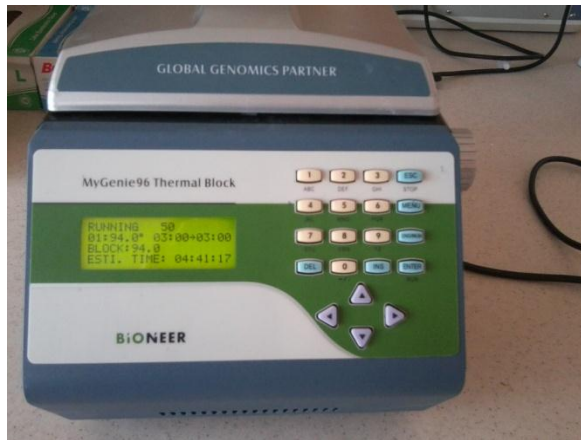




Şekil 3.5. UV transillüminatör cihazı

### 3.2.3. DNA'sı İzole Edilen Örneklerde Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan gıda ürünlerinde genetiği değiştirilmiş organizmaların belirlenmesi işlemi öncesinde soya ve mısır DNA taraması yapılmıştır. Tüm PZR tarama işlemlerinin gerçekleştirilmesi için kullanılan Bioneer (MyGenie 96 Thermal Block) marka thermal cycler Şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.6. PZR'de kullanılan thermal cycler

### 3.2.3.1. DNA İzolasyonu Yapılan Örneklerde Soya - Mısır DNA'sı Taraması

İşlenmiş ve işlenmemiş gıda ürünlerinde soya ve/veya mısır olduğunun belirlenmesi amacıyla izole edilen DNA'larda spesifik primerler yardımıyla soya-mısır DNA taraması yapılmıştır. İzolasyon işlemi yapılan DNA'larda soya DNA'sının amplifikasyonunda lektin geni için LEC1/LEC2 primer çiftleri (Vollenhofer ve ark., 1999) kullanılmıştır (Çizelge 3.2). Gıda ürünlerinde mısır DNA'sının olup olmadığı ise izole edilen DNA'larda mısır bitkisine özgü olan zein geni için geliştirilmiş ZEIN03/ZEIN04 (Pauli ve ark., 2000) primer çiftleri (Çizelge 3.2) kullanılarak belirlenmiştir.

**Çizelge 3.2.** Soya ve mısır DNA'sı taramasında kullanılan primerler, baz dizisi ve beklenen bant büyüklükleri

<b>Primer Adı</b>	<b>Baz Dizisi (5'-3')</b>	<b>Beklenen Bant Büyüklüğü (bp)</b>
LEC1	GTG CTA CTG ACC AGC AAG GCA AAC TCA GCG	164
LEC2	GAG GGT TTT GGG GTG CCG TTT TCG TCA AC	164
ZEIN03	AGT GCG ACC CAT ATT CCA	277
ZEIN04	GAC ATT GTG GCA TCA TCA TTT	277

Gıda örneklerinde soya ve/veya mısır DNA'sının tespit edilmesi amacıyla DNA amplifikasyonunda kullanılan PZR reaksiyon koşulları Çizelge 3.3'de verilmiştir.

**Çizelge 3.3.** Lec ve Zein primerlerinin amplifikasyonunda kullanılan PZR reaksiyon koşulları

<b>Kimyasallar</b>	<b>Miktar (µl)</b>
ddH <sub>2</sub> O	26
10 x Buffer	4
25 mM MgCl <sub>2</sub>	3,2
10 mM dNTP	3,2
10 mM Primer	1
10 mM Primer	1
Taq DNA Polimeraz (0,5 u)	0,1
DNA	1,5
Toplam Hacim	40

Lec primer çifti için uygulanan PZR döngü koşulları ise Çizelge 3.4.'de verilmiştir. Bu pirimer ile yapılan PZR işlemlerinin sonucunda beklenen bant büyüklüğü 164 baz çiftidir (Vollenhofer ve ark., 1999).

**Çizelge 3.4.** Lec primerinin amplifikasyonunda kullanılan PZR döngü koşulları

<b>Program No</b>	<b>İşlem</b>	<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>Süre</b>	<b>Döngü Sayısı</b>
1.	Ön denatürasyon	95	12 dk	1
2.1	Denatürasyon	95	1 dk	40
2.2	Primerin DNA'ya yapışma safhası	72	30 sn	
2.3	Uzama safhası	72	30 sn	
3.	Son uzama safhası	72	10 dk	1

Zein geninin amplifikasyonu için uygulanan PZR döngü koşulları ise Çizelge 3.5’de verilmiştir. Yapılan PZR işlemleri sonucunda beklenen bant büyüklüğü 277 baz çiftidir (Pauli ve ark., 2000).

**Çizelge 3.5.** Zein primerinin amplifikasyonu için kullanılan PZR döngü koşulları

Program No	İşlem	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
1.	Ön denatürasyon	95	5 dk	1
2.1	Denatürasyon	96	1 dk	40
2.2	Primerin DNA’ya yapışma safhası	60	1 dk	
2.3	Uzama safhası	72	1 dk	
3.	Son uzama safhası	72	5 dk	1

### 3.2.3.2. GDO Tarama (Screening) Aşaması

İzolasyon işlemi yapılan DNA’nın hangi bitki türüne ait olduğu belirlendikten sonra 35S promotör ve tNos terminatör bölgelerinin amplifikasyonu yapılmıştır. Çizelge 3.6’da bu aşamada kullanılan 35S-PF/PR (Wang ve Fang, 2005), Nos-1/3 ve tNos2-3/5 (Oraby ve ark., 2005) primerlerinin baz dizilimleri verilmiştir. Bu primerlerin kullanılmasıyla yapılan PZR sonucunda pozitif kontrolde görülmesi beklenen bant büyüklüğü 35SP primeri için 143 baz çifti, Nos primeri için 180 baz çifti, tNos primeri için ise 151 baz çiftidir.

**Çizelge 3.6.** 35S promotor ve nos terminatör taramasında kullanılan primerler

<b>Primer Adı</b>	<b>Baz Dizisi (5'-3')</b>	<b>Beklenen Bant Büyüklüğü (bç)</b>
35sPF	AAA GAT GGA CCC CCA CCC AC	143
35sPR	GAG GAA GGG TCT TGC GAA GG	143
Nos1	GAA TCC TGT TGC CGG TCT TG	180
Nos3	TTA TCC TAG TTT GCG CGC TA	180
tNos2-5	GTC TTG CGA TGA TTA TCA TAT AAT TTC TG	151
tNos2-3	CGC TAT ATT TTG TTT TCT ATC GCG T	151

35S, Nos ve tNos primer çiftleri için kullanılan PZR reaksiyon koşulları Çizelge 3.7'de, 35sPF/R primeri için kullanılan PZR döngü koşulu ise Çizelge 3.8'de verilmiştir.

**Çizelge 3.7.** 35sPF/R, Nos1/3, tNos2-3/5 primerlerinin amplifikasyonu için kullanılan PZR reaksiyon koşulları

<b>Kimyasallar</b>	<b>Miktar (µl)</b>
ddH <sub>2</sub> O	25,5
10 x Buffer	4
25 mM MgCl <sub>2</sub>	3,2
10 mM dNTP	3,2
10 mM Oligonükleotid Primeri	1
10 mM Oligonükleotid Primeri	1
Taq DNA Polimeraz (0,5 u)	0,1
DNA	2
Toplam Hacim	40

**Çizelge 3.8.** 35sPF/R promotörü amplifikasyonu için kullanılan PZR döngü koşulları

Program No	İşlem	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
1.	Ön denatürasyon	95	4dk	1
2.1	Denatürasyon	95	30 sn	40
2.2	Primerin DNA'ya yapışma safhası	60	30 sn	
2.3	Uzama safhası	72	45 sn	
3.	Son uzama safhası	72	8 dk	1

Oraby ve ark. (2005)'nin geliştirdiği Nos1 ve Nos3 primerleri kullanılarak yapılan PZR döngü koşulları Çizelge 3.9'da verilmiştir.

**Çizelge 3.9.** Nos terminatörü amplifikasyonu için kullanılan PZR döngü koşulları

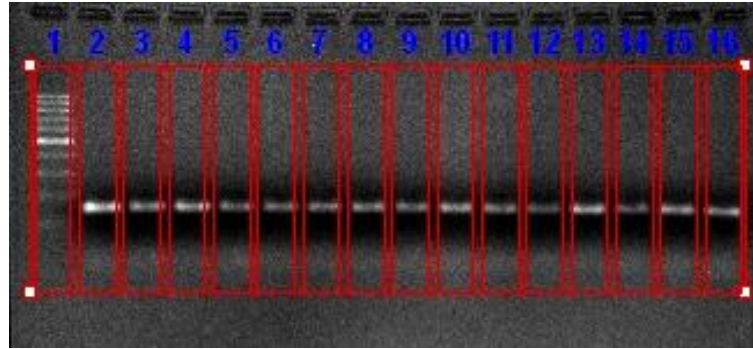
Program No	İşlem	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
1.	Ön denatürasyon	95	4dk	1
2.1	Denatürasyon	95	30 sn	40
2.2	Primerin DNA'ya yapışma safhası	62	30 sn	
2.3	Uzama safhası	72	45 sn	
3.	Son uzama safhası	72	7 dk	1

tNos primerleri kullanılarak yapılan PZR döngü koşulları Çizelge 3.10'da verilmiştir.

**Çizelge 3.10.** tNos terminatörü amplifikasyonu için kullanılan PZR döngü koşulları

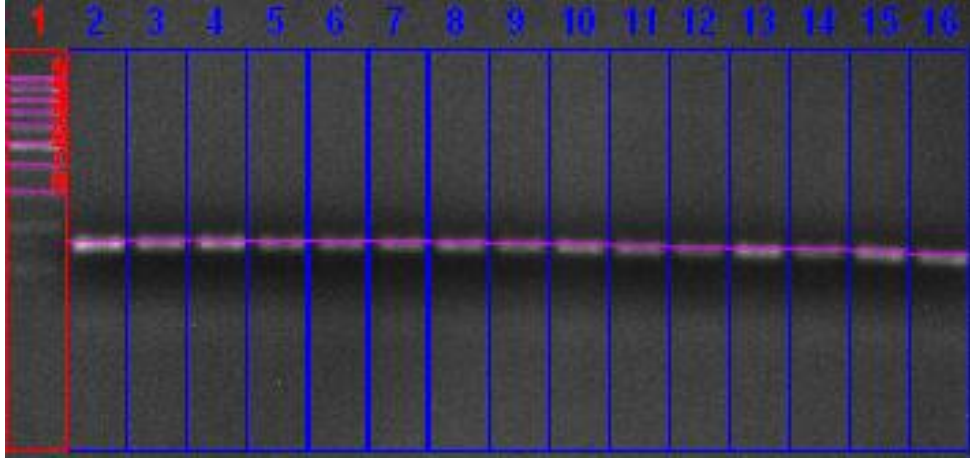
Program No	İşlem	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
1.	Ön denatürasyon	94	5dk	1
2.1	Denatürasyon	94	45 sn	40
2.2	Primerin DNA'ya yapışma safhası	55	1 dk	
2.3	Uzama safhası	72	1 dk	
3.	Son uzama safhası	72	10 dk	1

Elde edilen PZR ürünleri 5 x TAE tampon çözeltisinde (89 mM Tris-Cl, 89 mM asetik asit, 20 mM EDTA) % 2'lik agaroz jelde (4,5 g agaroz, 44 ml 5 x TAE, 176 ml ddH<sub>2</sub>O, 14 µl ethidium bromid) elektroforez edilmiş ve Bio Rad görüntüleme cihazında jellerin fotoğrafları çekilmiştir. Görüntülenen jellerde her bir primer bakımından beklenen bant büyüklükleri açısından gözlemler yapılarak bantlar var/yok şeklinde skorlanarak tablolar oluşturulmuştur.



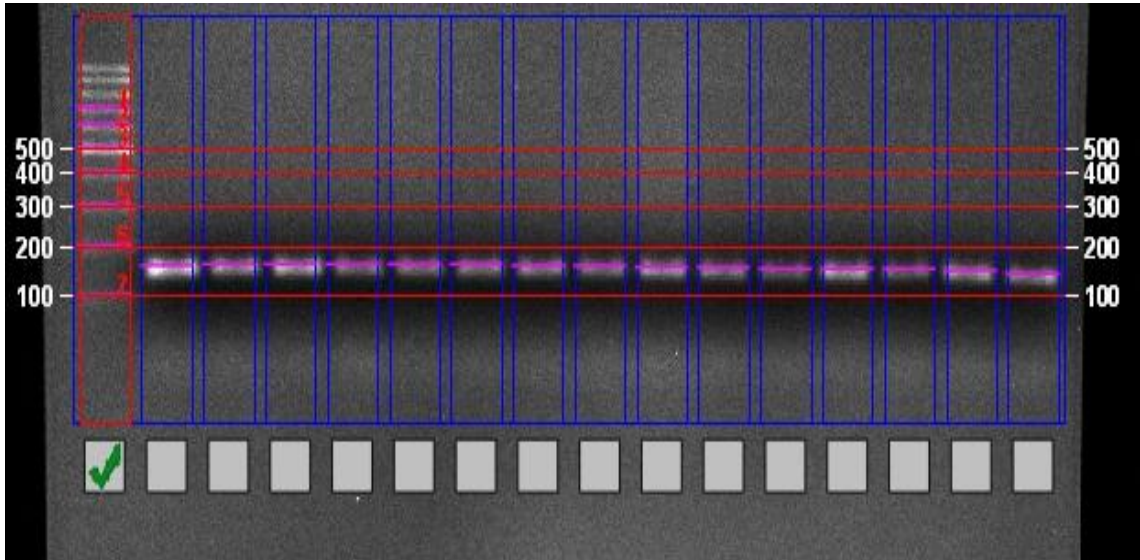
**Şekil 3.7.** Kuyucukları işaretlenmiş jel fotoğrafı

Jel imaj sisteminde görüntülenen jellere ait fotoğraflar Biorad ChemiDoc MP programında açıldıktan sonra kuyucuklar (lane) işaretlenmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.8. Bantları işaretlenmiş jel fotoğrafı

“Detect bants” imgesi ile bantlar otomatik olarak işaretlenmiştir (Şekil 3.8). Ladder’ın baz çifti bakımından bant büyüklükleri (100 - 1000 ) ve bulunduğu kuyucuk numarası girilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Ladder’ları işaretlenmiş jel fotoğrafı



Programın “Reports” imgesi kullanılarak bantların gruplandırılmış tablosu elde edilmiştir (Şekil 3.10). Bant büyüklüklerinin belirlenmesinde jelden kaynaklanan hataların önüne geçebilmek için bütün jeller resimler üzerinde manuel olarak en az iki farklı araştırmacı tarafından gözle de skorlanmıştır. Böylece tüm bu skorlamalar karşılaştırılarak yanlış okumaların önüne geçilmeye çalışılmıştır. Analizler bant büyüklükleri tüm primerlerin bantlarını içeren tabloya yazıldıktan sonra yapılmıştır. Bant büyüklükleri tabloya yazılırken yoksa 0 varsa 1 yazılmıştır.

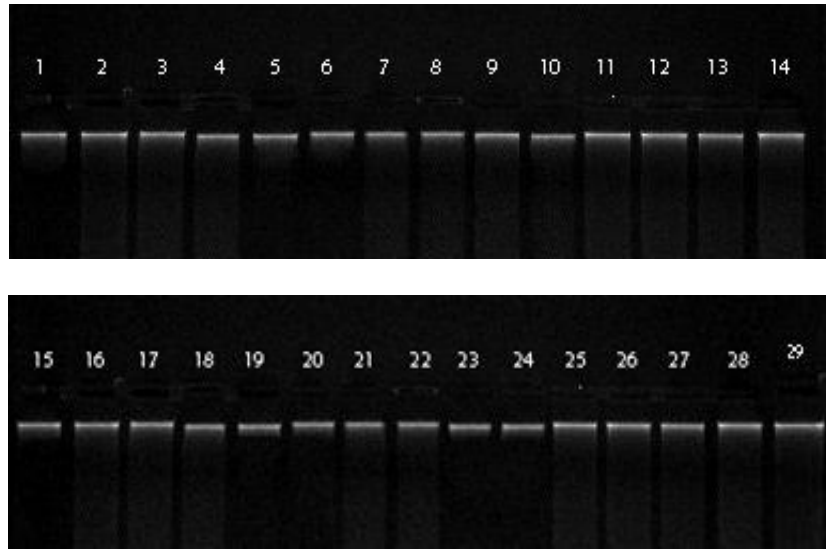
### **3.2.3.3. İstatistiki Analiz**

Tesadüf blokları deneme desenine göre iki tekerrürlü olarak elde edilen spektrofotometre ölçüm verilerine, SPSS 15,0 yazılım paketi aracılığı ile çift yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış olup ortalamaların kıyaslanması için Duncan Testi’nden yararlanılmıştır.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Gıda Ürünlerinde DNA İzolasyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Farklı işlenmişlik seviyelerindeki 27 gıda ürününden DNA izolasyonu amacıyla farklı DNA ekstraksiyon protokolleri, modifiye şekilleri ve ekstraksiyon kitleri kullanılmış ve elde edilen DNA'larda agaroz jel elektrororezi (Şekil 4.1) ve spektrofotometrik ölçümlerle miktar ve kalite tayini yapılmıştır.



**Şekil 4.1.** Bazı soya ve mısır örneklerinin DNA jel görüntüsü. Sırası ile; 1-4: bisküvi, 5: mısır cipsi, 6-7: mısır gevreği, 8-11: kraker, 12-15: mısır cipsi, 16-17: mısır nişastası, 18-19: mısır unu, 20: cin mısır, 21:tatlı mısır, 22-23: bebek maması, 24-25: kek, 26: mısır patlağı, 27: soya unu, 28: GD mısır, 29: GD soya küspesi

#### 4.1.1. Farklı Yöntemlerle İzole Edilen DNA'ların Miktar Bakımından Karşılaştırılması

Bisküvide farklı ekstraksiyon yöntemleri ve kitleri kullanılarak izole edilen DNA 0,07 - 0,89  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  arasında olup, DNA miktarı bakımından bisküvi için en iyi sonuç Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye Wizard metodundan (Protokol 2) elde edilmiştir. Bunu takiben 0,63  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  konsantrasyonunda DNA elde edilen Wizard yöntemi (Protokol 1) ile 0,58  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  DNA elde edilen örneklerin TNE tamponu ile ön

inkübasyonuna dayalı kombinasyon yönteminin (protokol 3) de bisküvi izolasyonunda başarı ile kullanılabilir yöntemler olduğu saptanmıştır. Bisküvi için tüm protokollerden elde edilen DNA miktarı ortalaması 0,39 µg/µl olarak saptanmıştır. Bu ortalamanın oldukça altında bir sonuç veren CTAB yöntemi (protokol 6) ise 0,07 µg/µl ile bisküvide DNA veriminin en düşük olduğu protokol olmuştur (Çizelge 4.1). Bisküvi, çikolata, kek, bebek sütü, cips, mısır unu, soya unu, mısır nişastası ve mısır gevreğinde CTAB metodu kullanılarak DNA izolasyonunun yapıldığı bir diğer çalışmada da (Turhan, 2008), bisküviyi de içeren bu ürünlerin izolasyonunda CTAB yöntemi ile verim alınmadığı bildirilmiştir. CTAB metodu, ürünlerin DNA izolasyonunda oldukça başarısız bulunmuştur.

Mısır gevreği örneğinde uygulanan farklı izolasyon işlemlerinin ardından yapılan spektrofotometrik analiz sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında DNA miktarının 0,06 - 1,02 µg/µl arasında değişkenlik gösterdiği ve Wizard yönteminin (Protokol 1) mısır gevreği ve benzeri işlenmiş gıdalar için en uygun yöntem olarak kullanılabilirliği saptanmıştır (Çizelge 4.1). Ayrıca, 0,70 µg/µl DNA eldesi ile protokol 2'nin ve 0,55 µg/µl ile protokol 3'ün de mısır gevreğinden DNA izole edilmesinde başarılı sayılabilecek yöntemler olduğu tespit edilmiştir. Bu üç protokol dışındaki protokoller, çalışmada mısır gevreğinde elde edilen ortalama DNA miktarından (0,36 µg/µl) daha düşük değerler vermiştir. Mısır gevreğinde 0,11 µg/µl, 0,07 µg/µl ve 0,06 µg/µl gibi düşük konsantrasyonlarda DNA elde edilen protokol 4,6 ve 7'nin bu gıda ürününün DNA ekstraksiyonu için uygun olmadıkları saptanmıştır. Öztürk (2011) yaptığı çalışmada, mısır gevreği, mısır unu, mısır nişastası, cin mısır, bebek maması, mısır cipsi ve tatlı mısır gibi mısır kökenli işlenmiş veya işlenmemiş ürünlerde DNA ekstraksiyonu için CTAB yöntemini kullanmış ve analiz için yeterli miktarda DNA'nın izole edildiğini ifade etmiştir. Ancak, çalışmamızda Çizelge 4.1'de verildiği gibi bu ürünler için CTAB yöntemi en düşük verimin sağlandığı yöntem olarak gözlenmiştir.

**Çizelge 4.1.** Gıda ürünlerinde farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak izole edilen DNA miktarının karşılaştırılması ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  DNA)

Gıda Ürünü	Protokoller (Ortalama $\pm$ Standart Hata)								
	Pro 1	Pro 2	Pro 3	Pro 4	Pro 5	Pro 6	Pro 7	Pro 8	Ortalama
<b>Bisküvi</b>	0,63 $\pm$ 0,11 d	0,89 $\pm$ 0,04 e	0,58 $\pm$ 0,07 d	0,31 $\pm$ 0,1 c	0,28 $\pm$ 0,05 bc	0,07 $\pm$ 0,01 a	0,22 $\pm$ 0,04	0,13 $\pm$ 0,01 ab	0,39 $\pm$ 0,17 cd
<b>Mısır Gevreği</b>	1,02 $\pm$ 0,07 e	0,7 $\pm$ 0,02 d	0,55 $\pm$ 0,12 c	0,11 $\pm$ 0,02 a	0,31 $\pm$ 0,04 b	0,07 $\pm$ 0,01 a	0,06 $\pm$ 0 a	0,06 $\pm$ 0 a	0,36 $\pm$ 0,2 cd
<b>Kraker</b>	0,75 $\pm$ 0,07 d	0,86 $\pm$ 0,05 d	0,7 $\pm$ 0,09 d	0,23 $\pm$ 0,02	0,42 $\pm$ 0,15 c	0,06 $\pm$ 0 a	0,26 $\pm$ 0,02 bc	0,14 $\pm$ 0,02 ab	0,43 $\pm$ 0,18 cd
<b>Mısır Cipsi</b>	0,67 $\pm$ 0,16 b	0,65 $\pm$ 0,27 b	0,65 $\pm$ 0,25 b	0,21 $\pm$ 0,05 a	0,26 $\pm$ 0,08 a	0,07 $\pm$ 0,01 a	0,1 $\pm$ 0,04 a	0,08 $\pm$ 0,01 a	0,34 $\pm$ 0,2 cd
<b>Mısır Nişastası</b>	0,14 $\pm$ 0,02 b	0,13 $\pm$ 0 b	0,07 $\pm$ 0 a	0,07 $\pm$ 0 a	0,07 $\pm$ 0 a	0,07 $\pm$ 0,01 a	0,07 $\pm$ 0,01 a	0,06 $\pm$ 0 a	0,08 $\pm$ 0,02 d
<b>Mısır Unu</b>	0,61 $\pm$ 0,12 c	0,63 $\pm$ 0,06 c	0,55 $\pm$ 0,05 c	0,27 $\pm$ 0,08 b	0,31 $\pm$ 0,05 b	0,07 $\pm$ 0 a	0,21 $\pm$ 0,03 ab	0,09 $\pm$ 0 a	0,34 $\pm$ 0,14 cd
<b>Cin Mısır</b>	1,08 $\pm$ 0,36 a	3,05 $\pm$ 0,58 b	2,38 $\pm$ 0,54 b	0,42 $\pm$ 0,24 a	2,77 $\pm$ 0,33 b	0,1 $\pm$ 0,02 a	2,32 $\pm$ 0,63 b	0,1 $\pm$ 0,02 a	1,53 $\pm$ 0,77 b
<b>Tatlı Mısır</b>	0,22 $\pm$ 0,05 ab	0,39 $\pm$ 0,08 c	0,26 $\pm$ 0,11 bc	0,13 $\pm$ 0,07 ab	0,17 $\pm$ 0,05 ab	0,06 $\pm$ 0 a	0,1 $\pm$ 0,04 ab	0,07 $\pm$ 0 a	0,17 $\pm$ 0,08 d
<b>Bebek Maması</b>	0,28 $\pm$ 0,02 c	0,23 $\pm$ 0,02 b	0,33 $\pm$ 0,01 d	0,1 $\pm$ 0,01 a	0,41 $\pm$ 0,01 e	0,07 $\pm$ 0 a	0,09 $\pm$ 0,01 a	0,08 $\pm$ 0 a	0,2 $\pm$ 0,07 cd
<b>Kek</b>	0,77 $\pm$ 0,21 c	0,96 $\pm$ 0,24 c	0,47 $\pm$ 0,02 b	0,14 $\pm$ 0,02 a	0,26 $\pm$ 0,05 ab	0,08 $\pm$ 0 a	0,15 $\pm$ 0,01 a	0,08 $\pm$ 0,01 a	0,36 $\pm$ 0,21 cd
<b>Mısır Patlağı</b>	0,69 $\pm$ 0,15 b	0,72 $\pm$ 0,03 b	0,59 $\pm$ 0,06 b	0,42 $\pm$ 0,22 ab	0,59 $\pm$ 0,23 b	0,08 $\pm$ 0,01 a	0,12 $\pm$ 0,03 a	0,08 $\pm$ 0,02 a	0,41 $\pm$ 0,19 cd
<b>Soya Unu</b>	3,1 $\pm$ 0,08 cd	3,3 $\pm$ 0,11 d	2,54 $\pm$ 0,4 c	3,17 $\pm$ 0,03 cd	3,13 $\pm$ 0,06 cd	0,38 $\pm$ 0,07 a	1,8 $\pm$ 0,48 b	0,1 $\pm$ 0,02 a	2,19 $\pm$ 0,74 a
<b>Soya Küspesi</b>	3,09 $\pm$ 0,22 c	3,17 $\pm$ 0,11 c	3,14 $\pm$ 0,19 c	2,97 $\pm$ 0,07 c	2,81 $\pm$ 0,3 c	0,32 $\pm$ 0,09 a	1,24 $\pm$ 0,2 b	0,14 $\pm$ 0,02 a	2,11 $\pm$ 0,74 a
<b>GDO Mısır</b>	1,13 $\pm$ 0,14 cd	0,94 $\pm$ 0,1 bc	0,75 $\pm$ 0,14 b	0,16 $\pm$ 0,02 a	1,24 $\pm$ 0,18 d	0,06 $\pm$ 0 a	0,13 $\pm$ 0,03 a	0,11 $\pm$ 0,01 a	0,56 $\pm$ 0,29 c

Aynı satırda bulunan farklı harfleri içeren ortalamalar arasındaki farklar  $p < 0.05$  düzeyinde anlamlıdır.

Kraker için çalışmada kullanılan protokoller ve kitlerden elde edilen DNA miktarları 0,06 - 0,86  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  arasında değişmiş, DNA miktarı bakımından aynı istatistiki gruba giren protokol 2 (0,86  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ), protokol 1 (0,75  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) ve protokol 3 (0,70  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )'ün krakerde 0,06  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  ile en düşük miktarda DNA elde edilen CTAB metoduna (Protokol

6) göre çok daha başarılı sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Kraker örnekleri için tüm protokollerden elde edilen DNA miktarı ortalaması 0,43 µg/µl olarak saptanmış, sırasıyla protokol 6, 8, 7 ve 4'den bu ortalamanın oldukça altında sonuçlar alınmıştır.

Kullanılan protokoller için mısır cipsinden 0,07 - 0,67 µg/µl aralığında DNA elde edilmiştir. Protokollerden elde edilen DNA miktarı ortalaması mısır cipsi için 0,34 µg/µl olarak hesaplanmıştır. Mısır cipsi için protokol 1, 2 ve 3'ün birbirine oldukça yakın (sırasıyla 0,67, 0,65 ve 0,65 µg/µl) ve en yüksek değerleri verdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Ayrıca, CTAB yöntemi (protokol 6) ve DNeasy® mericon™ Food Handbook standart kiti (protokol 8) DNA verimi açısından bu ürünün izolasyonu için yeterli bulunmamıştır.

Yapılan ekstraksiyon işlemlerinin akabinde tüm protokoller karşılaştırıldığında mısır nişastasından elde edilen DNA veriminin (ortalama 0,08 µg/µl) diğer ürünlere kıyasla oldukça düşük seyrettiği ve genele bakıldığında bu aralığın 0,06 ile 0,14 µg/µl arasında değiştiği belirlenmiştir. Wizard yönteminden (Protokol 1) 0,14 µg/µl'lik ve Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye Wizard metodundan (protokol 2) 0,13 µg/µl'lik DNA elde edilebilmiştir (Çizelge 4.1).

Mısır ununda ortalama 0,34 µg/µl olmak üzere 0,07 ile 0,63 µg/µl arasında değişen miktarlarda DNA ekstrakte edilmiştir. Yarı işlenmiş bir gıda ürünü olan mısır ununda denenen protokollerden 0,63 µg/µl, 0,61 µg/µl ve 0,55 µg/µl değerleri ile sırasıyla protokol 2, protokol 1 ve protokol 3'ün en başarılı üç metot olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte kullanılan metotlardan protokol 8 (0,09 µg/µl) ve protokol 6 (0,07 µg/µl)'nin ise mısır ununda en düşük DNA miktarını veren iki protokol olduğu gözlenmiştir.

Cin mısırın ekstraksiyonundan elde edilen DNA miktarı 0,1 µg/µl ila 3,05 µg/µl arasında değişen geniş bir değer aralığı göstermiştir. Çalışmada kullanılan 14 gıda ürünü içinde tüm protokollerden elde edilen ortalama DNA miktarı bakımından en yüksek olan üçüncü gıda ürünü cin mısırı (ortalama DNA 1,53 µg/µl) olmuştur. Bu aralıkta en yüksek değeri içeren Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye Wizard metodunun 3,05 µg/µl'lik DNA verimi ile cin mısırın DNA ekstraksiyonu için

en tercih edilebilecek yöntem olduğu tespit edilmiştir. Bu yöntem ile aynı istatistiki gruba giren protokol 5 (2,77 µg/µl), protokol 3 (2,38 µg/µl), ve protokol 7 (2,32 µg/µl)'nin de cin mısırın ekstraksiyonunda başarıyla kullanılabilceği belirlenmiştir. Ayrıca, GENESpin, Eurofins GeneScan DNA ekstraksiyon kitinin (protokol 7) cin mısırın DNA ekstraksiyonu için DNeasy® mericon™ Food Handbook standart kitine (protokol 8) göre daha başarılı olduğu da gözlenmiştir. Çizelge 4.1'de verildiği gibi cin mısır için 0,1 µg/µl DNA elde edilebilen protokol 6 ve 8'in cin mısırın DNA ekstraksiyonu için uygun olmadığı saptanmıştır.

Spektrofotometrik ölçümler sonucunda DNA miktarı bakımından çalışmada kullanılan tüm prokoller karşılaştırıldığında tatlı mısır için en iyi değerin 0,39 µg/µl ile Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye Wizard yöntemiyle elde edildiği ortaya konulmuştur. Wizard yöntemi (protokol 1) ve örneklerin TNE tamponu ile ön inkübasyonuna dayalı kombinasyon yönteminden de (Protokol 3) yakın sonuçlar elde edilmiş olup, tatlı mısır için en düşük DNA verimi protokol 6 (0,06 µg/µl) ve protokol 8 (0,07 µg/µl)'den elde edilmiştir. Ayrıca tatlı mısır, çalışmada incelenen gıda ürünleri içinde tüm protokoller birlikte değerlendirildiğinde izole edilen ortalama DNA miktarı bakımından mısır nişastasından sonra en düşük DNA miktarının (ortalama 0,17 µg/µl) elde edildiği ikinci gıda ürünü olmuştur.

Yapılan analiz sonuçlarına göre işlenmiş bir ürün olan bebek maması için izole edilen DNA miktarı ortalama 0,20 µg/µl olmak üzere 0,07 µg/µl ila 0,41 µg/µl arasında değişiklik göstermiştir. En başarılı sonuç (0,41 µg/µl DNA) Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye CTAB metodu (protokol 5) ile sağlanmıştır. Bunu, 0,33 µg/µl DNA ile örneklerin TNE tamponu ile ön inkübasyonuna dayalı kombinasyon metodu (protokol 3) izlemiştir. Bebek mamasından DNA ekstraksiyonu için en düşük sonuç ise CTAB yöntemlerinden (protokol 4 ve 6) ve ticari kitlerden (protokol 7 ve 8) elde edilmiştir. Soyada ve soya içeren işlenmiş ürünlerde genetiği değiştirilmiş organizma tayini için yapılan bir araştırmada, soyadan DNA izolasyonu için farklı DNA ekstraksiyonu protokolleri denenmiştir (Ferrari ve ark., 2007). Soya tohumu, soya sütü, soya sütü tozu, bebek maması ve meşrubatı içeren 26 örneğin DNA izolasyonu için üç çeşit CTAB metodu kullanılmış, bebek maması dışındaki örneklerden DNA elde edilebilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde bebek mamasında en düşük

DNA konsantrasyonu CTAB yöntemlerinde gözlenmiştir. Değişik marketlerden toplanan örneklerde genetiği değiştirilmiş mısır ve soyanın belirlenmesi için çalışma yapan araştırmacılar, izolasyon sonrasında işlenmiş ürünlerden elde edilen DNA konsantrasyonunu düşük olduğunu belirtmişlerdir. DNA konsantrasyonunun yok denecek kadar az bulunmasına neden olarak; pişirilme esnasında yüksek sıcaklığa maruz kalmaları ve dolayısıyla DNA'ların yüksek sıcaklıkta degrade (bozulma) olmaları gösterilmiştir (Sanhoty ve ark., 2002). Aynı şekilde çalışmada bebek maması ve mısır cipsi gibi işlenmiş ürünlerde yüksek verim elde edilememiştir.

İzole edilebilen DNA miktarı 0,08 - 0,96 µg/µl (ortalama 0,36 µg/µl) arasında değişiklik gösteren kekin, DNA izolasyonunda en başarılı sonuç 0,96 µg/µl'lik verimiyle protokol 2 ve bunu takiben 0,77 µg/µl ile protokol 1'den elde edilmiştir. CTAB yöntemleri (protokol 4 ve 6) ve ticari kitler (protokol 7 ve 8) ise kek ürününden DNA izolasyonunda yeterince ekstraksiyon yapılamayan protokoller olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.1).

Mısır patlağı örneklerine uygulanan farklı DNA izolasyon yöntemleriyle 0,08 - 0,72 µg/µl'lik değer aralığında değişen miktarlarda DNA gözlenmiş ve bu değerler karşılaştırıldığında protokol 2'nin bu gıda ürününün DNA ekstraksiyonu için çalışmada kullanılan metotlar içinde en uygun protokol olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Aynı şekilde benzer DNA miktarları vererek protokol 2 ile aynı istatistikî gruba giren protokol 1 (0,69 µg/µl) ile protokol 3 ve 5 (0,59 µg/µl) de bu ürünün izolasyonu için tercih edilebilecek yöntemler arasında yer almıştır. Bununla birlikte mısır patlağı için hesaplanan ortalama DNA miktarının (0,41 µg/µl) da altında değerler veren protokol 6,7 ve 8'in mısır patlağı örneklerinin DNA ekstraksiyonu için yetersiz kaldığı gözlenmiştir.

Farklı izolasyon yöntemleri uygulanarak 0,10 µg/µl - 3,30 µg/µl arasında geniş bir değer aralığında DNA izole edilen soya unu örneğinde en iyi sonuç 3,30 µg/µl'lik DNA konsantrasyonu ile Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye Wizard metodundan (protokol 2) elde edilmiştir. Ayrıca protokol 1, 3, 4 ve 5 den de 3,1 - 2,54 µg/µl arasında değişen miktarlarda DNA elde edilmiştir. Bununla birlikte çalışmada incelenen gıda ürünleri içinde tüm protokoller birlikte değerlendirildiğinde izole edilen

ortalama DNA miktarı bakımından soya unu ve soya küspesi en yüksek DNA miktarının (sırasıyla ortalama 2,19 ve 2,11 µg/µl) elde edildiği gıda ürünleri olmuştur. Soya unundan DNA ekstraksiyonundaki en düşük sonuçlar ise 0,38 µg/µl ile protokol 6 ve 0,1 µg/µl ile protokol 8'de gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çalışmamızda pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere temin edilen soya küspesi örneğinden 0,14 ila 3,17 µg/µl arasında değişen miktarlarda DNA (ortalama 2,11 µg/µl) elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm protokoller birlikte değerlendirildiğinde istatistiki olarak da aynı gruba giren ilk beş protokolden soya küspesi için iyi sonuç (3,17 - 2,81 µg/µl DNA) alındığı gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Protokol 6 ve protokol 8'de ise sırasıyla 0,32 µg/µl ve 0,14 µg/µl olmak üzere DNA veriminin oldukça düştüğü saptanmıştır (Çizelge 4.1). Tung Nguyen ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada, ham ve işlenmiş insan yiyeceği ve hayvan yemlerinde DNA izolasyonu için farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri denenmiş, soya küspesi örneklerinden (hayvan yemi olarak) Wizard metodu ve CTAB yöntemi (Jankiewicz ve ark., 1999) ile yüksek verimde DNA izole edildiği bildirilmiştir. Hayvan yeminde yüksek verim eldesinin sebebinin ince dokulu olması ve çeşitli bitkisel maddelerin varlığı ile açıklamışlardır. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da soya küspesinde aynı protokollerden yüksek verimde DNA elde edilmiştir. Ancak, Tung Nguyen ve ark. (2009)'nın çalışmasında bu ürün için en başarısız yöntem olarak gösterilen protokol 2, bu çalışmada birbirine yakın yüksek değerleri veren ilk beş protokol arasından en iyi DNA verimini sağlayan protokol olmuştur.

Spektrofotometrik analiz sonuçları baz alındığında GDO'lu mısırdan (pozitif kontrol) elde edilen DNA miktarı ortalama 0,56 µg/µl olmak üzere 0,06 - 1,24 µg/µl arasında kaydedilmiş olup bu örnek için en yüksek ürün (1,24 µg/µl DNA) Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye CTAB metodu (protokol 5) ile sağlanmıştır. Bu değeri 1,13 µg/µl ile protokol 1, 0,94 µg/µl ile protokol 2, 0,75 µg/µl ile protokol 3 izlemiştir. Bu gıda ürünü bakımından en düşük sonuçlar protokol 4, 6, 7 ve 8'i oluşturan CTAB yöntemleri ve ticari kitlerde gözlenmiştir. Protokol 4 ile mısır örneğinden düşük miktarda (0,16 µg/µl) DNA izole edilirken, aynı protokolün modifiye şekli olan protokol 5'den daha yüksek verimde (1,24 µg/µl) DNA izole edilebilmiştir. Yapılan çalışmada Tung Nguyen ve ark. (2009) ham mısır için bu çalışmada da kullanılan ilk



beş yöntemi denemişlerdir. En başarılı DNA verimini protokol 4 ve 5'ten sağlamışlardır. Çalışmamızda da bu beş yöntem arasından 1,24 µg/µl 'lik verim ile protokol 5, bu üründen iyi bir DNA verimi sağlanırlığı açısından kullanılabilir bulunmuştur. Ancak, Tung Nguyen ve ark. (2009)'nın bulgusunun aksine protokol 4'ten iyi bir verim alınamamıştır.

Farklı DNA ekstraksiyonu protokolleri kullanılarak değişik işlenmişlik seviyesindeki 14 farklı gıda ürününden elde edilen DNA miktarı ortalamaları gıda ürünü bazında değerlendirildiğinde; ortalama olarak en yüksek ortalama DNA miktarı sırasıyla ham ve yarı işlenmiş gıda ürünlerinden olan soya unu (2,19 µg/µl), soya küspesi (2,11 µg/µl), cin mısır (1,53 µg/µl) ve GDO'lu mısırdan (0,56 µg/µl) elde edilmiştir. Bu ürünleri sırasıyla kraker, mısır patlağı, bisküvi, mısır gevreği, kek, mısır cipsi ve mısır unu izlemiştir. Tüm protokoller dikkate alınarak yapılan istatistikî analiz sonucunda ortalama DNA verimi bakımından en düşük değeri veren ürünlerin ise mısır nişastası (0,08 µg/µl DNA), tatlı mısır (0,17 µg/µl DNA) ve bebek maması (0,20 µg/µl DNA) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.2'de farklı işlenmişlik seviyelerindeki 14 adet gıda ürününde farklı protokoller denenerek yapılan DNA izolasyonu sonucunda elde edilen veriler her protokol kendi içinde değerlendirilerek karşılaştırılmıştır. Protokol 1 (Wizard metodu) uygulanarak gıda ürünlerinden ortalama 1,01 µg/µl olmak üzere 0,14 µg/µl ile 3,10 µg/µl arasında değişen miktarlarda DNA elde edilmiştir. Bu protokol için en yüksek DNA verimi 3,10 µg/µl ile yarı işlenmiş bir ürün olan soya unundan ve 3,09 µg/µl ile soya küspesinden elde edilmiştir. Bunu takiben GDO'lu mısır, cin mısır, mısır gevreği, kek ve krakerden sırasıyla 1,13 µg/µl, 1,08 µg/µl, 1,02 µg/µl, 0,77 µg/µl ve 0,75 µg/µl miktarlarında DNA elde edilerek bu ürünlerin analizinde de Wizard yönteminin kullanılabilir olduğu saptanmıştır. Bu yöntem ile gerçekleştirilen izolasyonda en başarısız sonuç 0,14 µg/µl ile mısır nişastasından elde edilmiştir. Bununla birlikte çalışmada kullanılan tüm protokoller birlikte değerlendirildiğinde izole edilen ortalama DNA miktarı bakımından en yüksek değerleri (sırasıyla ortalama 1,19, 1,01 ve 0,97 µg/µl) veren yöntemler protokol 2,1 ve 3 olmuştur.

**Çizelge 4.2.** Farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri ile soya ve mısır içeren gıda ürünlerinden izole edilen DNA miktarının karşılaştırılması ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  DNA)

Gıda Ürünü	Protokoller (Ortalama $\pm$ Standart Hata)							
	Pro 1	Pro 2	Pro 3	Pro 4	Pro 5	Pro 6	Pro 7	Pro 8
<b>Bisküvi</b>	0,63 $\pm$ 0,11def	0,89 $\pm$ 0,04 bc	0,58 $\pm$ 0,07 cd	0,31 $\pm$ 0,1 bc	0,28 $\pm$ 0,05 cd	0,07 $\pm$ 0,01 b	0,22 $\pm$ 0,04 c	0,13 $\pm$ 0,01 abc
<b>Mısır Gevreği</b>	1,02 $\pm$ 0,07bcd	0,7 $\pm$ 0,02 bcd	0,55 $\pm$ 0,12 cd	0,11 $\pm$ 0,02 c	0,31 $\pm$ 0,04 cd	0,07 $\pm$ 0,01 b	0,06 $\pm$ 0 c	0,06 $\pm$ 0 f
<b>Kraker</b>	0,75 $\pm$ 0,07bcd	0,86 $\pm$ 0,05 bc	0,7 $\pm$ 0,09 c	0,23 $\pm$ 0,02 bc	0,42 $\pm$ 0,15 cd	0,06 $\pm$ 0 b	0,26 $\pm$ 0,02 c	0,14 $\pm$ 0,02 a
<b>Mısır Cipsi</b>	0,67 $\pm$ 0,16cde	0,65 $\pm$ 0,27bcde	0,65 $\pm$ 0,25 cd	0,21 $\pm$ 0,05 bc	0,26 $\pm$ 0,08 cd	0,07 $\pm$ 0,01 b	0,1 $\pm$ 0,04 c	0,08 $\pm$ 0,01 def
<b>Mısır Nişastası</b>	0,14 $\pm$ 0,02 g	0,13 $\pm$ 0 e	0,07 $\pm$ 0 d	0,07 $\pm$ 0 c	0,07 $\pm$ 0 d	0,07 $\pm$ 0,01 b	0,07 $\pm$ 0,01 c	0,06 $\pm$ 0 f
<b>Mısır Unu</b>	0,61 $\pm$ 0,12def	0,63 $\pm$ 0,06bcde	0,55 $\pm$ 0,05 cd	0,27 $\pm$ 0,08 bc	0,31 $\pm$ 0,05 cd	0,07 $\pm$ 0 b	0,21 $\pm$ 0,03 c	0,09 $\pm$ 0 cdef
<b>Cin Mısır</b>	1,08 $\pm$ 0,36 bc	3,05 $\pm$ 0,58 a	2,38 $\pm$ 0,54 b	0,42 $\pm$ 0,24 b	2,77 $\pm$ 0,33 a	0,1 $\pm$ 0,02 b	2,32 $\pm$ 0,63 a	0,1 $\pm$ 0,02bcde
<b>Tatlı Mısır</b>	0,22 $\pm$ 0,05 fg	0,39 $\pm$ 0,08 cde	0,26 $\pm$ 0,11 cd	0,13 $\pm$ 0,07 c	0,17 $\pm$ 0,05 cd	0,06 $\pm$ 0 b	0,1 $\pm$ 0,04 c	0,07 $\pm$ 0 ef
<b>Bebek Maması</b>	0,28 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,02 de	0,33 $\pm$ 0,01 cd	0,1 $\pm$ 0,01 c	0,41 $\pm$ 0,01 cd	0,07 $\pm$ 0 b	0,09 $\pm$ 0,01 c	0,08 $\pm$ 0 def
<b>Kek</b>	0,77 $\pm$ 0,21bcd	0,96 $\pm$ 0,24 b	0,47 $\pm$ 0,02 cd	0,14 $\pm$ 0,02 bc	0,26 $\pm$ 0,05 cd	0,08 $\pm$ 0 b	0,15 $\pm$ 0,01 c	0,08 $\pm$ 0,01 def
<b>Mısır Patlağı</b>	0,69 $\pm$ 0,15cde	0,72 $\pm$ 0,03 bcd	0,59 $\pm$ 0,06 cd	0,42 $\pm$ 0,22 b	0,59 $\pm$ 0,23 c	0,08 $\pm$ 0,01 b	0,12 $\pm$ 0,03 c	0,08 $\pm$ 0,02 def
<b>Soya Unu</b>	3,1 $\pm$ 0,08 a	3,3 $\pm$ 0,11 a	2,54 $\pm$ 0,4 b	3,17 $\pm$ 0,03 a	3,13 $\pm$ 0,06 a	0,38 $\pm$ 0,07 a	1,8 $\pm$ 0,48 a	0,1 $\pm$ 0,02bcde
<b>Soya Küspesi</b>	3,09 $\pm$ 0,22 a	3,17 $\pm$ 0,11 a	3,14 $\pm$ 0,19 a	2,97 $\pm$ 0,07 a	2,81 $\pm$ 0,3 a	0,32 $\pm$ 0,09 a	1,24 $\pm$ 0,2 b	0,14 $\pm$ 0,02 ab
<b>GDO Mısır</b>	1,13 $\pm$ 0,14 b	0,94 $\pm$ 0,1 b	0,75 $\pm$ 0,14 c	0,16 $\pm$ 0,02 bc	1,24 $\pm$ 0,18 b	0,06 $\pm$ 0 b	0,13 $\pm$ 0,03 c	0,11 $\pm$ 0,01abcd
<b>Ortalama</b>	1,01 $\pm$ 0,54 a	1,19 $\pm$ 0,64 a	0,97 $\pm$ 0,57 a	0,62 $\pm$ 0,59 bc	0,93 $\pm$ 0,64 ab	0,11 $\pm$ 0,06 d	0,49 $\pm$ 0,46 c	0,09 $\pm$ 0,02 d

Aynı sütunda bulunan farklı büyük harfleri içeren ortalamalar arasındaki farklar  $p < 0.05$  düzeyinde anlamlıdır.

Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye Wizard metodu (protokol 2) kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonucunda 0,13  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  - 3,30  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  arasında değişen

miktarlarda (ortalama 1,19 µg/µl) DNA elde edilmiştir. Bu protokol uygulanarak elde edilen en iyi değer soya ununda (3,30 µg/µl) ve soya küspesinde (3,17 µg/µl) saptanmıştır. Bu metot protokol 1'in modifiye halidir ve benzer şekilde en yüksek DNA veriminin elde edildiği gıda ürünleri aynı olmuştur. Ayrıca bu yöntem, cin mısırdan DNA izolasyonunda da yüksek sonuçlar göstermiştir. Bu yöntem, yarı işlenmiş bir ürün olan mısır nişastası için en düşük DNA veriminin sağlandığı yöntem olmuştur. Bu yöntem ile gerçekleştirilen izolasyonda en düşük sonuç protokol 1 ile benzer şekilde 0,13 µg/µl ile mısır nişastasından elde edilmiştir.

Farklı işlenmişlik seviyelerine sahip gıda ürünlerinde, örneklerin TNE tamponu ile ön inkübasyonuna dayalı kombinasyon yöntemi (protokol 3) kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonucunda 0,07 µg/µl - 3,14 µg/µl arasında değişen miktarlarda DNA elde edilmiştir (Çizelge 4.2). Bu protokol kullanılarak elde edilen DNA miktarı ortalaması kullanılan tüm gıda ürünleri için 0,97 µg/µl olarak hesaplanmıştır. Bu protokol uygulanarak soya küspesinde 3,14 µg/µl DNA ile yüksek verim sağlanmış olup bunu 2,54 µg/µl'lik verim ile soya unu ve 2,38 µg/µl'lik verim ile cin mısır takip etmiştir. Bu protokolün mısır nişastasının izolasyonu (0,07 µg/µl DNA) için uygun bir yöntem olmadığı tespit edilmiştir. Tung Nguyen ve ark. (2009) çalıştıkları ham soya fasülyesi, ham mısır ve hayvan yemi örneklerinde bu çalışmada da yer alan ilk beş protokolü denemişlerdir ve elde edilen verilere göre protokol 1 ve 3'ün orta verimde DNA sağladığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde bu çalışmada da 0,97 µg/µl'lik ortalamayla protokol 3, verim bakımından orta seviyede yerini alırken protokol 1, daha yüksek verimde (1,01 µg/µl) DNA sağlamıştır.

İşlenmiş ve işlenmemiş gıda örneklerinin izolasyonunda kullanılan CTAB yönteminden (Jankiewicz ve ark., 1999) elde edilen sonuçlar baz alınarak ürünler karşılaştırıldığında, DNA veriminin ortalama 0,62 µg/µl olmak üzere 0,07 µg/µl ila 3,17 µg/µl arasında değişkenlik gösterdiği ve bu protokolün soya unu ve soya küspesi için tercih edilebilecek başarılı bir yöntem olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2). Bu yöntem ile en düşük verim (0,07 µg/µl) mısır nişastasında gözlenmiş, bunu bebek maması mısır gevreği ve tatlı mısır örnekleri izlemiştir (Çizelge 4.2). Tung Nguyen ve ark. (2009) ham soya fasülyesi, ham mısır ve hayvan yemi örneklerinde CTAB'den türetilmiş protokoller arasında DNA verimi açısından en iyi sonucu protokol 4'ün verdiğini

bildirmiştir. Bu bulgu, Chen ve Ronald (1999)'ın pirinç ve mısır tanelerinden DNA ekstrakte edilmesi işlemiyle uyumlu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da soya kökenli ürün olan soya unu ve soya küspesinde (hayvan yemi) aynı başarı protokol 4 ile sağlanmıştır. Ancak GDO'lu mısırdan DNA ekstrakte edilmesinde bu yöntem yeterli başarıyı gösterememiştir. Bu yöntem ile çok iyi DNA veriminin elde edildiği bir diğer çalışma mısır yaprağı, mısır koçanı (Chen ve Ronald, 1999; Schneerman ve ark., 2002) ve soya fasülyesi tohumunda (Kaşg ve ark., 1998) yapılmış ve bu yöntemin izole edilen DNA miktarı açısından bu örnekler için verimli olduğu bildirilmiştir.

Gıda ürünlerinin izolasyonunda Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye CTAB metodu (Protokol 5) kullanılarak 0,07 µg/µl - 3,13 µg/µl arasında DNA verimi sağlandığı gözlenmiştir. Bu metod uygulanarak elde edilen DNA miktarı ortalamasının tüm gıda ürünleri için 0,93 µg/µl olduğu hesaplanmıştır. Bu yöntem ile 3,13 µg/µl'lik üst düzey DNA verimi soya ununa ait iken bunu 2,81 µg/µl ile soya küspesi, 2,77 µg/µl ile cin mısır ve 1,24 µg/µl ile de GDO'lu mısır takip etmiştir. Protokol 4'ün modifiye şekli olan bu yöntem ile soya unu ve soya küspesinde benzer yüksek değerler elde edilirken, protokol 4'den farklı olarak bu yöntem de cin mısır ve GDO'lu mısır ürünlerinde de yüksek DNA verimi sağlanmıştır. Yine bu yöntem ile en başarısız sonucun (0,06 µg/µl DNA) elde edildiği gıda ürünü mısır nişastası olmuştur (Çizelge 4.2). Tung Nguyen ve ark. (2009) yaptığı çalışmada SDS bazlı veya CTAB esaslı protokollerin BME ihtiva eden modifiye şekillerinde (protokol 2 ve 5) düşük seviyede DNA verimi sağlandığı belirtilmiştir. Buna sebep olarak; BME'nin protein molekülleri arasındaki disülfid bağlarını kırarak çözelti içinde biyolojik bileşiklerin oksidasyonunu geciktirdiği ileri sürülmüştür. Bu durumun aksine bizim çalışmamızda ise soya ve mısır kökenli ürünlerde (soya unu, soya küspesi ve GDO'lu ham mısır) DNA veriminin oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2).

Farklı bir CTAB yöntemi (Rogers ve Bendich, 1985) olan protokol 6 ile 12 adet gıda ürünü elde edilen verim oldukça düşük düzeyde seyrederek bu aralık 0,06 µg/µl - 0,38 µg/µl ile sınırlı kalmıştır. Bu yöntemin uygulanmasıyla en yüksek verim 0,38 µg/µl DNA miktarı ile soya ununda ve 0,32 µg/µl DNA ile soya küspesinde gözlenmiştir. Geri kalan tüm gıda ürünlerinde çok düşük konsantrasyonda DNA izole edilebilmiş bu nedenle de bu protokolün bu gıda ürünlerinden DNA izolasyonu için

yeterli ve uygun bir yöntem olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.2). Bununla birlikte çalışmada kullanılan tüm protokoller birlikte değerlendirildiğinde protokol 6 ve protokol 8'in izole edilen ortalama DNA miktarı bakımından en düşük değerleri veren yöntemler olduğu gözlenmiştir.

GENESpin, Eurofins GeneScan DNA ekstraksiyon kiti (protokol 7) kullanılarak yapılan izolasyon işlemi ile 0,06 µg/µl - 2,32 µg/µl arasında değişen miktarlarda DNA (ortalama 0,49 µg/µl) gözlenmiş ve ısıl işleme maruz bırakılmamış gıda ürünü olan cin mısırdaki 2,32 µg/µl ile en yüksek DNA verimi elde edilmiştir. Aynı şekilde işlenmişlik düzeyi düşük olan soya ununda (1,80 µg/µl) ve soya küspesinde de (1,24 µg/µl) yeterli miktarda DNA izole edilmiştir. Bu protokol kullanılarak işlenmişlik seviyesi yüksek ürünlerde oldukça düşük miktarlarda DNA ekstrakte edilmiştir.

DNeasy® mericon™ Food Handbook Standart kiti (protokol 8), genel itibarıyla çalışmada kullanılan ürünlerin ekstraksiyonunda diğer protokollere kıyasla başarısız bir sonuç ortaya çıkarmıştır. Çalışmada kullanılan tüm protokoller birlikte değerlendirildiğinde izole edilen ortalama DNA miktarı bakımından en düşük değerleri veren yöntemlerin protokol 8 (0,09 µg/µl DNA) ve protokol 6 (0,11 µg/µl DNA) olduğu tespit edilmiştir. Düşük seviyede verim sağlayan bu kitten elde edilen DNA konsantrasyonları 0,06 µg/µl - 0,14 µg/µl arasında seyretmiştir. Bu nedenlerle bu yöntemin çalışmada kullanılan gıda ürünlerinin DNA izolasyonu için verimli bir şekilde kullanılabilen bir yöntem olmadığı kanısına varılmıştır (Çizelge 4.2).

Sekiz farklı protokol uygulanarak çalışmada materyal olarak kullanılan 14 farklı gıda ürünüden elde edilen ortalamalar protokol bazında değerlendirildiğinde; ortalama olarak en yüksek DNA miktarı protokol 2 (1,19 µg/µl), protokol 1 (1,01 µg/µl) ve protokol 3'den (0,97 µg/µl) elde edilmiştir. Bu metotları ortalama 0,93, 0,62 ve 0,49 µg/µl'lik DNA miktarları ile sırasıyla protokol 5, protokol 4 ve protokol 7 takip etmiştir. Tüm gıda ürünleri dikkate alınarak yapılan istatistikî analiz sonucunda ortalama DNA verimi bakımından en düşük değeri veren metotların ise protokol 6 (0,11 µg/µl) ve protokol 8 (0,09 µg/µl) olduğu belirlenmiştir.

#### 4.1.2. Farklı Yöntemlerle İzole Edilen DNA'ların Saflık ve Kalite Bakımından Karşılaştırılması

DNA'nın saflığını ve kalitesini ölçmek için genel olarak 260 nm ve 280 nm absorpsiyon değerlerinin oranı kullanılmaktadır. Saf DNA yaklaşık 1,8, RNA ise yaklaşık 2,0 değerini vermelidir. Bu çalışmada yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda elde edilen verilerden hesaplanan  $A_{260}/A_{280}$  oranı Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'de verilmiştir. DNA kalitesi bakımından çalışmada kullanılan tüm protokoller karşılaştırıldığında bu oranın bisküvi için 1,29 - 1,73 arasında değiştiği ve en iyi değer 1,73 ile DNeasy® mericon™ Food Handbook standart kitiyle (protokol 8) elde edildiği ortaya konulmuştur. Bunu takiben GENESpin, Eurofins GeneScan DNA ekstraksiyon kiti (protokol 7) ile 1,69 oranında ve Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye CTAB metoduyla ise (protokol 5) 1,58 oranında saflıkta DNA elde edilebilmiştir. Ayrıca, bisküvi için tüm protokollerden elde edilen ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranının 1,52 olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3). Bu ortalamanın oldukça altında bir sonuç veren Wizard yönteminden (1,29) istenilen saflıkta DNA elde edilemediği gözlenmiştir. Gryson ve ark. (2004) yaptığı bir çalışmada, işlenmiş bir ürün olan bisküvi ve çikolatada ilk beş yöntem denenmiş ve zaman alıcı olmasına rağmen CTAB yönteminin (protokol 4) bu ve benzeri ürünler için oldukça başarılı olduğu açıklanmıştır. Bu çalışmada ise ilk beş protokol arasından CTAB yöntemi ile orta verimde DNA eldesi gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemin modifiye şekli olan protokol 5'de ise daha başarılı bir sonuç elde edilmiştir.

Mısır gevreği örneklerine uygulanan farklı DNA izolasyon yöntemleriyle 1,14 - 1,52 değer aralığında değişen saflıkta DNA gözlenmiş ve bu değerler karşılaştırıldığında bu gıda ürününde protokol 8'in (1,52) DNA kalitesi bakımından çalışmada kullanılan metotlar arasında en uygun protokol olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye CTAB metodundan da bu değere yakın bir sonuç (1,44) elde edilmiştir. Ayrıca mısır gevreği, çalışmada incelenen gıda ürünleri arasında tüm protokoller birlikte değerlendirildiğinde ortalama DNA kalitesi açısından mısır nişastasıyla birlikte en düşük DNA saflığının (ortalama 1,26) elde edildiği gıda ürünü olmuştur.

**Çizelge 4.3.** Soya ve mısır içeren gıda ürünlerinde farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak izole edilen DNA'ların kalitesinin karşılaştırılması ( $A_{260}/A_{280}$ )

Gıda Ürünü	Protokoller (Ortalama $\pm$ Standart Hata)								
	Pro 1	Pro 2	Pro 3	Pro 4	Pro 5	Pro 6	Pro 7	Pro 8	Ortalama
<b>Bisküvi</b>	1,29 $\pm$ 0,08 c	1,44 $\pm$ 0,12 bc	1,51 $\pm$ 0,13 abc	1,44 $\pm$ 0,11 bc	1,58 $\pm$ 0,05 ab	1,49 $\pm$ 0,07 abc	1,69 $\pm$ 0,09 ab	1,73 $\pm$ 0,02 a	1,52 $\pm$ 0,11cde
<b>Mısır Gevreği</b>	1,14 $\pm$ 0,02 b	1,19 $\pm$ 0,03 b	1,22 $\pm$ 0,05 b	1,22 $\pm$ 0,03 b	1,44 $\pm$ 0,08 a	1,18 $\pm$ 0,05 b	1,18 $\pm$ 0,04 b	1,52 $\pm$ 0,06 a	1,26 $\pm$ 0,09 g
<b>Kraker</b>	1,57 $\pm$ 0,05 bc	1,67 $\pm$ 0,04 ab	1,64 $\pm$ 0,05 ab	1,51 $\pm$ 0,09 bc	1,64 $\pm$ 0,08 ab	1,41 $\pm$ 0,09c	1,79 $\pm$ 0,02 a	1,78 $\pm$ 0,03 a	1,63 $\pm$ 0,09bc
<b>Mısır Cipsi</b>	1,56 $\pm$ 0,13 ab	1,63 $\pm$ 0,11 ab	1,57 $\pm$ 0,13 ab	1,36 $\pm$ 0,12 b	1,52 $\pm$ 0,07 ab	1,44 $\pm$ 0,07 ab	1,59 $\pm$ 0,11 ab	1,67 $\pm$ 0,07 a	1,54 $\pm$ 0,11cd
<b>Mısır Nişastası</b>	1,17 $\pm$ 0,03 c	1,18 $\pm$ 0,02 c	1,27 $\pm$ 0,04 abc	1,22 $\pm$ 0,06 bc	1,42 $\pm$ 0,07 ab	1,07 $\pm$ 0,02 c	1,19 $\pm$ 0,03 bc	1,49 $\pm$ 0,21 a	1,25 $\pm$ 0,11 g
<b>Mısır Unu</b>	1,7 $\pm$ 0,11 b	1,76 $\pm$ 0,07 ab	1,91 $\pm$ 0,05 a	1,67 $\pm$ 0,1 b	1,84 $\pm$ 0,09 ab	1,48 $\pm$ 0,03 c	1,85 $\pm$ 0,02 ab	1,72 $\pm$ 0,01 ab	1,74 $\pm$ 0,1 ab
<b>Cin Mısır</b>	1,88 $\pm$ 0,09 ab	1,48 $\pm$ 0,2 b	1,69 $\pm$ 0,2 ab	1,53 $\pm$ 0,16 b	1,59 $\pm$ 0,19 ab	1,5 $\pm$ 0,13 b	1,96 $\pm$ 0,08 a	1,85 $\pm$ 0,02 ab	1,68 $\pm$ 0,16 ab
<b>Tatlı Mısır</b>	1,18 $\pm$ 0,06 a	1,42 $\pm$ 0,06 a	1,6 $\pm$ 0,22 a	1,26 $\pm$ 0,2 a	1,52 $\pm$ 0,09 a	1,32 $\pm$ 0,14 a	1,57 $\pm$ 0,2 a	1,56 $\pm$ 0,03 a	1,43 $\pm$ 0,15 def
<b>Bebek Maması</b>	1,28 $\pm$ 0,12 b	1,51 $\pm$ 0,04 a	1,25 $\pm$ 0,03 bc	1,06 $\pm$ 0,08 c	1,52 $\pm$ 0,1 a	1,29 $\pm$ 0,03 b	1,6 $\pm$ 0,05 a	1,67 $\pm$ 0,11 a	1,4 $\pm$ 0,13 ef
<b>Kek</b>	1,22 $\pm$ 0,07 b	1,21 $\pm$ 0,08 b	1,34 $\pm$ 0,09 ab	1,49 $\pm$ 0,12 a	1,51 $\pm$ 0,12 a	1,4 $\pm$ 0,07 ab	1,42 $\pm$ 0,07 ab	1,42 $\pm$ 0,04 ab	1,38 $\pm$ 0,1 f
<b>Mısır Patlağı</b>	1,53 $\pm$ 0,08 ab	1,7 $\pm$ 0,01 ab	1,59 $\pm$ 0,02 ab	1,63 $\pm$ 0,12 ab	1,71 $\pm$ 0,1 ab	1,7 $\pm$ 0,13 ab	1,72 $\pm$ 0,05 a	1,45 $\pm$ 0,13 b	1,63 $\pm$ 0,1 bc
<b>Soya Unu</b>	1,09 $\pm$ 0,01 d	1,15 $\pm$ 0,05 d	1,1 $\pm$ 0,02 d	1,16 $\pm$ 0,04 d	1,13 $\pm$ 0,01 d	1,93 $\pm$ 0,01 b	2,04 $\pm$ 0,07 a	1,59 $\pm$ 0,06 c	1,4 $\pm$ 0,22 ef
<b>Soya Küspesi</b>	1,24 $\pm$ 0,09 d	1,39 $\pm$ 0,07 c	1,23 $\pm$ 0,07 d	1,22 $\pm$ 0,03 d	1,09 $\pm$ 0,02 d	1,97 $\pm$ 0,02 a	2,04 $\pm$ 0,02 a	1,81 $\pm$ 0,07 b	1,5 $\pm$ 0,21def
<b>GDO Mısır</b>	1,86 $\pm$ 0,02 ab	1,8 $\pm$ 0,09 ab	1,84 $\pm$ 0,07 ab	1,81 $\pm$ 0	1,95 $\pm$ 0,02 a	1,48 $\pm$ 0,11 c	1,73 $\pm$ 0,09 b	1,77 $\pm$ 0,02 ab	1,78 $\pm$ 0,09 a

Aynı satırda bulunan farklı harfleri içeren ortalamalar arasındaki farklar  $p < 0.05$  düzeyinde anlamlıdır.

İşlenmiş bir gıda ürünü olan krakerde ortalama 1,63 ( $A_{260}/A_{280}$ ) olmak üzere 1,41 ile 1,79 arasında değişen saflıkta DNA ekstrakte edilmiştir. En yüksek değerler 1,79 ile GENESpin, Eurofins GeneScan DNA ekstraksiyon kiti (protokol 7) ve 1,78 ile DNeasy® mericon™ Food Handbook standart kitinde (protokol 8) gözlenmiştir. Bununla birlikte kraker örneklerinde protokol 2 (1,67), protokol 3 (1,64) ve protokol 5

(1,64) ile de yeterli saflıkta DNA elde edilebilmiştir. Bu gıda ürünü için kullanılan metotlardan protokol 6'nın (1,41) krakerde en düşük saflıkta DNA veren yöntem olduğu gözlenmiştir.

Mısır cipsinin ekstraksiyonundan elde edilen ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranı 1,54 olmak üzere 1,36 ila 1,67 arasında değişen bir değer aralığı göstermiştir. Bu aralıkta en yüksek değeri içeren protokol 8'in 1,67 değer ile mısır cipsinin DNA ekstraksiyonunda istenilen kalitede DNA elde edilmesi için en uygun yöntem olduğu tespit edilmiştir. CTAB yönteminin (protokol 4) ise DNA kalitesi açısından bu ürünün izolasyonu için uygun olmadığı saptanmıştır. Ayrıca en yüksek ve en düşük iki değer arasında aynı istatistikî grupta yer alan diğer tüm yöntemlerin birbirine oldukça yakın değerler verdiği görülmüştür (Çizelge 4.3).

Kullanılan protokoller ile mısır nişastası için 1,07 - 1,49 aralığında değişen oranlarda DNA saflığı elde edilmiştir. Protokollerden elde edilen ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranı mısır nişastası için 1,25 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan protokoller karşılaştırıldığında bu ürün için  $A_{260}/A_{280}$  oranı protokol 8 için 1,49 ve bunu takiben protokol 5 için 1,42 olarak hesaplanmıştır. Mısır nişastası için en düşük saflık oranı sırasıyla CTAB yöntemi (protokol 6), Wizard yöntemi (protokol 1) ve onun modifiye protokolünde (protokol 2) gözlenmiştir (Çizelge 4.3). Tüm gıda ürünleri içinde ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranı en düşük ürün mısır nişastası ve mısır gevreği olmuştur.

Mısır unu örneğinde uygulanan farklı izolasyon işlemlerinin ardından yapılan spektrofotometrik analiz sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında DNA saflık oranının 1,48 - 1,91 (ortalama 1,74) arasında değişkenlik gösterdiği ve DNA kalitesi bakımından aynı istatistikî gruba giren protokol 7 (1,85), protokol 5 (1,84), protokol 2 (1,76) ve protokol 8 (1,72)'in istenilen saflıkta DNA eldesinde başarıyla kullanılabileceği belirlenmiştir. Ayrıca, Çizelge 4.3'de verildiği gibi mısır unu için en yüksek  $A_{260}/A_{280}$  oranı 1,91 ile protokol 3'de, en düşük oran ise 1,48 ile protokol 6'da tespit edilmiştir.

Yapılan analiz sonuçlarına göre yarı işlenmiş bir ürün olan cin mısır için DNA saflık oranı ortalama 1,68 olmak üzere 1,48 ila 1,96 arasında değişiklik göstermiştir.



Çalışmada kullanılan 14 adet gıda ürünü içinde tüm protokollerden elde edilen ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranı bakımından en yüksek olan üçüncü gıda ürünü cin mısırı olmuştur. En yüksek oran (1,96) GENESpin, Eurofins GeneScan DNA ekstraksiyon kitinde (protokol 7) gözlenmiştir. Bunu takiben 1,88 oranı elde edilen Wizard yöntemi (Protokol 1), 1,85 ile DNeasy® mericon™ Food Handbook standart kiti (protokol 8) izlemiştir. Kullanılan protokoller içinde 1,69  $A_{260}/A_{280}$  oranı ile örneklerin TNE tamponu ile ön inkübasyonuna dayalı kombinasyon yöntemi (Protokol 3) cin mısırdan istenilen saflıkta DNA elde edilmesinde başarı ile kullanılabilecek yöntemlerin başında gelmiştir. 1,68'lik ortalamanın oldukça altında bir sonuç veren protokol 2, protokol 4 ve protokol 6 ise sırasıyla 1,48, 1,53 ve 1,50'lik  $A_{260}/A_{280}$  oranı ile cin mısırdaki DNA kalitesinin en düşük olduğu protokoller olmuştur (Çizelge 4.3).

Tatlı mısırdaki farklı ekstraksiyon yöntemleri ve kitleri kullanılarak elde edilen DNA saflık oranı 1,18 - 1,60 arasında olmakla birlikte DNA saflığı (ortalama 1,43) bakımından tatlı mısır için en yüksek sonuç TNE tamponu ile ön inkübasyonuna dayalı kombinasyon yönteminden (protokol 3) elde edilmiştir. En düşük oran ise 1,18 ile protokol 1'den elde edilmiş olup tatlı mısır için incelenen tüm değerler aynı istatistikî gruba girmiş ve bu gıda ürünü için kullanılan protokollerle yüksek saflıkta DNA elde edilememiştir.

Farklı izolasyon yöntemleri uygulanarak 1,06 - 1,67 arasında geniş bir değer aralığında değişen miktarlarda DNA saflık oranı elde edilen bebek maması örneğinde en iyi sonuç 1,67'lik değer ile DNeasy® mericon™ Food Handbook standart kitinden (protokol 8) elde edilmiştir. Bu oranı sırasıyla 1,60'lik  $A_{260}/A_{280}$  oranı ile protokol 7'nin, 1,52  $A_{260}/A_{280}$  oranı ile protokol 5'in ve 1,51 oranı ile de protokol 2'nin izlediği tespit edilmiştir. Bu dört protokol dışındaki protokoller, çalışmada bebek mamasında elde edilen ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranından (1,40) daha düşük değerler vermiştir. Bebek mamasında en düşük  $A_{260}/A_{280}$  oranının (1,06) gözlemlendiği protokol 4'ün bu gıda ürününün DNA ekstraksiyonunda saflık ve kalite bakımından uygun olmadığı saptanmıştır. Protokol 4 ile bebek maması örneğinden düşük kalitede (1,06) DNA izole edilirken, aynı protokolün modifiye şekli olan protokol 5'den daha yüksek saflıkta (1,52) DNA izole edilebilmiştir.

Kek için çalışmada kullanılan protokoller ve kitlerden elde edilen DNA saflık oranı 1,21 - 1,51 arasında olduğu belirlenmiştir. Kek örnekleri için tüm protokollerden elde edilen ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranı 1,38 olarak saptanmış, sırasıyla protokol 1, 2 ve 3'den bu ortalamanın altında sonuçlar alınmıştır. Kek örneklerinde istenen kalite ve saflıkta DNA izole edilememiştir.

Yapılan ekstraksiyon işlemlerinin akabinde tüm protokoller karşılaştırıldığında mısır patlağından elde edilen DNA kalitesinin (ortalama 1,63) 1,45 ile 1,72 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu ürün için 1,7 - 1,72 arasında değişen  $A_{260}/A_{280}$  oranı ile protokol 2, 5, 6 ve 7'nin DNA saflığı ve kalitesi bakımından ideal sayılabilecek yöntemler olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte mısır patlağı örneği için gözlenen ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranının (1,63) oldukça altında değer veren protokol 8 (1,45) ve protokol 1 (1,53)'in bu üründen istenilen saflıkta DNA elde etmek için yetersiz kaldığı gözlenmiştir.

Soya unundan izole edilen DNA'ların  $A_{260}/A_{280}$  oranının 1,09 - 2,04'lik (ortalama 1,40) geniş bir değer aralığında değiştiği, en yüksek sonucun 2,04'lik oranla protokol 7 ve bunu takiben 1,93 ile protokol 6'dan elde edildiği saptanmıştır. Bu protokolleri 1,59  $A_{260}/A_{280}$  oranı ile protokol 8 izlemiştir. Çalışmada kullanılan ilk beş yöntem 1,09 - 1,16 arasındaki  $A_{260}/A_{280}$  oranları ile soya unundan kaliteli ve yeterli saflıkta DNA elde etme açısından başarısız bulunmuştur.

Çalışmamızda pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere temin edilen soya küspesi örneğinden 1,09 ila 2,04 arasında değişen saflıkta DNA elde edilmiştir.  $A_{260}/A_{280}$  oranı bakımından soya unu ile soya küspesi örneklerinde benzer sonuçlar gözlenmiş, soya küspesinde de en yüksek  $A_{260}/A_{280}$  oranı 2,04 ile protokol 7 ile 1,97 ile protokol 6'da gözlenmiştir. Yine bu iki yöntemi takiben 1,81'lik oran ile protokol 8 gelmiştir. Bu üç protokol dışındaki protokoller, çalışmada soya küspesinde elde edilen ortalama DNA kalitesinden (1,50) oldukça düşük değerler vermiştir. Çalışmada kullanılan bu ilk beş yöntem 1,09 - 1,39 arasındaki  $A_{260}/A_{280}$  oranları ile soya küspesinden yeterli saflıkta DNA elde etme bakımından başarısız bulunmuştur.

Spektrofotometrik analiz sonuçları baz alındığında GDO'lu mısırdan (pozitif kontrol) elde edilen  $A_{260}/A_{280}$  oranı ortalama 1,78 olmak üzere 1,48 - 1,95 arasında kaydedilmiş

olup bu örnek için en yüksek değer (1,95) Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye CTAB metodu (protokol 5) ile sağlanmışır.  $A_{260}/A_{280}$  oranı bakımından sırasıyla protokol 7 (1,73), protokol 8 (1,77) ve protokol 2 (1,80)'nin istenen saflıkta DNA ekstraksiyonu için uygun yöntemler olduğu tespit edilmiştir. Aynı istatistikî gruba giren protokol 1 (1,86), protokol 3 (1,84) ve protokol 4 (1,81)'ün de GDO'lu mısırdaki 1,48 ile en düşük kalitede DNA elde edilen CTAB metoduna (protokol 6) göre çok daha başarılı sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Elde edilen verilerden yola çıkarak incelenen gıda ürünleri içerisinde tüm protokoller birlikte değerlendirildiğinde elde edilen ortalama DNA kalitesi bakımından GDO'lu mısır en yüksek ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranının (1,78) elde edildiği gıda ürünü olmuştur.

Farklı DNA izolasyon protokolleri ile çalışmada materyal olarak kullanılan farklı işlenmişlik seviyesindeki 14 adet gıda ürününden izole edilen DNA'larda gözlenen  $A_{260}/A_{280}$  oranları baz alınarak; ortalama olarak en ideal oranların işlenmiş ve yarı işlenmiş gıda ürünlerinden olan GDO'lu mısır (1,78), mısır unu (1,74), cin mısır (1,68), kraker (1,63) ve mısır patlağından (1,63) elde edildiği ifade edilebilir. Bu ürünleri ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranı bakımından sırasıyla mısır cipsi, bisküvi, soya küspesi, tatlı mısır, soya unu ve bebek maması izlemiştir. Tüm protokoller baz alınarak yapılan istatistikî analiz sonucunda ortalama DNA saflığı bakımından en düşük  $A_{260}/A_{280}$  oranını veren ürünlerin ise mısır nişastası (1,25), mısır gevreği (1,26) ve kek (1,38) olduğu belirlenmiştir.

**Çizelge 4.4.** Farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak soya ve mısır içeren gıda ürünlerinden izole edilen DNA'ların kalitesinin karşılaştırılması ( $A_{260}/A_{280}$ )

Gıda Ürünü	Protokoller (Ortalama $\pm$ Standart Hata)							
	Pro 1	Pro 2	Pro 3	Pro 4	Pro 5	Pro 6	Pro 7	Pro 8
<b>Bisküvi</b>	1,29 $\pm$ 0,08 c	1,44 $\pm$ 0,12 cde	1,51 $\pm$ 0,13cde	1,44 $\pm$ 0,11bcdef	1,58 $\pm$ 0,05 cd	1,49 $\pm$ 0,07 bc	1,69 $\pm$ 0,09 cd	1,73 $\pm$ 0,02abcd
<b>Mısır Gevreği</b>	1,14 $\pm$ 0,02 c	1,19 $\pm$ 0,03 fgh	1,22 $\pm$ 0,05 f	1,22 $\pm$ 0,03 efg	1,44 $\pm$ 0,08 d	1,18 $\pm$ 0,05 de	1,18 $\pm$ 0,04 f	1,52 $\pm$ 0,06 def
<b>Kraker</b>	1,57 $\pm$ 0,05 b	1,67 $\pm$ 0,04 abc	1,64 $\pm$ 0,05abc	1,51 $\pm$ 0,09 bcde	1,64 $\pm$ 0,08bcd	1,41 $\pm$ 0,09 c	1,79 $\pm$ 0,02bcd	1,78 $\pm$ 0,03 abc
<b>Mısır Cipsi</b>	1,56 $\pm$ 0,13 b	1,63 $\pm$ 0,11abcd	1,57 $\pm$ 0,13bcd	1,36 $\pm$ 0,12cdefg	1,52 $\pm$ 0,07 cd	1,44 $\pm$ 0,07 c	1,59 $\pm$ 0,11 de	1,67 $\pm$ 0,07abcde
<b>Mısır Nişastası</b>	1,17 $\pm$ 0,03 c	1,18 $\pm$ 0,02 gh	1,27 $\pm$ 0,04 ef	1,22 $\pm$ 0,06 efg	1,42 $\pm$ 0,07 d	1,07 $\pm$ 0,02 e	1,19 $\pm$ 0,03 f	1,49 $\pm$ 0,21 def
<b>Mısır Unu</b>	1,7 $\pm$ 0,11 ab	1,76 $\pm$ 0,07 a	1,91 $\pm$ 0,05 a	1,67 $\pm$ 0,1 ab	1,84 $\pm$ 0,09 ab	1,48 $\pm$ 0,03 bc	1,85 $\pm$ 0,02abc	1,72 $\pm$ 0,01 abcd
<b>Cin Mısır</b>	1,88 $\pm$ 0,09 a	1,48 $\pm$ 0,2 bcd	1,69 $\pm$ 0,2 abc	1,53 $\pm$ 0,16 abcd	1,59 $\pm$ 0,19 cd	1,5 $\pm$ 0,13 bc	1,96 $\pm$ 0,08 ab	1,85 $\pm$ 0,02 a
<b>Tatlı Mısır</b>	1,18 $\pm$ 0,06 c	1,42 $\pm$ 0,06 def	1,6 $\pm$ 0,22bcd	1,26 $\pm$ 0,2 defg	1,52 $\pm$ 0,09 cd	1,32 $\pm$ 0,14 cd	1,57 $\pm$ 0,2 de	1,56 $\pm$ 0,03 cdef
<b>Bebek Maması</b>	1,28 $\pm$ 0,12 c	1,51 $\pm$ 0,04 bcd	1,25 $\pm$ 0,03 ef	1,06 $\pm$ 0,08 g	1,52 $\pm$ 0,1 cd	1,29 $\pm$ 0,03 cd	1,6 $\pm$ 0,05 de	1,67 $\pm$ 0,11 abcde
<b>Kek</b>	1,22 $\pm$ 0,07 c	1,21 $\pm$ 0,08efgh	1,34 $\pm$ 0,09 def	1,49 $\pm$ 0,12 bcde	1,51 $\pm$ 0,12 cd	1,4 $\pm$ 0,07 c	1,42 $\pm$ 0,07 e	1,42 $\pm$ 0,04 f
<b>Mısır Patlağı</b>	1,53 $\pm$ 0,08 b	1,7 $\pm$ 0,01 ab	1,59 $\pm$ 0,02bcd	1,63 $\pm$ 0,12 abc	1,71 $\pm$ 0,1 bc	1,7 $\pm$ 0,13 b	1,72 $\pm$ 0,05 cd	1,45 $\pm$ 0,13 ef
<b>Soya Unu</b>	1,09 $\pm$ 0,01 c	1,15 $\pm$ 0,05 h	1,1 $\pm$ 0,02 f	1,16 $\pm$ 0,04 fg	1,13 $\pm$ 0,01 e	1,93 $\pm$ 0,01 a	2,04 $\pm$ 0,07 a	1,59 $\pm$ 0,06 bcdef
<b>Soya Küspesi</b>	1,24 $\pm$ 0,09 c	1,39 $\pm$ 0,07defg	1,23 $\pm$ 0,07 ef	1,22 $\pm$ 0,03 efg	1,09 $\pm$ 0,02 e	1,97 $\pm$ 0,02 a	2,04 $\pm$ 0,02 a	1,81 $\pm$ 0,07 ab
<b>GDO Mısır</b>	1,86 $\pm$ 0,02 a	1,8 $\pm$ 0,09 a	1,84 $\pm$ 0,07 ab	1,81 $\pm$ 0 a	1,95 $\pm$ 0,02 a	1,48 $\pm$ 0,11 bc	1,73 $\pm$ 0,09 cd	1,77 $\pm$ 0,02 abc
<b>Ortalama</b>	1,41 $\pm$ 0,17 c	1,47 $\pm$ 0,15 bc	1,48 $\pm$ 0,17 bc	1,4 $\pm$ 0,15 c	1,53 $\pm$ 0,15 b	1,47 $\pm$ 0,16 bc	1,67 $\pm$ 0,17 a	1,64 $\pm$ 0,11 a

Aynı sütunda bulunan farklı büyük harfleri içeren ortalamalar arasındaki farklar  $p < 0.05$  düzeyinde anlamlıdır.

Farklı işlenmişlik seviyelerindeki 14 adet gıda ürününden sekiz protokol kullanılarak izole edilen DNA'ların  $A_{260}/A_{280}$  oranına ilişkin veriler her protokol kendi içinde değerlendirilerek karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.4). Gıda ürünlerinde Wizard yöntemi uygulanarak yapılan ekstraksiyon sonrasında (protokol 1)  $A_{260}/A_{280}$  oranı 1,09 - 1,88 arasında değişen DNA'lar izole edildiği gözlenmiştir. Bu protokol uygulanarak elde edilen en yüksek oran cin mısır (1,88) ve GDO'lu mısırdaki (1,86) saptanmıştır. En ideal  $A_{260}/A_{280}$  oranı 1,70 ile mısır ununda elde edilmiştir. Bunu takiben kraker, mısır cipsi ve mısır patlağından sırasıyla 1,57, 1,56 ve 1,53'lik  $A_{260}/A_{280}$  oranlarına sahip DNA elde edilmiştir. Bu protokol kullanılarak elde edilen ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranı incelenen tüm gıda ürünleri için 1,41 olarak hesaplanmıştır. Wizard yönteminin ortalamasının çok altında  $A_{260}/A_{280}$  oranı gözlenen soya unu (1,09), mısır gevreği (1,14), mısır nişastası (1,17), tatlı mısır (1,18), kek (1,22), soya küspesi (1,24), bebek maması (1,28) ve bisküvinin (1,29) izolasyonu için DNA saflığı ve kalitesi bakımından uygun bir yöntem olmadığı tespit edilmiştir.

Farklı işlenmişlik seviyelerine sahip gıda ürünlerinde, Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye Wizard metodu (protokol 2) kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonucunda 1,15 - 1,80 arasında değişen kalitede DNA elde edilmiştir (Çizelge 4.4). Bu metod uygulanarak elde edilen ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranının tüm gıda ürünleri için 1,47 olduğu hesaplanmıştır. Bu yöntem ile en yüksek  $A_{260}/A_{280}$  oranı 1,80 ile GDO'lu mısırdaki ve 1,76 ile mısır ununda gözlenmiştir. Bu metod protokol 1'in modifiye şekli olmakla birlikte her iki metotta da en yüksek  $A_{260}/A_{280}$  oranı GDO'lu mısırdaki saptanmıştır. Protokol 2 ile en ideal  $A_{260}/A_{280}$  oranı 1,70 ile mısır patlağı ve 1,67 ile de kraker ürünlerinde tespit edilmiştir. Bu yöntem ile gerçekleştirilen izolasyonda DNA saflığı açısından en başarısız sonuç 1,15 oranı ile soya unundan ve 1,18 oranı ile mısır nişastasından elde edilmiştir. Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye Wizard metodu (protokol 2) ve örneklerin TNE tamponu ile ön inkübasyonuna dayalı kombinasyon yöntemi (protokol 3), Tung Nguyen ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada ham mısırdaki denemiş olup  $A_{260}/A_{280}$  oranı (1,6 ve 1,7) sonucunda protein izine rastlanıldığı ileri sürülerek orta nitelikte bir DNA saflığı verildiği bildirilmiştir. Bu bulgunun aksine çalışmamızda ham mısır (GDO'lu mısır) için sırasıyla 1,80 (protokol 2) ve 1,84 (protokol 3)'lük bir  $A_{260}/A_{280}$  oranı elde edilmiştir.

Örneklerin TNE tamponu ile ön inkübasyonuna dayalı kombinasyon yöntemi (protokol 3) kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonucunda 1,10 - 1,91 arasında değişen kalitede (ortalama 1,48) DNA izole edilmiştir. Bu protokol uygulanarak en yüksek  $A_{260}/A_{280}$  oranı mısır ununda (1,91) ve GDO'lu mısırdaki (1,84) gözlenmiştir. Protokol 3'ün kullanılmasıyla en ideal DNA saflık oranı 1,69 ile cin mısırdaki tespit edilmiştir. Bu yöntem ile gerçekleştirilen izolasyonda en düşük kalitede DNA soya unundan (1,10) ve mısır gevreğinden (1,22) izole edilmiştir.

İşlenmiş ve işlenmemiş gıda örneklerinden CTAB yöntemi (Jankiewicz ve ark., 1999) ile yapılan izolasyon işlemi sonucunda 1,06 - 1,81 arasında değişen kalitede DNA (ortalama 1,40) gözlenmiş, en yüksek  $A_{260}/A_{280}$  oranı ısıtılma maruz bırakılmamış gıda ürünü olan GDO'lu mısırdaki (1,81) saptanmıştır. Bu oranı 1,67 ile mısır unu, ve 1,63 ile de mısır patlağı takip etmiştir. Protokol 4 ile elde edilen en düşük oranın (1,06) elde edildiği gıda ürünü bebek maması olmuştur (Çizelge 4.4). Bununla birlikte çalışmada kullanılan tüm protokoller birlikte değerlendirildiğinde protokol 1 ve protokol 4'ün ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranına bağlı olarak DNA kalitesi bakımından en düşük değerleri veren yöntemler olduğu tespit edilmiştir. Tung Nguyen ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada, ham ve işlenmiş insan yiyeceği ve hayvan yemlerinde DNA izolasyonu için farklı DNA ekstraksiyon yöntemleri denenerek hem verim hem de kalite açısından iyi bir DNA veren tek yöntemin CTAB yöntemi (Jankiewicz ve ark., 1999) olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada ise soya unu ve soya küspesinde aynı başarıyı gösteremeyen protokol 4, GDO'lu mısırdaki 1,81'lik oran ile iyi kalitede DNA verimi sağlamıştır.

Gıda ürünlerinin izolasyonunda Lysis buffer içinde % 1 BME eklenmiş modifiye CTAB metodu (Protokol 5) kullanılarak izole edilen DNA'lara ait  $A_{260}/A_{280}$  oranları baz alınarak ürünler karşılaştırıldığında, DNA kalitesinin göstergesi olan bu oranın protokol 5 için ortalama 1,53 olmak üzere 1,09 ila 1,95 arasında değişkenlik gösterdiği ve bu protokolün mısır patlağı (1,71) ve mısır unu (1,84) için tercih edilebilecek başarılı bir yöntem olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.4). Bu yöntem ile en yüksek  $A_{260}/A_{280}$  oranı GDO'lu mısırdaki (1,95), en düşük  $A_{260}/A_{280}$  oranları ise soya küspesi (1,09) ve soya ununda (1,13) gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Protokol 4'ün modifiye şekli olan bu yöntem ile en yüksek  $A_{260}/A_{280}$  oranı protokol 4 ile aynı gıda ürünlerinde saptanmıştır.

Farklı bir CTAB yöntemi (Rogers ve Bendich, 1985) olan protokol 6 uygulanarak gıda ürünlerinden ortalama 1,47 oranında olmak üzere 1,07 ile 1,97 arasında değişen kalitede DNA elde edilmiştir. Bu protokol için en yüksek  $A_{260}/A_{280}$  oranı 1,97 ile yarı işlenmiş bir ürün olan soya küspesinde ve 1,93 ile soya ununda gözlenirken, en ideal  $A_{260}/A_{280}$  oranı ise 1,70 ile mısır patlağından elde edilmiştir. Protokol 6 için hesaplanan ortalama 1,47'lik  $A_{260}/A_{280}$  oranının oldukça altında değer veren mısır nişastası (1,07) için bu yöntem saf bir DNA elde etmede başarısız bulunmuştur.

GENESpin, Eurofins GeneScan DNA ekstraksiyon kiti (protokol 7) ile 14 adet gıda ürününde izole edilen DNA'nın kalitesinin göstergesi olan  $A_{260}/A_{280}$  oranı (ortalama 1,67) 1,18 - 2,04 aralığında bulunmuştur. Bu yöntemin uygulanmasıyla en yüksek oran 2,04 ile soya unu ve soya küspesinde, 1,96 ile cin mısırdaki ve 1,85 ile mısır ununda görülmüştür. Protokol 7 kullanılarak mısır patlağı (1,72), GDO'lu mısır (1,73) ve krakerden (1,79) istenen kalite ve saflıkta DNA elde edilebildiği tespit edilmiştir. Bu protokolün, işlenmiş bir ürün olan mısır gevreğinden ( $A_{260}/A_{280}$  oranı 1,18) ve yarı işlenmiş bir ürün olan mısır nişastasından ( $A_{260}/A_{280}$  oranı 1,19) kaliteli bir DNA izole etmek için yeterli ve uygun bir yöntem olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.4). Bununla birlikte çalışmada kullanılan tüm protokoller birlikte değerlendirildiğinde DNA miktarı bakımından en başarısız verim sağlayan protokollerden ikisini oluşturan protokol 7 ve 8'in, ortalama DNA saflığı ( $A_{260}/A_{280}$  oranı) bakımından en yüksek ve istenen değerleri (sırasıyla ortalama 1,67 ve 1,64) içeren yöntemler olduğu belirlenmiştir.

DNeasy® mericon™ Food Handbook Standart kiti (protokol 8) uygulanarak elde edilen DNA kalitesinin belirlendiği  $A_{260}/A_{280}$  oranının tüm gıda ürünleri için ortalama 1,64 olduğu hesaplanmıştır. Bu yöntem ile gıda ürünlerinden 1,42 - 1,85 arasındaki oranda DNA elde edildiği gözlenmiştir. Bu protokol uygulanarak elde edilen en yüksek oranlar cin mısır (1,85) ve soya küspesinde (1,81) saptanmıştır. Protokol 8 ile sırasıyla mısır unu (1,72), bisküvi (1,73), GDO'lu mısır (1,77) ve krakerden (1,78) ideal ve istenen saflıkta DNA elde edilmiş ve bu ürünlerden kaliteli DNA izolasyonu için DNeasy® mericon™ Food Handbook Standart kitinin kullanılabilir olduğu saptanmıştır. İşlenmiş bir gıda olan kekten elde edilen DNA kalitesi 1,42'lik değer ile başarısız bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Isıl işleme maruz bırakılmış bir gıda ürünü olan

bisküviden protokol 7 ve 8 ile diğer protokollere nazaran daha kaliteli bir DNA elde edilerek bu yöntemlerin bu ürün için başarılı olduğu saptanmıştır.

Çalışmada materyal olarak kullanılan 14 farklı gıda ürününe sekiz farklı protokol uygulanarak izole edilen DNA'nın kalitesinin göstergesi olan  $A_{260}/A_{280}$  oranı ortalamaları protokol bazında değerlendirildiğinde; en yüksek DNA saflığı protokol 7 (1,67) ve protokol 8'den (1,64) elde edilmiştir. Bunu ortalama 1,47-1,53 arasında değişen  $A_{260}/A_{280}$  oranlarla sırasıyla protokol 5, protokol 3 protokol 6 ve protokol 2 izlemiştir. Tüm gıda ürünleri dikkate alınarak yapılan istatistikî analiz sonucunda ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranı (DNA kalitesi) açısından en düşük değeri veren metotların ise protokol 1 (1,41) ve protokol 4 (1,40) olduğu belirlenmiştir.

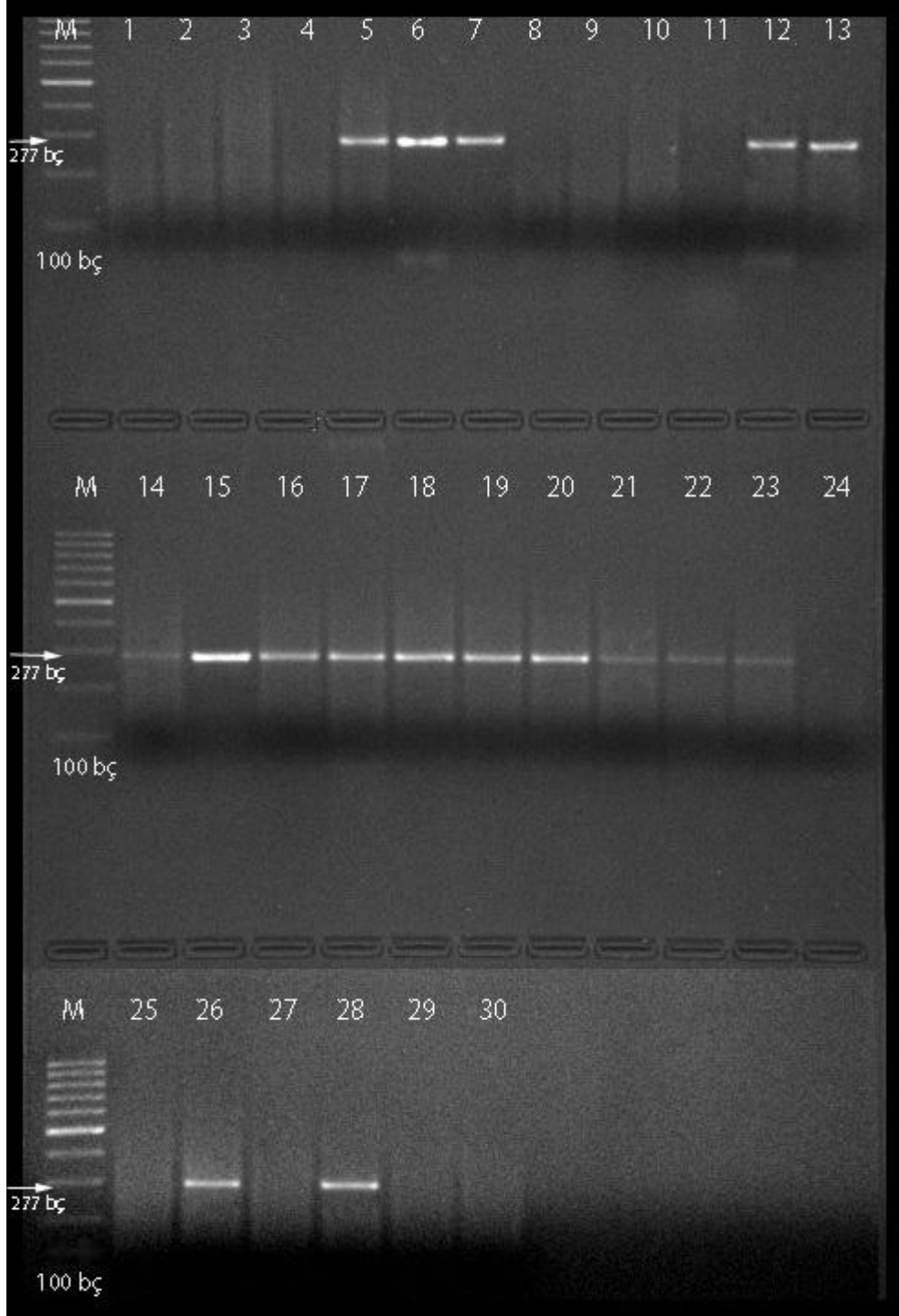
#### **4.2. DNA İzolasyonu Yapılan Örneklerde Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Belirlenmesi**

İşlenmiş ve işlenmemiş ürünlerde DNA izolasyon işleminin ardından PZR amplifikasyonu yapılmıştır. PZR ürünlerinin agaroz jele yüklenme sırası şöyledir; ilk kuyucukta Ladder olmak üzere 1-4: bisküvi, 5: mısır çipsi, 6-7: mısır gevreği, 8-11: kraker, 12-15: mısır çipsi, 16-17: mısır nişastası, 18-19: mısır unu, 20: cin mısır, 21: tatlı mısır, 22-23: bebek maması, 24-25: kek, 26: mısır patlağı, 27: soya unu, 28: GD mısır (pozitif kontrol), 29: GD soya küspesi (pozitif kontrol), 30: buğday DNA'sı (negatif kontrol). Ayrıca, bütün jellere aynı ürün sıralamasıyla yükleme yapılmıştır.

##### **4.2.1. Lektin ve Zein Geni Amplifikasyonu ile GDO Taraması**

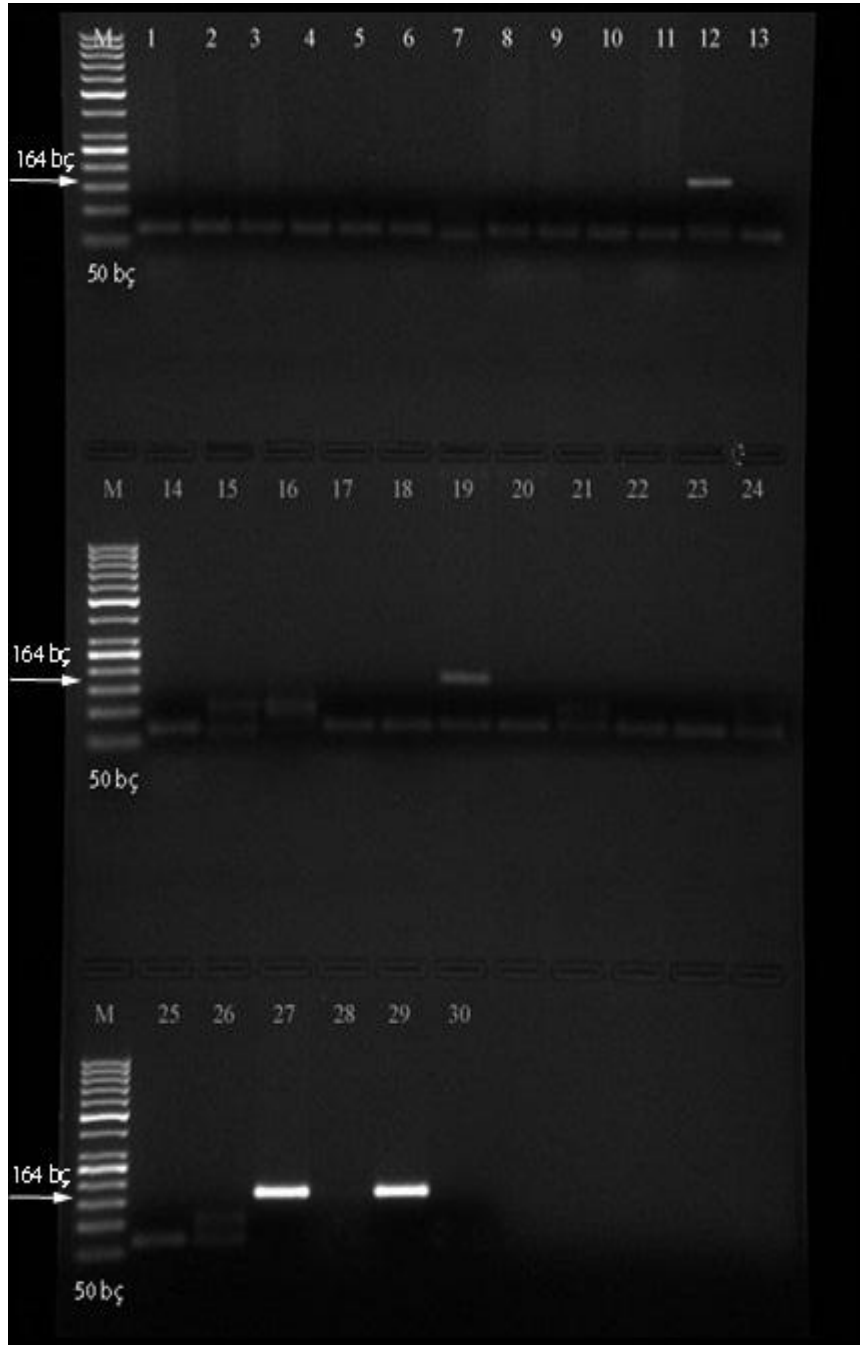
İşlenmiş ve işlenmemiş gıda ürünlerinde yapılan DNA izolasyonunun ardından bu örneklerde haşuği türe ait genin bulunduğunu belirlemek için soya - mısır DNA taraması yapılmıştır. Zein geninin belirlenmesi için ZEIN03/ZEIN04 primer çiftiyle amplifikasyon yapılmış ve sonrasında koşulan jelde (Şekil 4.2) bu gen için beklenen bant 18 örnekte belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Böylece yapısında zein geni bulunduran bu örneklerin mısır içerdiği belirlenmiştir.





Şekil 4.2. Gıda örneklerindeki 277 bç'lik zein geni amplifikasyonunun jel görüntüsü

Analizi yapılan gıda ürünlerinde soya geninin belirlenmesi için LEC1/ LEC2 primer çifti kullanılmıştır. Amplifikasyon sonrasında elde edilen jel görüntüsünde (Şekil 4.3) dört örnekte lektin geni için beklenen bant büyüklüğü (164 bç) elde edilmiş olup lektin geni tespit edilen gıda ürünlerinin içeriğinde soya bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Ayrıca, bazı ürünlerde eser miktarda soya bulunduğundan jelde istenilen netlikte bant elde edilememiştir.



Şekil 4.3. Gıda örneklerindeki 164 bç'lik lektin geni amplifikasyonunun jel görüntüsü

**Çizelge 4.5.** Soya ve mısır bakımından kalitatif PZR sonuçları

	<b>Gıda ürünü</b>	<b>Zein</b>	<b>Lec</b>
Örnek 1	Bisküvi (marka 1)	-	-
Örnek 2	Bisküvi (marka 2)	-	-
Örnek 3	Bisküvi (marka 3)	-	-
Örnek 4	Bisküvi (marka 4)	-	-
Örnek 5	Mısır Cipsi (marka 1)	+	-
Örnek 6	Mısır Gevreği (marka 1)	+	-
Örnek 7	Mısır Gevreği (marka 2)	+	-
Örnek 8	Kraker (marka 1)	-	-
Örnek 9	Kraker (marka 2)	-	-
Örnek 10	Kraker (marka 3)	-	-
Örnek 11	Kraker (marka 4)	-	-
Örnek 12	Mısır Cipsi (marka 2)	+	+
Örnek 13	Mısır Cipsi (marka 3)	+	-
Örnek 14	Mısır Cipsi (marka 4)	+	-
Örnek 15	Mısır Cipsi (marka 5)	+	-
Örnek 16	Mısır Nişastası (marka 1)	+	-
Örnek 17	Mısır Nişastası (marka 2)	+	-
Örnek 18	Mısır Unu (marka 1)	+	-
Örnek 19	Mısır Unu (marka 2)	+	+
Örnek 20	Cin Mısır	+	-
Örnek 21	Tatlı Mısır	+	-
Örnek 22	Bebek Maması (marka 1)	+	-
Örnek 23	Bebek Maması (marka 2)	+	-
Örnek 24	Kek (marka 1)	-	-
Örnek 25	Kek (marka 2)	-	-
Örnek 26	Mısır Patlağı	+	-
Örnek 27	Soya Unu	-	+
Pozitif kontrol (28)	GD Mısır	+	-
Pozitif kontrol (29)	GD Soya Küspesi	-	+
Negatif kontrol (30)	Buğday Tohumu	-	-

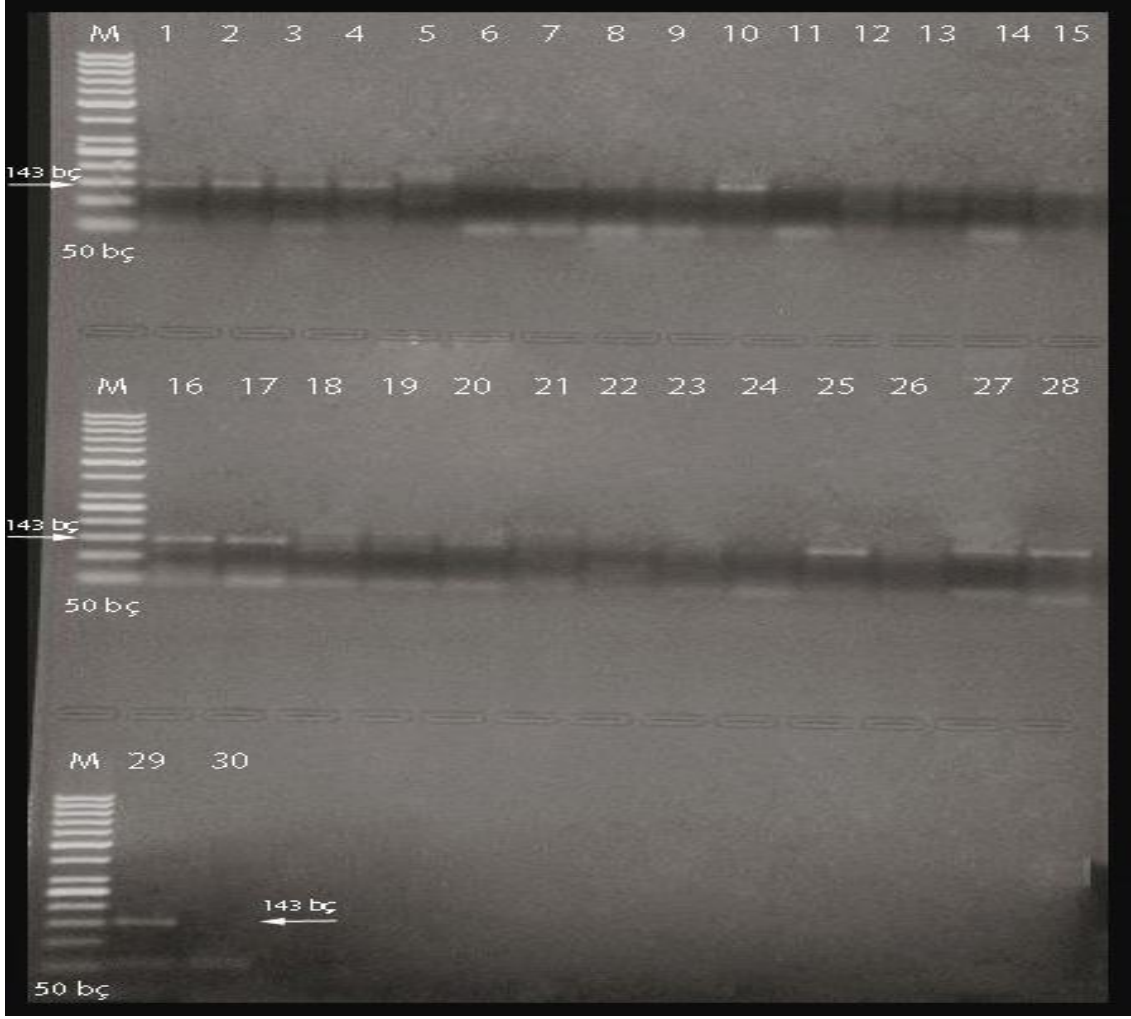
(+: var, -: yok)

Tung Nguyen ve ark. (2009) yaptığı çalışmada, ham soya fasülyesi, ham mısır, hayvan yemi, soya sütü ve soya peyniri örneklerinden beş protokolle izole edilen DNA'larda lektin - zein geni bakımından taramalar yapılmıştır. Soya fasülyesinden elde edilen ürünler için LEC1/LEC2, mısır kökenli ürünler için ise ZE03/ZE04 primer çiftini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda bu ürünlerin PCR amplifikasyonu için kullanılan primerlerin doğru sonuç verdiği bildirilmiştir.

#### **4.2.2. Örneklerin 35S Promotör ve Nos ve tNosTerminatör ile Taranması**

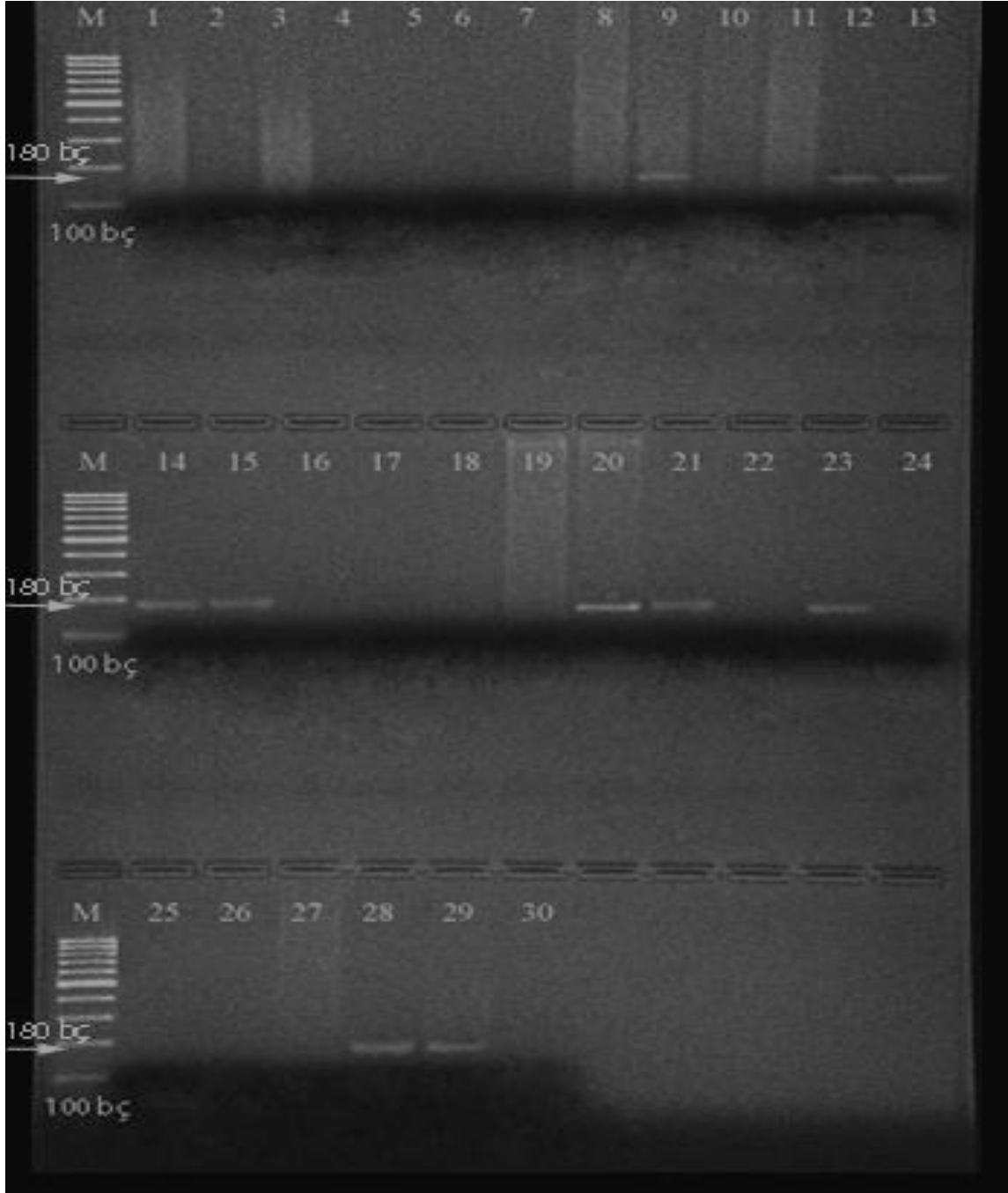
Farklı işlenmişlik seviyelerindeki 12 farklı gıda ürününde DNA ekstraksiyon işlemlerinin ardından GDO varlığının belirlenmesi için 35S promotör, Nos ve tNos terminatör taraması yapılmıştır.

İlk olarak, Cauliflower Mosaic Virüsü'nden elde edilen 35S promotörünün varlığı 35sPF ve 35sPR primerleri (Wang ve Fang, 2005) kullanılarak saptanmıştır. PZR taraması sonucunda amplifikasyonu yapılan 1 - 5, 7 - 29 numaralı örnekler 143 bp'lik beklenen bant büyüklüğünü göstererek pozitif sonuç vermiştir. Dolayısıyla ülkemizde satışı sunulmuş soya ve mısır içeren bu gıda ürünlerinin 35S promotörünün varlığı açısından genetiği değiştirilmiş ürün içerdikleri belirlenmiştir. Amplifikasyon ürünlerinin yürütüldüğü agaroz jelin görüntüsü Şekil 4.4'te verilmiştir.



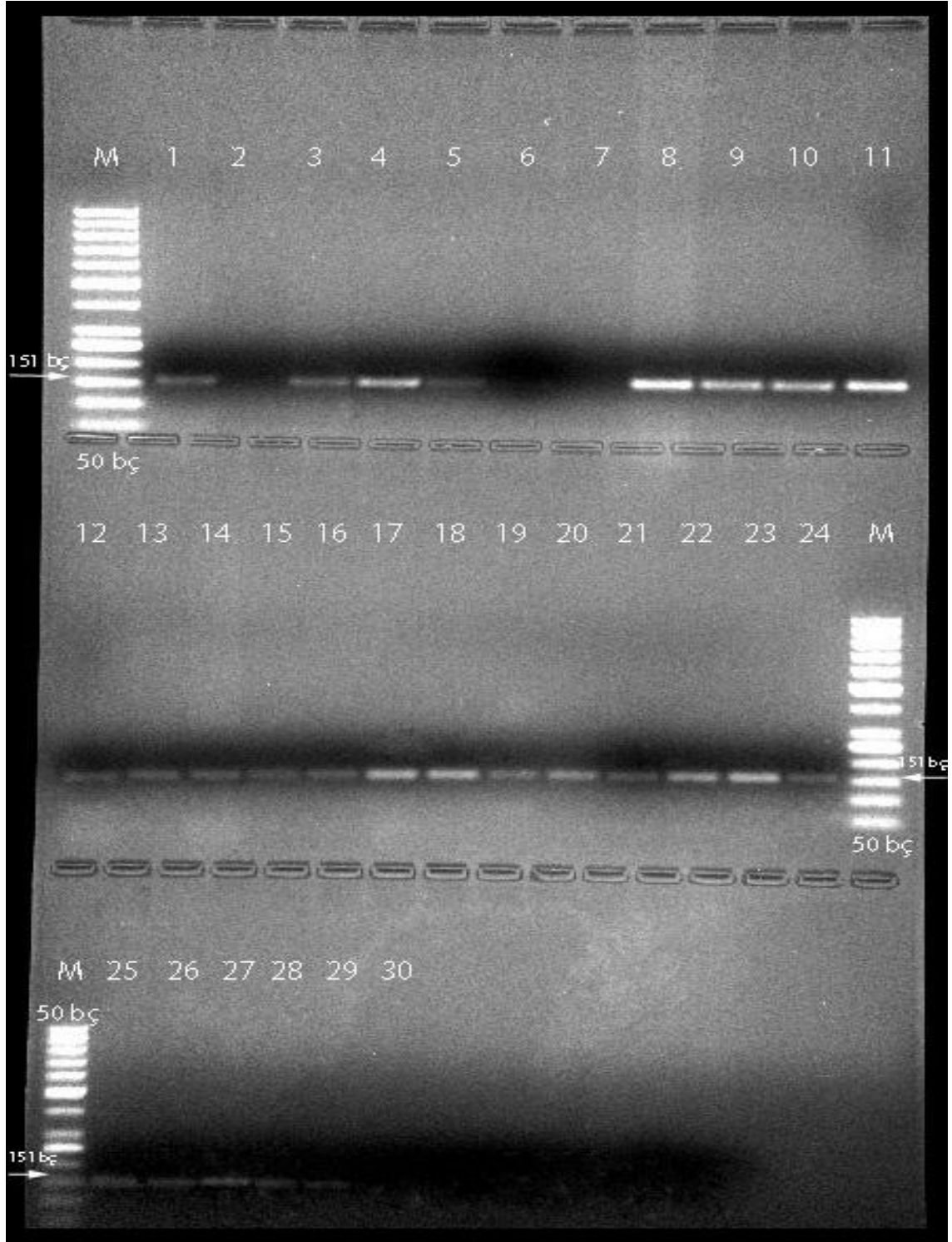
**Şekil 4.4.** 35S promotör ile yapılmış olan 143 baz çiftlik PZR taramasının jel görüntüsü

Gıda ürünlerinde Nos terminatör için NOS1-NOS3 primer çifti kullanılarak PZR taraması yapılmıştır. (Şekil 4.5). Amplifikasyonu sonucunda beklenen 180 bç'lik bant büyüklüğü 9, 12, 13, 14, 15, 20, 21, 23 ve 28 ile 29 numaralı örneklerde görülmüştür (Çizelge 4.6). Bu örneklerde Nos terminatörün varlığı tespit edildiğinden dolayı bu gıda ürünlerinin GDO'lu ürün içerdiği sonucuna varılmıştır.



**Şekil 4.5.** Nos terminatör ile yapılmış olan 180 baz çiftlik PZR taramasının jel görüntüsü

Gıda ürünlerinde tNos terminatörünün varlığını tespit etmek için tNos2-5/ tNos2-3 primer çifti kullanılarak yapılan PZR amplifikasyonu sonucunda beklenen 151 bp'lik bant büyüklüğü 2, 6, 7 ve 30 numaralı örnekler dışındaki tüm gıda ürünlerinde (1, 3, 4, 5, 8 - 29) gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Böylece incelenen gıda ürünlerinin çoğunun genetiği değiştirilmiş ürünler içerdiği saptanmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. tNos terminatör ile yapılmış olan 151 baz çiftlik PZR taramasının jel görüntüsü

**Çizelge 4.6.** Kalitatif PZR sonuçları

	<b>Örnek Türü</b>	<b>Nos</b>	<b>tNos</b>	<b>35S</b>
Örnek 1	Bisküvi (marka 1)	-	+	+
Örnek 2	Bisküvi (marka 2)	-	-	+
Örnek 3	Bisküvi (marka 3)	-	+	+
Örnek 4	Bisküvi (marka 4)	-	+	+
Örnek 5	Mısır Cipsi (marka 1)	-	+	+
Örnek 6	Mısır Gevreği (marka 1)	-	-	-
Örnek 7	Mısır Gevreği (marka 2)	-	-	+
Örnek 8	Kraker (marka 1)	-	+	+
Örnek 9	Kraker (marka 2)	+	+	+
Örnek 10	Kraker (marka 3)	-	+	+
Örnek 11	Kraker (marka 4)	-	+	+
Örnek 12	Mısır Cipsi (marka 2)	+	+	+
Örnek 13	Mısır Cipsi (marka 3)	+	+	+
Örnek 14	Mısır Cipsi (marka 4)	+	+	+
Örnek 15	Mısır Cipsi (marka 5)	+	+	+
Örnek 16	Mısır Nişastası (marka 1)	-	+	+
Örnek 17	Mısır Nişastası (marka 2)	-	+	+
Örnek 18	Mısır Unu (marka 1)	-	+	+
Örnek 19	Mısır Unu (marka 2)	-	+	+
Örnek 20	Cin Mısır	+	+	+
Örnek 21	Tatlı Mısır	+	+	+
Örnek 22	Bebek Maması (marka 1)	-	+	+
Örnek 23	Bebek Maması (marka 2)	+	+	+
Örnek 24	Kek (marka 1)	-	+	+
Örnek 25	Kek (marka 2)	-	+	+
Örnek 26	Mısır Patlağı	-	+	+
Örnek 27	Soya Unu	-	+	+
Pozitif kontrol (28)	GD Mısır	+	+	+
Pozitif kontrol (29)	GD Soya Küspesi	+	+	+
Negatif kontrol (30)	Buğday Tohumu	-	-	-

(+ : var, - : yok)



Oraby ve ark. (2005) yaptığı çalışmada hazır gıdalarda 35S promotör ve Nos terminatörün varlığını belirlemek amacıyla analiz ettikleri 24 adet gıda örneğinden üç tanesinin 35S promotör taramasında pozitif sonuç verdiğini, Nos terminatör taramasında ise tüm ürünlerin negatif sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Farklı işlenmiş gıda ürünlerinde genetiği değiştirilmiş organizmaları belirlemek için uygulanabilir PZR metodunu bulmak amacıyla yapılan bir çalışmada (Lipp ve ark., 2001), CTAB metodu ve Wizard food kiti ile DNA izolasyonları yapılan gıda materyallerinde 35S promotörün ve Nos terminatörün belirlenmesi için yapılan PZR taramalarında pozitif sonuç verecek çeşitli primer çiftleri denenmiştir. 35S promotörü için tüm materyallerde 35S1/35S2 primer çifti en zayıf sonucu verirken 35S-cf3/35S-cr4 primer çifti en iyi sonucu vermiştir. Tüm materyallerde Nos terminatörü için denenmiş olan tüm primer çiftlerinin arasından HA-nos-118f/HA-nos-118r primer çifti uygun bulunmuştur.

Türkiye pazarında mısır kaynaklı ürünlerde CaMV 35S promotör, nos terminatör ve Bt11 varlığını tespit etmek için bazı yöntemler geliştirilmiştir (Gürakan ve ark., 2011). Sonuçlar baz alındığında ilk kez Türk gıda ve yem ürünlerinde GD mısır varlığı tespit edilmiştir.

Yapılan bir araştırmada (Lipp ve ark., 1999), PZR metoduna dayalı DNA amplifikasyonu gerçekleştirilip, çoğaltılacak fragmentler 35S promotörden ve nos terminatöründen sağlanmıştır. Yirmi sekiz gıda örneğinin 26'sında GDO belirlenmiş olup bu metodun yiyeceklerde GDO taramasında kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Elsanhoty ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, ham ve işlenmiş mısır ürünlerinden olan mısır çekirdekleri (muamelesiz), mısır unu (mekanik arıtma), konserve mısır (tatlı mısır), dondurulmuş mısır, mısır nişastası, ekstrüde mısır, patlamış mısır, mısır gevreği, mısır çerezi ve mısır unundan yapılan ekmekten DNA ekstrakte etmişler ve kalitatif tespit için GMO Screen 35S/Nos test kitini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda 17 örnekte 35S promotör varlığı tespit edilirken, genetiği değiştirilmiş Bt-176 mısır hattının da örneklerin % 34'ünde pozitif olduğu açıklanmıştır.

Genetiği değiştirilmiş organizmaların belirlenmesi amacıyla Vollenhofer ve ark. (1999) tarafından PZR metotları geliştirilmiştir. Gıdalardaki böceğe dayanıklı mısırın ve glifosfat toleranslı soyanın spesifik olarak belirlenmesinde bu metodlardan yararlanılmıştır. Tarama esnasında kullanılan primerlerin geliştirilmesi 35S promotörün (Cauliflower mosaic virüsünden izole edilen), nos terminatörün (*Agrobacterium tumefaciens*'ten izole edilen) ve antibiyotik belirleyici geni olan NPTII (neomycin phospho transferase II)'nin çoğaltılmasıyla sağlanmıştır. Elde edilen metodun, tohumda ve işlenmiş ürünlerdeki GDO'ları belirlemede yüksek derecede duyarlılık gösterdiği bildirilmiştir.

Bir diğer çalışmada araştırmacılar, genetiği değiştirilmiş soyaları çoklu PZR (multiple PZR) yaparak kalitatif olarak belirlemeyi amaçlamışlardır (Wang ve Fang, 2005). Çalışmada 35sP (Cauliflower mosaic virus, 35S promotör), nosT (*Agrobacterium tumefaciens*, nopaline synthase terminatör), 35sP/CTP (*Petunia hybrida*, EPSPS chloroplast transit peptide) ve Lec (lektin) primerleri kullanılmıştır. Marketlerden temin edilen 21 soya örneğinden 14'ünün transgenik olduğu belirlenmiştir.

Mısır ve soyada genetik modifikasyonun taranması için multiple PZR yöntemi geliştirilmiştir (Forte ve ark., 2005). Bitkiye özgü primerler ile 35S promotör ve nos terminatör bölgelerini çoğaltan primerler birlikte kullanılmıştır. Çoklu PZR analizinin; genetiği değiştirilmiş mısır ve soya ürünlerini hızlı, ucuz, tekrarlanabilir şekilde ve daha kısa sürede analiz ettiği belirtilmiştir.

Turhan (2008) yaptığı çalışmada; soya ve mısır tohumları ile soya veya mısır içeren un, bisküvi, çikolata, cips, mısır gevreği, nişasta ve bebek sütü gibi ürünler de GDO analizi yapmıştır. Tarama işlemi için 35sPF, 35sPR ve Nos1, Nos3 primerlerinin kullanıldığı araştırmada, analiz edilen tüm ithal soya ve mısır tohumlarının genetiği değiştirilmiş olduğu belirlenmiştir. Lektin ve zein geni içeren gıda materyallerinde yapılan tarama sonucunda 35S promotör ve nos terminatör için beklenen bant büyüklüğu elde edilememiştir. Bundan dolayı gıda materyallerinde GDO belirlenmemiş, analizlere devam edilmemiştir.

Öztürk (2011) yaptığı çalışmada, mısır ve mısırdan üretilmiş gıdaların kalitatif ve kantitatif transgen içeriklerinin belirlenmesi amacıyla çeşitli taramalar yapmıştır. Yapılan bu araştırmada çeşitli mısır ürünlerinde, yabancı genlerin varlığı ve miktarı, pek çok transgenik mısırdaki bulunan düzenleyici diziler olan 35S promotör ve nos terminatör dizilerinin kalitatif ve kantitatif PZR analizleriyle araştırılmıştır. 35S dizisinin varlığının belirlenmesi amacıyla iki farklı primer çifti kullanılmış ancak gerçekleştirilen kalitatif PZR sonucunda hiçbir örnekte 35S bölgesi tespit edilememiştir. Nos dizisinin varlığını tespit etmek için yapılan kalitatif PZR'ler sonucunda ise 13 örnekten sekizinde nos terminatör dizisinin varlığı tespit edilmiş ve bu sekiz üründen üç tanesinin bebek maması örnekleri olduğu saptanmıştır. Bu analizlerin sonucunda da bizim sonuçlarımızla benzer şekilde ülkemizde satışa sunulmuş bebek maması dahil pek çok gıda örneğinin GDO kökenli ürünleri içerdiği ifade edilmiştir.

## 5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında farklı işlenmişlik seviyelerindeki gıdalara özgü farklı DNA ekstraksiyon protokolleri, modifiye şekilleri ve ekstraksiyon kitleri denenerek, incelenen her bir işlenmiş ürün için en uygun izolasyon metodunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Altı farklı izolasyon yöntemi ve iki adet DNA kiti kullanılarak gerçekleştirilen DNA izolasyonları sonucunda, elde edilen DNA'ların kalite ve miktarı gıda türüne ve işlenmişlik düzeyine bağlı olarak değişiklik göstermiştir.

Çalışmada materyal olarak kullanılan değişik işlenmişlik seviyesindeki 12 farklı gıda ürününden farklı DNA ekstraksiyonu protokolü kullanılarak elde edilen DNA miktarları gıda ürünü bazında değerlendirildiğinde; ortalama olarak en yüksek DNA miktarı sırasıyla ham ve yarı işlenmiş gıda ürünlerinden olan soya unu (2,19 µg/µl), soya küspesi (2,11 µg/µl), cin mısır (1,53 µg/µl) ve GDO'lu mısırdan (0,56 µg/µl) elde edilmiştir. Bu ürünleri sırasıyla kraker, mısır patlağı, bisküvi, mısır gevreği, kek, mısır cipsi ve mısır unu izlemiştir. Tüm protokoller dikkate alınarak yapılan istatistikî analiz sonucunda ortalama DNA verimi bakımından en düşük değeri veren ürünlerin ise mısır nişastası (0,08 µg/µl DNA), tatlı mısır (0,17 µg/µl DNA) ve bebek maması (0,20 µg/µl DNA) olduğu belirlenmiştir.

Sekiz farklı protokol uygulanarak 12 farklı gıda ürününden elde edilen DNA miktarları protokol bazında değerlendirildiğinde; ortalama olarak en yüksek DNA miktarı protokol 2 (1,19 µg/µl), protokol 1 (1,01 µg/µl) ve protokol 3 (0,97 µg/µl) 'den elde edilmiştir. Bu metotları ortalama 0,93, 0,62 ve 0,49 µg/µl'lik DNA miktarları ile sırasıyla protokol 5, protokol 4 ve protokol 7 takip etmiştir. Tüm gıda ürünleri dikkate alınarak yapılan istatistikî analiz sonucunda ortalama DNA verimi bakımından en düşük değeri veren metotların ise protokol 6 (0,11 µg/µl) ve protokol 8 (0,09 µg/µl) olduğu belirlenmiştir. Yeterli derecede DNA elde edilememesinin nedeninin gıdaların pişirilme sırasında yüksek sıcaklığa maruz kalmalarından dolayı DNA'larının yapılarının bozulması olduğu düşünülmektedir.

Farklı DNA izolasyon protokolleri ile farklı işlenmişlik seviyesindeki 27 adet gıda ürününden izole edilen DNA'larda gözlenen  $A_{260}/A_{280}$  oranları baz alınarak; ortalama olarak en ideal oranların işlenmiş ve yarı işlenmiş gıda ürünlerinden olan GDO'lu mısır (1,78), mısır unu (1,74), cin mısır (1,68), kraker (1,63) ve mısır patlağından (1,63) elde edildiği ifade edilebilir. Bu ürünleri ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranı bakımından sırasıyla mısır cipsi, bisküvi, soya küspesi, tatlı mısır, soya unu ve bebek maması izlemiştir. Tüm protokoller baz alınarak yapılan istatistikî analiz sonucunda ortalama DNA saflığı bakımından en düşük  $A_{260}/A_{280}$  oranını veren ürünlerin ise mısır nişastası (1,25), mısır gevreği (1,26) ve kek (1,38) olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada materyal olarak kullanılan 12 farklı gıda ürününe sekiz farklı protokol uygulanarak izole edilen DNA'nın kalitesinin göstergesi olan  $A_{260}/A_{280}$  oranı ortalamaları protokol bazında değerlendirildiğinde; en yüksek DNA saflığı protokol 7 (1,67) ve protokol 8'den (1,64) elde edilmiştir. Bunu ortalama 1,47-1,53 arasında değişen  $A_{260}/A_{280}$  oranlarıyla sırasıyla protokol 5, protokol 3, protokol 6 ve protokol 2 izlemiştir. Tüm gıda ürünleri dikkate alınarak yapılan istatistikî analiz sonucunda ortalama  $A_{260}/A_{280}$  oranı (DNA kalitesi) açısından en düşük değeri veren metotların ise protokol 1 (1,41) ve protokol 4 (1,40) olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada, Türkiye'de piyasaya sunulan mısır ve/veya soya kökenli gıdaların GDO taramaları da yapılmış ve GDO'lu ürün içerip içermedikleri belirlenmiştir. İncelenen mısır ve soya kökenli ürünlerde, yabancı genlerin varlığı, Avrupa Birliği tarafından onaylanmış pek çok transgenik mısır ve soyada bulunan düzenleyici diziler olan 35S promotor, nos ve tNos terminatör dizilerinin varlığının kalitatif PZR analizleriyle taranmasıyla araştırılmıştır. Gıda ürünlerinde öncelikle lektin – zein geni taraması yapılmıştır. PZR analizlerinin sonucunda dört gıda örneğinin lektin genine ait bant büyüklüğünü verdiği gözlenmiş, dolayısıyla bu örneklerin soya içerdiği belirlenmiştir. On sekiz gıda örneğinde ise zein genine ait bant büyüklüğü görülmüş olup bu gıda ürünlerinin de mısır içerdiği belirlenmiştir. Lektin ve/veya zein geni içeren gıda ürünlerinde 35S promotor ve Nos, tNos terminatörün belirlenmesi için PZR taraması yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan iki örnekte (28-29) 35S promotor, nos ve tNos terminatör dizilerinin varlığı açısından yapılan taramalardan istenilen büyüklükte bant elde edilmiş, negatif kontrol olarak kullanılan örnekte (30) ise üç

bölgenin de varlığına rastlanmamıştır. 35S dizisinin varlığının belirlenmesine yönelik gerçekleştirilen kalitatif PZR sonucunda 1 - 5, 7 - 29 numaralı örneklerin 143 bç'lik beklenen bant büyüklüğünü göstererek 35S varlığı açısından pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir.

Nos dizisinin varlığını belirlemeye yönelik yapılmış olan kalitatif PZR'ler sonucunda ise 10 örnekte (9, 12, 13, 14, 15, 20, 21, 23 ve 28 ile 29 numaralı örnekler) 180 bç'lik bant büyüklüğü ile nos terminatör dizisinin varlığı tespit edilmiştir. tNos terminatörün belirlenmesi amacıyla yapılan taramalar sonucunda 2, 6, 7 ve 30 numaralı örnekler dışındaki tüm gıda ürünlerinde 151 bç'lik beklenen bant büyüklüğü gözlenmiştir. Bu gıdalar başta bebek maması olmak üzere ülkemizde GDO kullanımının yasak olduğu gıda ürünleri kapsamındadır. Yapılan analizlerle incelenen gıda materyallerinin çoğunun genetiği değiştirilmiş ürün içerdiği belirlenmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda ülkemizde satışa sunulmuş pek çok gıda ürününün GD ürünleri veya hammaddeleri içerdiği saptanmış ve bu nedenle GDO'ların tespiti ve etiketlenmesiyle ilgili daha hassas denetimlere ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

- Anklam, E., Gadani, F., Heinze, P., Pijnenburg, H. ve Eede, G.V.D., 2002. Analytical Methods for Detection and Determination of Genetically Modified Organisms in Agricultural Crops and Plant-Derived Food Products. *Eur Food Res Technol*, 214 (1), 3-26.
- Anonim, 2005a. TMMOB Yayın Organı, *Ölçü Dergisi*, s. 112-119.
- Anonim, 2005b. Terminator Technology for Transgenic Crops, Virginia Cooperative Extension. <http://filebox.vt.edu/cals/csesc/chagedor/terminator.html> (Erişim Tarihi: 15.02.2013).
- Anonim, 2008. State of The Science on The Health Risks of GM Foods. Institute for Responsible Technology Institute for Responsible Technology P.O. Box 469 Fairfield, IA 52556 USA. [info@responsibletechnology.org](mailto:info@responsibletechnology.org) [www.responsibletechnology.org](http://www.responsibletechnology.org) (Erişim Tarihi: 15.04.2013).
- Anonim, 2009. World Health Organization. Foods Derived from Modern Technology: 20 Questions on Genetically Modified Foods. <http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech> (Erişim Tarihi: 15.12.2012).
- Anonim, 2011. CERA (The Center for Environmental Risk Assessment). <http://ceragmc.org> (Erişim Tarihi: 12.10.2013).
- Anonim, 2012a. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar. [http://www.docstoc.com/docs/121716985/Genetigi-Değiştirilmiş Organizmalar - Powerpoint](http://www.docstoc.com/docs/121716985/Genetigi-Değiştirilmiş_Organizmalar_-_Powerpoint) (Erişim Tarihi: 16.04.2013).
- Anonim, 2012b. GDO'nun Kanıtlanmış 12 Ayrı Zararı. [sonnurozcan.blogspot.com/2012\\_01\\_01\\_archive.html](http://sonnurozcan.blogspot.com/2012_01_01_archive.html) (Erişim Tarihi: 15.04.2013).
- Anonim, 2013a. Transgenik Ürünlerin Global Durumunun Özeti. ISAAA. <http://www.isaaa.org> (Erişim Tarihi: 13.04.2013).
- Anonim, 2013b. Türkiye'de Genetiği Değiştirilmiş Gıda ve Yem Konusunda Mevzuat Uygulamaları ve Denetimler <http://dergi.nku.edu.tr/index.php/JOTAF/article/download/210/85> (Erişim Tarihi: 07.01.2013).
- Arda, M., 1995. Biyoteknoloji (Bazı Temel İlkeler), *KÜKEM Derneği Bilimsel Yayınları*, No: 3, Ankara.
- Artemis, D. ve Arvanitoyannis, I., 2009. Health Risks of Genetically Modified Foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49, 164-175.

- Avrupa Komisyonu, 1997. EC 258/97 the Novel Foods Regulation. [http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/gmfood/qanda\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/gmfood/qanda_en.pdf) (Erişim Tarihi: 03.03.2013).
- Berdal, K.G. ve Host-Jensen, A., 2001. Roundup Ready Soybean Event-Specific Real-Time Quantitative PCR Assay and Estimation of the Practical Detection and Quantification Limits in GMO Analyses. *Eur Food Res Technol*, 213, 432-438.
- Brady, C.J., Mcglasson, W.B., Pearson, J.A., Meldrum, S.K. ve Kopeliovitch, E., 1985. Interactions between the Amount and Molecular Forms of Polygalacturonase, Calcium and Firmness in Tomato Fruit. *J Am Soc Hortic Sci*, 110 (2), 254-258.
- Brod, F.C.A., Ferrari, C.S., Valente, L.L. ve Arisi, A.C.M., 2007. Nested PCR Detection of Genetically Modified Soybean in Soybean Flour, Infant Formula and Soymilk. *LWT.*, 40, 748-751.
- Brookes, G. ve Barfoot, P., 2009. GM Crops: Global Socio-Economic and Environmental Impacts 1996-2007, P.G. Economics Ltd, Dorchester, Uk, p.1-109.
- Chen, D.H. ve Ronald, P.C., 1999. A Rapid DNA Minipreparation Method Suitable for AFLP and Other PCR Applications. *Plant Molecular Biology Reporter*, 17, 53-57.
- Çelik, V. ve Turgut B.D., 2007. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar (GDO). *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23 (1-2), 13-23.
- Çetiner, S. ve Budak, H., 2007. Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Ürünlerin Moleküler Analizi ve Tüketim Zincirindeki İzlenebilirliğine Yönelik Tekniklerin Geliştirilmesi ve Uygulanması, TÜBİTAK projesi, Proje No: 1050072.
- Demir, A., Seyis, F. ve Kurt, O., 2006. Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar: 1. Bitkiler. *J of Fac of Agric*, 21 (2), 249-260.
- Elsanhoty, R.M., Ramadan, M.F. ve Jany, K.D., 2011. DNA Extraction Methods for Detecting Genetically Modified Foods: A Comparative Study. *Food Chemistry*, 126, 1883-1889.
- Eser, V. ve Kılınçarslan, H., 2005. GDO'lar ile İlgili Sorular ve Cevaplar. Modern Biyoteknoloji Uygulamaları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, s. 1-38.



- Fagan, J.B., 2005. Genetically Engineered Food - A Serious Health Risk. <http://www.netlink.de/gen/fagan.htm> (Erişim Tarihi: 11.10.2012).
- Fernandez-Cornejo, J. ve Caswell, M., 2006. The First Decade of Genetically Engineered Crops in the United States. *Economic Research Service Economic/USDA*, EIB-11.
- Ferrari, C.D.S., Valente, L.L., Brod, F.C.A., Tagliari, C., Sant'anna, E.S. ve Arisi, A.C.M., 2007. Evaluation of Polymerase Chain Reaction and DAN Isolation Protocols for Detection of Genetically Modified Soybean. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 1249-1255.
- Forte, V.T., Di Pinto, A., Martino, C., Tantillo, G.M., Grasso, G. ve Schena, F.P., 2005. A General Multiplex - PCR Assay for The General Detection of Genetically Modified Soya and Maize. *Food Control*, 16, 535-539.
- Gözükırmızı, N., 2002. Biyogüvenlik Sistemlerinin Oluşmasında Türkiye'deki Durum. Bitki Biyogüvenlik Araştırmaları Uygulamalı Eğitim Programı III. Tübitak Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü. Gebze-Kocaeli, s. 85-89.
- Gryson, N., Messens, K. ve Dewettinck, K., 2004. Evaluation and Optimization of Five Different Extraction Methods for Soy DNA in Chocolate and Biscuits. Extraction of DNA as a First Step in GMO Analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1357-1363.
- Gryson, N., Dewettinck, K. ve Messens, K., 2007. Detection of Genetically Modified Soy in Doughs and Cooking. *Cereal Chem*, 84, 109-115.
- Günaydın, G., 2004. GDO: Ne'dir O?. *Popüler Bilim Dergisi*, 130, 32-36.
- Gürakan, G.C., Aydın, G. ve Yılmaz, R., 2011. An Event-Specific DNA Microarray to Identify Genetically Modified Organisms in Processed Foods. *Indian Journal of Biotechnology*, 10, 143-146.
- Hails, R.S., 2000. Genetically Modified Plants: The Debate Continues. *Trends in Ecology and Evolution*, 15 (1), 14-18.
- Haspolat, I., 2004. Genetik Olarak Değiştirilmiş Ürünlerin Üretimi, Ticareti ve Ticaretin Düzenlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Haver, V.E., Schijver, A.D., Devos, Y., Lievens, S., Renckens, S. ve Moens, W., 2003. Guidance Notes for the Safety Assessment of Genetically Modified Crops for Food and Feed Use. Scientific Institute of Public Health. Royal Library of Belgium Deposit No: D/2003/2505/16.

- Hemmer, W., 1997. Foods Derived From Genetically Modified Organisms and Detection Methods, Bats-Report 2/1997, Basel, Switzerland.
- Hemmer, W., 2005. Foods Derived from Genetically Modified Organisms and Detection Methods, *BATS*, <http://www.bats.c> (Erişim Tarihi: 20.01.2012).
- Herzallah, S.M., 2012. Detection of Genetically Modified Material in Feed and Foodstuffs Containing Soy and Maize in Jordan. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26 (1-2), 169-172.
- Hobson, G.E., 1965. The Ripening of Tomato Fruit as Affected by the Injection of Certain Chemicals. *J Exp Bot*, 16 (3), 411-422.
- Holden, M.J., Blasic, J.R., Bussjaeger, L., Kao, C., Shokere, L.A., Kendall, D.C., Freese, L. ve Jenkins, G.R., 2003. Evaluation of Extraction Methodologies for Corn Kernel (*Zea Mays*) DNA for Detection of Trace Amounts of Biotechnology-Derived DNA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2468-2474.
- Huffman, W.E., 2004. Production, Identity Preservation and Labeling in a Marketplace With Genetically Modified and Non-Genetically Modified Foods. *Plant Physiol*, 134 (1), 3-10.
- İpekçi, Z., 2002. Genetik Olarak Değiştirilmiş Bitkilerin Analiz Yöntemleri. Bitki Biyogüvenlik Araştırmaları Uygulamalı Eğitim Programı. III. Tübitak Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü. Gebze-Kocaeli, s. 58-62.
- Jankiewicz, A., Broll, H. ve Zagon, J., 1999. The Official Method for The Detection of Genetically Modified Soybeans (German Food Act LMBG § 35): A Semi-Quantitative Study of Sensitivity Limits With Glyphosate-Tolerant Soybeans (Roundup Ready) and Insect-Resistant Bt Maize (Maximizer). *Eur Food Res Technol*, 209, 77-82.
- Kakihara, Y., Matsufuji, H., Chino, M. ve Takeda, M., 2005. Extraction and Detection of Endogenous Soybean DNA from Fermented Foods. *Food Control*, 17 (10), 808-813.
- Kang, H.W., Cho, Y.G., Yoong, U.H. ve Eun, M.Y., 1998. A Rapid DNA Extraction Method for RFPL and PCR Analysis from Single Dry Seed. *Plant Molecular Biology Reporter*, 16, 1-9.
- Kıyak, S., 2004. Genetik Olarak Değiştirilmiş Gıdalar, Cartagena Biyogüvenlik Protokolü ve Türkiye’de Durum (1, 2, 3), *Çevreye Genç Bakış Dergisi*, 4, 14-22.
- Kim, J.H., Kim, S.Y., Lee, H., Kim, Y.R. ve Kim, H.Y., 2010. An Event-Specific DNA Microarray to Identify Genetically Modified Organisms in Processed Foods. *J. Agric Food Chemistry*, 58 (10), 6018-6026.

- Kramer, M., Sanders, R., Bolkan, H., Waters, C., Sheeny, R.E. ve Hiatt, W.R., 1992. Postharvest Evaluation of Transgenic Tomatoes with Reduced Levels of Polygalacturonase: Processing, Firmness and Disease Resistance. *Postharvest Biol Technol*, 1 (3), 241-255.
- Kramer, M.G. ve Redenbaugh, K., 1994. Commercialization of a Tomato with an Antisense Polygalacturonase Gene: The Flavr Savr Tomato Story. *Euphytica*, 79 (3), 293-297.
- Kuiper, H.A., König, A., Kleter, G.A., Hammes, W.P. ve Knudsen, I., 2004. Concluding Remarks. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1195-1202.
- Kulaç, İ., Ağirdil, Y. ve Yakın, M., 2006. Sofralarımızdaki Tatlı Dert, Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Halk Sağlığına Etkileri. *Türk Biyokimya Dergisi (Turkish Journal of Biochemistry)*, 31 (3), 151-155.
- Lipp, M., Anklam, E., Brodmann, P., Pietsch, K. ve Pauwels, J., 1999. Results of an Interlaboratory Assessment of a Screening Method of Genetically Modified Organisms in Soybeans and Maize. *Food Control*, 10, 379-383.
- Lipp, M., Bluth, A., Eyquem, F., Kruse, L., Schimmel, H. ve Eede, G.V., 2001. Validation of a Method Based on Polymerase Chain Reaction for the Detection of Genetically Modified Organisms in Various Processed Foodstuffs. *Eur Food Res Technol*, 212, 497-504.
- Lipp, M., Shilto, R., Giroux, R., Spiegelhalter, F., Charlton, S., Pinero, D. ve Song, P., 2005. Polymerase Chain Reaction Technology as Analytical Tool in Agricultural Biotechnology. *J of AOAC Inter*, 88 (1), 136-155.
- Lübeck, M., 2002. Detection of Genetically Modified Plants – Methods to Sample and Analyse GMO Content in Plants and Plant Products. Report. Danish Forest and Nature Agency. p. 32 [www.sns.dk/erhvogadm/biotek/detection.htm](http://www.sns.dk/erhvogadm/biotek/detection.htm) (Erişim Tarihi: 13.02.2013).
- Margarit, E., Reggiardo, M.I., Vallejos, R.H. ve Permingeat, H.R., 2006. Detection of BT Transgenic Maize in Foodstuffs. *Food Research International*, 39, 250-255.
- Martineau, B., 1996. From Lab Bench to Marketplace: The Calgene Flavr Savr Tomato. *Technology Transfer of Plant Biotechnology*, Ed: Peter, M. ve Gresshoff, A. CRC Series. Florida, p. 13-23.
- Meyer, R. ve Jaccaud, E., 1997. Detection of Genetically Modified Soya in Processed Food Products: Development and Validation of a PCR Assay for the Specific Detection of Glyphosate-Tolerant Soybeans. Proceedings of the Euro Food Chem IX Conference, Interlaken, Switzerland, Event No. 220. 1, 23-28.

- Oraby, H., Hassan, A.A. ve Mossallam, A.A., 2005. Screening Food Products for the Presence of CaMv 35S Promoter and Nos 3'Terminator. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1974-1980.
- Ovesna, J., Dedikova, L., Horacek, J., Sadilova, E., Kucera, L. ve Meskova, L., 2002. Comparison of Different PCR-based Protocols for Detection of Roundup Ready Soybean. *Czech J Genet Plant Breed*, 1, 55-63.
- Özcan, S. ve Özgen M., 1996. Bitki Genetik Mühendisliği. *KÜKEM Dergisi*, 1, 69-95.
- Özcan, S. ve Sancak, C., 2005. Modern Biyoteknoloji Uygulamaları: Modern Biyoteknolojinin Bitkisel Üretimde Kullanımı. TKB TAGEM, Yenimahalle, Ankara.
- Öztürk, D., 2011. Mısır Kökenli Gıdalarda Yabancı Gen Taranması. *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.*
- Parekh, S.R. ve Gregg, A., 2004. Introduction, (Ed.) Parekh, S.R., the GMO Handbook: Genetically Modified Animals, Microbes, and Plants in Biotechnology. *Humana Press Inc., Totowa, New Jersey*, 1-59259-801-3.
- Pauli, U., Liniger, M., Zimmerman, A. ve Schrott, M., 2000. Extraction and Amplification of DNA From 55 Foodstuffs. *Mitt. Lebensm. Hyg.* 91, 491-501.
- Pietsch, K., Waiblinger, U., Brodmann, P. ve Wurz, A., 1997. Screeningverfahren zur Identifizierung Gentechnisch Veraenderter Lebensmittel. *Deutsche Lebensmittel Rundschau Heft*, 2, 35-38.
- Pinto, A.D., Forte, V.T., Guastadisegni, M.C., Martino, C., Schena, F.P. ve Tantillo, G., 2007. A Comparison of DNA Extraction Methods for Food Analysis. *Food Control*, 18, 76-80.
- Querci, M., 2010. El Kitabının Sunumu, Çalışma Yöntemleri ve Kurs Bilgileri, Bölüm-2. Gıda Örneklerinde Genetiği Değiştirilmiş Organizma Analizleri Kurs Elkitabı, Ed: Querci, M., Jermini M., Van den Eede, G. Luxembourg, Avrupa Birliği Komisyonu, s. 3-11.
- Rogers, S.O. ve Bendich, A.J., 1985. Extraction of DNA from Miligram Amounts of Fresh, Herbarium and Plant Tissues. *Plant Mol Biol*, 5, 69-76.
- Sanhoty, R.E., Broll, H., Grohmann, L., Linke, B., Spiegelberg, A., Bogl, K.W. ve Zagon, J., 2002. Genetically Modified Maize and Soybean on the Egyptian Food Market. *Nahrung/Food*, 46 (5), 360-363.

- Schneerman, M.C., Mwangi, J., Hobart, B., Arbuckle, J., Vaske, D.A., Register III, J.C. ve Weber, D.F., 2002. The Dried Corn cob As a Source of DNA for PCR Analysis. *Plant Molecular Biology Reporter*, 20, 59-65.
- Sheehy, R.E., Pearson, J., Brady, C.J. ve Hiatt, W.R., 1987. Molecular Characterization of Tomato Fruit Polygalacturonase. *Mol Gen Genet*, 280 (1-2), 30-36.
- Stewart, P.A. ve Sorensen, A.A., 1997. Field Testing of Genetically Engineered Crops: Public - Private Institution Comparison Technology. *Transfer of Plant Biotechnology*, Ed: Peter, M., Gresshoff, A. CRC Series. Florida, p. 191-205.
- Studer, E., Dahinden, I., Luthy, J. ve Hubner, P., 1997. Nachweis des Gentechnisch Veränderten 'Maximizer'-Mais Mittels der Polymerase- Kettenreaktion. *Mitteilungen aus dem Gebiet der Lebensmittel und Hygiene*, 88, 515-524.
- Şenyuva, H., Gilbert, J. ve Sincer, E., 2013. Gıda Zincirindeki Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Analizi. [www.sincer.com.tr](http://www.sincer.com.tr). (Erişim Tarihi: 16.02.2013).
- Tan, T., 2008. GM Crops a Viable Option for Food Crisis, the Strait Times, Singapore, [http://www.Gmac.Gov.Sg/News/2008/2008\\_05\\_12.html](http://www.Gmac.Gov.Sg/News/2008/2008_05_12.html) (Erişim Tarihi: 12.03.2013).
- Topal, Ş., 2004. Genetik Değiştirme İşlemleri ve Biyogüvenlik, Buğday. <http://www.bugday.org> (Erişim Tarihi: 19.02.2013).
- Tozzini A.C., Martínez M.C., Lucca M.F., Vazquez Rovere C., Distéfano A.J., del Vas M. ve Hopp, H.E., 2000. Semi-quantitative Detection of Genetically Modified Grains Based on CaMV 35S Promoter Amplification. *Electronic Journal of Biotechnology*, 3 (2), 1-5.
- Tung Nguyen, C.T., Son, R., Raha, A.R., Lai, O.M. ve Clemente Michael, W.V.L., 2009. Comparison of DNA Extraction Efficiencies Using Various Methods for the Detection of Genetically Modified Organisms (GMOs). *International Food Research Journal*, 16, 21-30.
- Turhan, A., 2008. Soya ve Mısırdaki Genetiği Değiştirilmiş Ürünlerin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Tuzun, S., Gay, P.A., Lawrence, C.B., Robertson, T.L. ve Sayler, R.J., 1996. Biotechnical Applications of Inheritable and Inducible Resistance to Diseases in Plants. Chapter 3. *Technology Transfer of Plant Biotechnology*, Ed: Peter, M. ve Gresshoff, A. CRC Series. Florida, p. 25-40.
- Tüysüzoğlu, B.B. ve Gülsaçan, M., 2004. Türkiye'de GDO, *Bilim ve Teknik*, 443, 36-43.

- Uzogara, S.G., 2000. The Impact of Genetic Modification of Human Foods in The 21st Century. *Biotechnology Advances*, 18, 179-206.
- Ünal, A., 2009. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Biyogüvenlik Yasa Tasarısı. [www.ekopolitik.org](http://www.ekopolitik.org) (Erişim Tarihi: 17.04.2013).
- Wang, W.Y. ve Fang, T., 2005. Development of Multiplex and Quantitative PCR Assay to Detect Genetically Modified Roundup Ready Soybean in Foods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 13, 132-138.
- Whitney, S., Maltby, H.J. ve Carr, J., 2004. "This Food May Contain" What Nurses Should Know About Genetically Engineered Foods. *Nursing Outlook*, 52 (5), 262-266.
- Van den Eede, G., Querci, M., Van den Eede, G. ve Jermini, M., 2004. The Relevance of Gene Transfer to the Safety of Food and Feed Derived from Genetically Modified (GM) Plants. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1127-1156.
- Vollenhofer, S., Burg, K., Schmidt, J. ve Kroath, H., 1999. Genetically Modified Organisms in Food-Screening and Specific Detection by Polymerase Chain Reaction. *J Agric Food Chem*, 47, 5038-5043.
- Yamaguchi, H., Sasaki, K., Umetsu, H. ve Kamada, H., 2003. Two Detection Methods of Genetically Modified Maize and the State of its Import into Japan. *Food Control*, 14, 201-206.
- Yanaz, S., 2003. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmalar (GDO) Konusu ve Cartagena Biyogüvenlik Protokolü, *T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı Dergisi*, <http://www.dtm.gov.tr/ead/DTDERGI/nisan2003/genetik> (Erişim Tarihi: 14.02.2013).
- Yanaz, S., 2008. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmalar (GDO) Konusu ve Cartagena Biyogüvenlik Protokolü. <http://www.dtm.gov.tr/dtmadmin/upload/EAD/TanitimKoordinasyonDb/genetik.doc> (Erişim Tarihi: 14.02.2013).
- Yücel, F., 2002. ELISA Test Sistemleri. Bitki Biyogüvenlik Araştırmaları Uygulamalı Eğitim Programı III. Tübitak Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü. Gebze-Kocaeli, s. 45-52.
- WHO, 2005. Modern Food Biotechnology, Human Health and Development: An Evidence-Basedstudy.[http://rmportal.net/library/content/Biotechnology\\_Genetic\\_Engineering\\_GMO/biotech\\_en.pdf](http://rmportal.net/library/content/Biotechnology_Genetic_Engineering_GMO/biotech_en.pdf) (Erişim Tarihi: 04.04.2013).

Zdjelar, G., Nikolic, Z., Vasiljevic, I., Bajic, B., Jovicic, D., Ignjatov, M. ve Milosevic, D., 2013. Detection of Genetically Modified Soya, Maize, and Rice in Vegetarian and Healthy Food Products in Serbia. *Czech Journal of Food Sciences*, 31 (1), 43-48.

Zimmermann, A., Hemmer, W., Liniger, M., Luthy, J. ve Pauli, U., 1998. A Sensitive Detection Method for Genetically Modified Mais Gard Corn Using a Nested PCR-System. *Lebensm-Wiss. u.-Technol.*, 31, 664-667.

Zülal, A., 2000. Gen Aktarımlı Bitkilerin Geleceği, *Bilim ve Teknik*, 388, 92-94.

Zülal, A., 2003. Gen Aktarımlı Tarım Ürünleri, *Bilim ve Teknik*, 426, 38-43.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Hilal KESKİN  
Doğum Tarihi ve Yeri : 20.10.1989, Sarıkamış  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dili : İngilizce  
e-mail : biyolog\_hilalkeskin@hotmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi	2014-2011
Lisans	Kafkas Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	2011-2007
Lise	Sarkuysan Lisesi	2006-2003

### Projeler

İşlenmiş Gıda Ürünlerinde Genetiği Değiştirilmiş (GD) Ürünlerin ve Uygun DNA İzolasyonu Metodunun Belirlenmesi, KMÜ- BAP (02-YL-13) Karaman, Araştırmacı.