

## Polyakrilamid Jel İzoelektrik Fokuslama Tekniğinin (PAGIF) Et Türlerinin Ayırımında Kullanılması

Kamil EKİCİ<sup>1</sup>Mustafa ALIŞARLI<sup>1</sup><sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van / Türkiye

### ÖZET

Uluslararası et, balık, kümes ve av hayvan ticaretinin her geçen gün daha da gelişmesine karşılık, yapılan hileler de önemli ölçüde artmıştır. Genelde türler karkas ve büyük parça etlerine göre tanımlanmaktadır; toptancılar, perakendeciler ve et endüstrisi ile uğraşan diğer kuruluşlar satışa çıkardıkları bazı et ürünlerinin, hangi hayvan etinden yapıldığını açık bir şekilde belirleyememektedirler. Bu nedenle çeşitli hayvan etleri türlerinin tanımlanmasını, gıda analiz laboratuvarlarının en önemli konularından birisi olma niteliğini korumaktadır. Uygun bir analiz yöntemiyle farklı kaynaklardan gelen etlere ait proteinler incelenerek tür ayırımı yapılabilmekte ve bu yolla ambalaj etiketinde belirtilen bilgilerin doğruluk derecesi kontrol edilebilmektedir. Hayvansal orijinli, farklı proteinlerin tanınmasında ve tüketici haklarının korunmasında gıda analiz laboratuvarları önemli bir role sahiptir. Kas proteinlerinin yapısını belirlemede elektroforezis, izoelektrik fokuslama, immunolojik ve histolojik metodlar gibi çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** PAGIF, et, tür

### Identification of the Species Origin Using Polyacrilamide Gel Isoelectric Focusing (PAGIF) Technique

### SUMMARY

The growth of international trade of meat, chicken, game, birds and fish have increased the number of adulteration attempts. The food quality control laboratory has got an important role in the protection of consumer to be able to determine the different proteins of animal origin and their eventual misrepresentation. Therefore, identification of animal species is the major concern for the food related laboratories. In certain circumstances, it is possible to detect the presence of proteins belonging to an animal species different from the original source of the meat as labelled on the package. On the other hand, it seems that the who sale suppliers, retailers and the other meat related industry branches are usually unable to identify precisely the animal species sent to the market. Generally, if the anatomical landmarks are eliminated, it is difficult or impossible to identify the animals species. A variety of methods exist for the determination of the nature of muscle proteins such as Electrophoresis, Isoelectric focusing, Immunological and histological methods.

**Key words:** PAGIF, meat, species

### GİRİŞ

Bazı ülkelerde, bir et ürününün etiketinde hangi hayvanların etinden hazırlandığının belirtilmesi yasal zorunluluktur. Gıda kalite kontrolleri içinde bunun önemli bir yeri vardır. Zira ülkemizde Gıda Maddeleri Tüzüğü'nün 147. maddesine göre et ürünlerinin yapımında kullanılan etlerin tür isimlerinin etiketlerinde belirtilmesi zorunlu kılınmıştır. Bununla birlikte, üreticiler tarafından daha fazla kar etmek amacıyla değişik etiketler altında başka türe ait etlerin satılması, Gıda Maddeleri Tüzüğü'nce taklit ve tağşiş kapsamında yer almıştır. Bazı üreticiler, kişiler ve kuruluşlar ticari kazanç sağlamak için, kötü kaliteli etleri kaliteli etler olarak doğrudan veya diğer et ürünlerinin yapımında kullanarak hileli satışlara başvurabilmektedir. Bunun sonucunda tüketicilerin hem ekonomik yönden zarara uğramalarına hem de sağlık yönünden çeşitli sorunlarla karşılaşmalarına neden olmaktadır. Ayrıca kaçak olarak kesilen çeşitli hayvan türlerine ait etlerin kontrollerinin yapılamaması; kuduz, ruam, antrax gibi zoonoz enfeksiyonların artmasına neden olmaktadır (21, 38).

Et endüstrisinin gelişmesiyle orantılı olarak dış ticarete hileli et ve et ürünlerinin satışlarının artması, bunların kontrolünü ve türünün belirlenmesini gerekli kılmaktadır. Farklı et ve et ürünlerinin ithal edilmesi

değişik enfeksiyonların ülkemize girmesine sebep olmaktadır. Ayrıca kalitesiz, düşük ve ucuz hayvan etlerinin yüksek kaliteli etler olarak satılması nedeniyle tüketiciler aldatılmaktadır. İnsanların, dini ve kültürel kaynaklı düşünce değerleri göz ardı edilerek başka orijinli hayvan etlerini bilmeden yemiş olmaktadır. Çeşitli hayvan etleri de bazı insanlarda allerjik reaksiyonlara neden olmaktadır. Bu belirtilen sorunları önlemek ancak etlerin hangi hayvana ait olduğunun saptanmasıyla gerçekleştirilir. Bunun için de bu sorunun çözümü yönünde duyarlı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (13, 21). Ülkemizde de boyutları belli olmamakla beraber yabancı hayvan etlerinin et ürünlerine katılması söz konusu olmakta ve yapılan gıda analizlerinde ender de olsa daha çok tek tırnaklı hayvan etlerinin et ürünlerinde kullanıldığı tespit edilmektedir. Belediye ekipleri tarafından çöplüklerde kedi ve köpek iç organ ve atıklarının bulunması ayrıca piyasada yabani domuz etlerinin yasaklanması, zaman zaman bu hayvan etlerinin de tüketime sunulduğu düşüncesini ortaya koymaktadır. Nitekim yakın zamanda İzmir'de yaşanan domuz etinden hazırlanmış olan çiğ köftelerin yenmesiyle ortaya çıkan durum konunun önemini göstermektedir. Et endüstrisinde belirtilen hileli işlemlerin net bir şekilde saptanmasında uygulanabilecek duyarlı yöntemlerin olmaması, bu

sorunun daha ciddi boyutlarda olabileceği düşüncesini ön plana çıkarmaktadır (21).

Çiğ etlerde ya da et ürünlerinde, etin ait olduğu hayvanın belirlenmesinde türe spesifik olan proteinler kullanılabilir. Türler için spesifik olan proteinlerin izole edilmesinin bazı güçlükleri vardır. İmmunoassay yönteminin, gıda karışımlarının uygun ekstraktlarından proteinlerin belirlenmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir. Metot, deney hayvanlarına ait proteinlerin parenteral olarak enjekte edilmesinden sonra, bu maddelere karşı oluşan antikorların invitro ortamda et antijenleri ile karıştırılması esasına dayanır. Fakat antijen antikor birleşmesinde genetik yönden yakın olan türlerde benzer determinant gruplarının bulunması sonucu çapraz reaksiyon oluşumu gözlenmektedir (13, 33). Presipitant halka metodu, agar jel immunodiffüzyon metodu, immunoelktroforez metodu, enzim linked immunosorbent assay (ELİSA) tekniği, et türlerinin ayırımında kullanılmaktadır. (7, 19, 27, 32). Ancak bu amaçla kullanılan immunolojik metotların hepsi ısıya dayanıksız antijenlere göre yapılmaktadır. Isıl işleme dayanıksız olan bu antijenler ısının etkisiyle yıkımlandığından, immunolojik metotların ısı işlemi görmüş et ve et ürünlerinde tür ayırımında kullanılmasını güçleştirmektedir. İmmunolojik metotların et türlerinin ayırımında kullanımını zorlaştıran diğer bir sorun ise, kullanılan antiserumlara karşı yakın akraba türlerinde çapraz-reaksiyonların oluşmasıdır. Ayrıca kullanılan antiserumların hazırlanmasının zor olması, gerekli antiserumların piyasada hazır bulunmaması bu metotların kullanımını güçleştirmektedir (44). Yine bu metotların çok yüksek duyarlılığa sahip olması, kesin sonucu söylemek için monospesifik antiserum kullanma zorunluluğunun bulunması, antiserumların duyarlı ve monospesifik hale getirilmesinin pahalı ve çok zaman gerektiren bir iş olması, sistemin yerleştirilmemiş olduğu ülkelerde pahalı oluşu, bu metotların dezavantajlarıdır (22, 37, 41).

Ayrıca histolojik yapılarına, organoleptik niteliklerine, yağ özelliklerine ve anatomik yapılarına göre de et türlerinin ayırımı yapılabilmektedir. Bunların yanısıra kromatografik metotlar da et türlerinin ayırımında kullanılmaktadır (21, 31, 35, 42). Yine et türlerinin birbirlerinden ayrılmasında cytochrom b geninin bir parçasının çoğaltılarak ve daha sonra DNA'ların tekrar eşleştirilmesi prensibine dayanan Polimerase Chaine Reaction (PCR) ve DNA-sondası gibi genetik metotlar da kullanılmaktadır (36).

#### **Elektforetik metotlar**

Elektroforez; çözültideki iyonların elektrik akımının tesiri ile meydana gelen hareketlerini tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Elektriksel alan içerisindeki göç; elektrik akımının şiddetine, net yüke, molekülün şekline, solüsyonun iyonik gücüne, viskozitesine ve sıcaklığına bağlıdır. Göç hızı, protein molekülü üzerindeki yükün büyüklüğü ile doğru orantılıdır. İyonik bileşiklerin iyonlaşması, elektroforezin temelini oluşturur. Zıt yükteki elektrotlara doğru farklı

hızlarda hareket eden değişik yükteki iyonlar elektriksel alanda birbirinden ayrılırlar. Elektroforez, ayrılması istenen iyonları ihtiva eden bir çözelti ile kağıt, nişasta agar, selüloz asetat zarı gibi inert bir taşıyıcı materyalin teşkil ettiği bir sistemde de yapılabilir (2, 12, 16). Protein üzerindeki yüklerin birbirini dengelediği pH'ya o proteinin izoelektrik noktası ( $p^1$ ) adı verilir. Bu pH'da proteinler hem anod, hem katotdan aynı kuvvetle çekildikleri için proteinlerin bu pH'daki hareketleri sıfır olur (17, 18).

#### **Elektroforez çeşitleri**

Kullanılan ayırma ortamının cinsine göre çeşitli elektroforez teknikleri kullanılmaktadır. Kağıt elektroforezi, selüloz asetat elektroforezi, agar jel elektroforezi, nişasta jel elektroforezi, poliakrilamid elektroforezi ve SDS-poliakrilamid jel elektroforezi bunlar arasında sayılmaktadır (25, 28, 43, 44).

#### **Poliakrilamid jel**

Poliakrilamidin bir bağlayıcı (genellikle bis akrilamid) ile (polimerize edilmesi sonucu oluşturulur. Böylece rasgele büyüyen poliakrilamid ve bis akrilamid konsantrasyonları oluşacak jelin yoğunluğunu, viskozitesini, elastikiyetini ve mekanik dağımlıklığını belirler. Bu konsantrasyonların artırılmasıyla oluşan ağın sıklığı da artmakta, buna bağlı olarak gözenek çapı azalmaktadır. Böylece içinden yürüyecek makromoleküllerin hareketi, büyüklüklerine (molekül ağırlıklarına) göre sınırlandırılmış olmaktadır. Akrilamid ve bis için genellikle kullanılan konsantrasyonlar, incelenecek olan makromoleküllerin büyüklüğüne göre akrilamid miktarının bis miktarına oranı 10-100 arasında ve akrilamid konsantrasyonu % 5'den büyük olur. Akrilamidin bis vasıtasıyla polimerizasyonunu katalizlemek amacıyla amonyum per sulfat (APS) ve tetrametiletilediamin (TEMED) kullanılmaktadır (43, 44).

#### **Polyakrilamid jel izoelektrik odaklama yönteminin prensibi**

İzoelektrik odaklama, bir pH gradiyetinde yapılan elektroforezdir. Bunun için makromoleküller (+) ve (-) yüklere sahip oldukları müddetçe gradient boyunca izoelektrik noktalarına rastlayan pH'ya kadar göç ederler. İzoelektrik noktada net elektriksel yük sıfırdır. pH gradienti düşük molekül ağırlıklı amfoterik maddelerin (amfolitler) yardımıyla oluşturulur. Eğer elektroforezde kullanılan tampon sistemi yerine anotta kuvvetli bir asit, katotta da kuvvetli bir baz kullanılır ve aradaki jel ortamına da gerektiği kadar amfolit solüsyonu katılırsa amfolitlerin anoda yakın kısmında (+) katoda yakın kısmında (-) net yükleri olur. Bundan dolayı elektrik verildiğinde bunlar anot ve katot tarafına itilerek merkeze doğru hareket ederler. Bu hareketleri sırasında çevresel ortamın pH'sının kendi izoelektrik noktalarına eşit olduğu bölgelerde hareketsiz kalırlar. Bundan dolayı, en asidik amfolitler katoda yakın olacak şekilde izoelektrik noktalarına göre sıralanırlar. Bunun sonucu jel içinde

anottan katoda doğru azalan bir pH gradienti oluşur (15, 29). Numune tatbik edilip yürütüldüğünde protein izoelektrik pH'sına geldiği anda net olarak yüksüzleşir. Hareket etmez ve o noktada odaklanır (1, 15, 29, 30, 44).

#### **Elektroforezde kullanılan jel boyama teknikleri**

Elektroforez işleminden sonra jelin analizi için boyama veya otoradyografi gibi yöntemlerden birisi tercih edilir. En çok kullanılan analitik yöntem Coomassie Brilliant Blue R-250 veya gümüş nitrat ile boyamadır. Coomassie Brilliant Blue R-250 sadece 1.0-0.5 mg protein miktarına kadar gümüş nitrat ise 10 ng protein miktarına kadar duyarlıdır. Eğer proteinler önceden bir radyoaktif izotop ile işaretlenmişse jelin analizi otoradyografi ile gerçekleştirilir. Otoradyografi radyasyon yardımı ile bir radyografik film üzerinde iki veya üç boyutlu görüntü oluşturmaktadır. Görüntü çıplak gözle görülebilir. Ancak önceden bir radyoaktif izotop ile işaretlemeyi gerektirdiği için oldukça pahalıdır (9, 40).

#### **Elektroforezin gıda analizlerinde uygulamaları**

Gıda proteinlerinin tayininde elektroforez tekniği çok geniş uygulama bulmaktadır. Buğday ve buğday ürünlerindeki protein fraksiyonları elektroforez tekniği ile ayrılabilir. Elektroforez süt proteinlerinin ayırımında da kullanılmaktadır. Sütün başlıca proteini olan kazein elektroforezden önce pH 4.6'da asetik asit ile çöktürülerek fraksiyonlarına ayrılmaktadır. Laktalbumin  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  laktoglobulinler olarak ayrılabilir. Yoğurda hile amacıyla katılan jelatin proteinleri süt proteinlerinden gayet iyi ayırt edilebilmektedir. Bu metot ile yoğurda % 0.05 oranında katılan jelatin belirlenebilmektedir. Yine yumurta akı içerisinde bulunan yumurta proteinleri de karakteristik elektroforez bantları ile belirlenebilmektedir.

Elektroforez hile amacıyla yapılan karışımların belirlenmesinde etkili bir yoldur. İnsan sütünün inek sütü ile karışımı, koyun ve inek sütlerinden yapılmış çeşitli peynirlerin belirlenmesinde elektroforez kullanılmaktadır. Elektroforez, proteinlerin ve enzimlerin saflığının kontrolünde, oligo nükleotitlerin analizinde, proteinlerin moleküler ağırlıklarının tespitinde, proteinlerin izoelektrik pH'larının belirlenmesinde ve enzimlerin preparatif eldesinde de kullanılmaktadır (11).

#### **Polyakrilamid jel izoelektrik odaklama (PAGIF) tekniğinin et türlerinin ayırımında kullanılması**

Elektroforetik tekniklerin numunelerdeki % 2-10 arasındaki yabancı et karışımlarını tespit edebilmesi, dondurulmuş, çok küçük parçalara ayrılmış, kürlenmiş, 75 °C'ye kadar ısıtılmış ürünlerde uygulanabilmesi ve genetik olarak birbirine yakın hayvan türlerinin etlerinin ayırt edebilmesi gibi avantajları bulunmaktadır (6, 14). Elektroforetik metotlardan PAGIF izoelektrik odaklama tekniği etlerin hangi hayvana ait olduğunun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Elektroforezde, etlerin yapılarındaki türlere özgü iyonize gruplar taşıyan yüklü kas proteinlerinin belli bir pH derecesine sahip elektriksel

alandaki hareket yeteneklerine göre etler ayırt edilmektedir. İzoelektrik odaklama metodunun prensibi elektroforez metodunun prensibi ile aynı olup burada jelin pH aralığı geniş tutulmuştur. Proteinlerin farklı pH derecesine sahip taşıyıcı amfolitte izoelektrik noktalarına göre elektroforetik ayrılmalarına dayanır. Yabancı etlerin teşhisinde elektroforetik metotlardan izoelektrik odaklamayı, et orijinlerinin belirlenmesinde ilk defa 1976 yılında Timbergen ve Olsman kullanmıştır (39). Daha sonra diğer araştırmacılar, et türlerinin belirlenmesinde izoelektrik odaklama metodunu kullanmışlardır (14, 20). PAGIF tekniği ayrıca balık türlerinin belirlenmesinde de kullanılabilir (20). Fakat elektroforetik tekniklerin kullanımında laboratuarda bütün hayvan türlerine ait referans protein veya enzim bulundurulması zorunluluğu gibi zorlukları vardır (31). Bununla birlikte yine elektroforetik tekniklerin yerleşik kurulu bir laboratuara ve sistemin korunması için özel bakıma ihtiyaç duyulması, testi yapanların teknik düzeyde uzman olması, masraflı oluşu gibi zorlukları da bulunmaktadır (26).

King ve ark. (24), düşük oranda çiğ sığır etine karıştırılmış diğer et türlerini ayırmak için izoelektrik odaklama yöntemini kullanmış ve fosfoglukonat dehidrogenase enzimini özel boyayarak et türlerini birbirinden ayırmışlardır. King (23), PAGIF yöntemiyle, pişmiş etlerde özel enzim boyamasıyla et türlerini tanımlamış ve bu amaçla sığır, koyun, keçi, kedi, köpek ve tavşan türlerini kullanmıştır. Decker ve ark. (5), PAGIF yöntemini kullanarak domuz, koyun, keçi ve geyik etlerini birbirinden ayırmışlardır. Gissel (10), polyakrilamid jel izoelektrik odaklama tekniği ile bilinmeyen etlerden hayvan orijinlerini belirlemeye çalışmış bunun için pH'ları 5.5 ile 8.5 arasında değişen hazır poliakrilamid jeller kullanmıştır. Rehbein (34), ultrathin-layer izoelektrik odaklama yöntemiyle çiğ ve pişmiş balık türlerini birbirinden ayırdığını bildirmiştir.

Bauer ve Hoffman (3), PAGIF yöntemiyle kaslarda bulunan peroksidaz enzimini kullanarak domuz ve tavuk gibi az myoglobin içeren türleri birbirinden ayırmışlardır. Bauer ve Hoffman (4), PAGIF yöntemini kullanarak ısı işleme görmüş et ve et ürünlerinden hayvan etlerinin türlerini birbirinden ayırmışlardır.

PAGIF tekniği, etlerin hangi tür hayvana ait olduğunu veya et karışımlarında hangi türün yaklaşık ne oranda bulunduğunu tespit, güvenilir bir şekilde kullanılabilir bir metot olduğu anlaşılmaktadır. Ancak bu teknikte elden edilen elektroferogramlar değişik faktörler tarafından etkilendiğinden, bunların yorumlanıp değerlendirilmesinde büyük özen gerekmektedir.

Gerek dünya ve gerekse ülkemiz için et ve et ürünlerini oluşturan türlerin, bunların karışımlarındaki tür çeşitleri ve oranlarının belirlenmesi, halen güncelliğini koruyan önemli bir sorundur. Hile amacıyla ucuz etlerin pahalı etler içerisine karıştırma oranının genelde % 20 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Düşük kaliteli etlerin, kaliteli etlermiş gibi etiketlenip satılması fazla kar yapmayı amaçlayan kişiler tarafından yapılmaktadır. Hile yoluyla daha fazla kazanç elde etmek için, karıştırma

oranının olabildiğince yüksek tutulmasına çalışılmaktadır. Bu düşünceden hareketle, % 20 ve bunun üzerindeki karışımlar hile bakımından ekonomik olarak kabul edilmektedir(21).

İmmunolojik metotlar, yakın tür hayvan etlerinin ayırımında cross reaksiyonların oluşması, ısıl işlem görmüş et ve et ürünleri ayırımında kesin sonuç vermemesi gibi nedenlerle pratikte güvenli bir şekilde kullanılmamaktadır.

Ülkemizde gıda kontrol laboratuvarlarında PAGIF tekniğinin et ve et ürünlerinde bulunabilecek et türlerinin belirlenmesinde rutin kontrol metodu olarak kullanılabilmesi mümkündür. Gerekli yasal düzenlemelerin yapılarak, bu amaçla kurulacak laboratuvarlarda PAGIF metodunun da belirtilen gaye için kullanımı temin edilebilir. Ayrıca immunolojik metotların rutin laboratuvarlarda uygulanmasının zorlukları nedeniyle, rutin laboratuvarlarda PAGIF'in uygulanabilmesi için, bir an önce her tür hayvan etine uygun standart ekstraktlar üretilip ilgililerin hizmetine sunulmalıdır. Yine bu iş için gerekli teknik bilgiye sahip personel yetiştirilmelidir.

#### KAYNAKLAR

- 1-Andrews AT (1981):** Electrophoresis. s 182, Clarendon Pres, Oxford.
- 2-Batmaz H. (1988):** Sığırlarda Perikarditis ve Myokarditis Travmatikinin Ayırıcı Tanısında Serum Protein Elektroforezinin Önemi Üzerine Deneysel Araştırmalar II. U.Ü.Vet. Fak. Derg. 7 (1,2,3): 7-11.
- 3-Bauer F, Hofmann K (1987):** Elektrophoretische Tierartbestimmung Steigerung der Empfindlichkeit durch Peroxidaseforbung Der Myoglobine. Fleischwirtsch 67(7): 861-967.
- 4-Bauer F, Hofmann K (1989):** Elektrophoretische Tierarten Identifizierung bei erhitztem Fleisch und Fleischerzeugnissen. Fleischwirtsch. 69(3):419-422.
- 5-Decker R, Holpert D, Pott HH, Plein K (1985):** Erfahrungen zum Einsatz der isoelektrischen Fokussierung-auf Polyacrylamide (PAGIF in der Fleischhygiene. Fleischwirtsch. 65 (7): 857-861.
- 6-Dincer B (1987):** The Effects of Curing and Cooling on the Differentiation of Species Origin of Meat Procuts by Izelectric Focusing. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 34 (1): 97-104.
- 7-Dinçer B, Spearow JL, Cansens RG, Graerer ML (1987):** The Effects of Curing on Cooking on The Detection of Species Origin of Meat Products by Competitive and Indirect ELISA Techniques. Meat Science 20(4): 253-267.
- 8-Dobbelare S, Hithcock HS (1985):** The Performance of an SDS-PAGE and an ELISA Method for the Quantitive Analysis of Soya Protein in Meat Products. J Food Sience and Agriculture 36: 499-507.
- 9-Droyer RH, Lata GF (1989):** Electrophoresis in Experimental Biochemistry. ISBN 0-19-50508385 Oxfort University Press Inc. New york.
- 10-Gissel CV (1987):** Die Anwendung der isoelektrischen Focussierung an Polyacrylamidgelen (PAGIF) Zur Tierarten Differenzierung in Der Praxis. Archiv Für Lebensmittelhygiene 38: 1-32.
- 11-Hışıl Y (1994):** Enstrumental Gıda Analizleri. E.Ü. Müh. Fak. Ders kitapları, s.162-165, Yayın No: 30, E.Ü.Basimevi, İzmir.
- 12-Hill CR (1991):** SCI Biotechnology Group Meeting Analitical Methods in Biotechnology. J.Chem Tech. Biotechl. 51: 115-140.
- 13-Hitchcock CHS, Crimes AD(1985):** Methodology for Meat Species Identification. Meat Science 15: 215-224.
- 14-Hoffman K, Penny IF (1985):** Methoden zur Identifizierung und Quantativer Bestimmung von Fleisch und Fremdeiweiss mit Hilfe der SDS-Polyacrilamide-Electrophores auf Flachgelen . Fleischwirtschaft 3 (2): 252-254.
- 15-Hoffman K, Blutel E (1986):** Bestimmung der Tierartz von rohem Muskelfleisch anhand der Myoglobinmuster im pH Gradienten Gel. Fleischwirtschaft, 66 (5): 916-921.
- 16-Iwabuchi S, Yamauchi F (1987):** Electrophoretic Analysis of Whey Proteins Present in Soybean Globulin Fractions. J.Agric Food Chem. 35: 205-209.
- 17-James P (1995):** Clinical Capillary Elektrophoresis. Clinical Chemistry 41(4): 495-509.
- 18-James W, Jurgenson K, Arman L (1983):** Capillary Zone Elektrophoresis. Science 222: 226-272.
- 19-Jones SJ, Patterson RLS (1986):** A Modified Indirect ELISA Procedure for Raw Meat Species Using Crude Antispecies Antisera and Stabilized Immunoreagent. J Food Science and Agriculture 37: 767-775.
- 20-Kaiser K, Matheis G, Durman CK, Belitz HD (1980):** Procindifferenzierung mit elektrophoretischen Methoden bei Fleisch Fisch und Abgeleiten Produkten. Z. Lebens . Unters. Forsch. 171: 415-419.
- 21-Kamber U(1996):** Et Türlerinin İdentifikasyonu. Vet Hek Dern Derg 67 (1): 34-40.
- 22-Kangethe EK, Jones SJ, Patterson RLS(1982):** Identification of the Species Origin of Fresh Meat Using an ELISA Procedure. Meat Science 7 (3): 229-240.
- 23-King NL (1984):** Species Identification of Cooked Meats by Enzyme Staining of Isoelectricfocusing Gels. Meat Science 11: 59-72.
- 24-King NL, Kurth L (1982):** Analysis of Raw Beef Samples for Adulterant Meat Species by Enzyme Staining of Isoelectric Focusing Gels. J.Food Sci. 47:1608-1612.
- 25-Lusby ML, Pispath JF, Parrish FC, Robson MR (1983):** Effect of Postmortem Storage on Degradation of The Myofibrillar Protein Titin in Bovine Longissimus Muscle J.Food Science 48: 1787-1790.
- 26-Mageau RP, Cutrufell ME, Scharup B, Johsuton RW (1984):** Development of an Overnight

Rapid Bovin Identification Test (ORBİT) for Field Use. J.A.O.A.C. 67 (6): 949-954.

**27-Martin R, Ascona JI, Cases C, Hernandez PE, Sanz B(1988):** Sandwich ELİSA for Detection of Pig Meat in Raw Beef Using Antisera to Muscle Soluble Proteins. J Food Protection 51(16): 790-794.

**28-Mert N (1996):** Veteriner Klinik Biyokimya. U.Ü. Vet.Fak. Yayını, s 151-153, Bursa.

**29-Murray K, Granner D, Mayes A (1988):** Harper's Biochemistry Amino Acids. Twenty-first edition, s13-21, California.

**30-Onat T, Kutay F, Erlasin S (1983):** Proteinlerin İzoelektirik Focusing Yöntemiyle Ayrılması. E.Ü. Tıp.Fak. Derg. 224: 963-970.

**31-Pineberg SK (1984):** Tierartengabe und Bestimmung. Fleischwirtschaft 64 (11): 1350-1354.

**32-Rayab AA, Ayob MK, Allens JC (1989):** An Improved Rapid ELİSA Technique for Detection of Pork in Meat Products. J Food Science and Agriculture 49 (1): 103-116.

**33-Rayes E, Mameesh MS, Sawaya WN, Hurain A (1990):** Detection of Pork in Processed Meat by an ELİSA Using Anti Swine Antisera. J Food Science 55(2): 293-297.

**34-Rehbein HV (1987):** Identifizierung Roher und Gegerarter Phattfische durch izoelektrische Fokussierung mit ultradünnen Gelen. Archiv Fur Lebensmittelhygiene 38: 33-68.

**35-Rosario M, Juan I, Ascona PE, Hernandez Bernabe S (1992):** Immunadsorbitions –Chromatographic Teilweise Reinigung der löslichen Schweinespezifischen Muskelproteine. Fleischwirtschaft 72(6): 916-917.

**36-Ruggeberg H, Gaede W, Tschirdewahn B, Booke A Müller M (1997):** Ein methodischer Vergleich der PCR-Analyse der DNA sonder Technik und der isoelektrischen Fokussierung. Fleischwirtschaft 77 (8) : 732-734.

**37-Spencer TL, Whittaker RG, Copland JW (1982):** ELİSA for Meat Species Testing. Australian Veterinary J 59 (1): 125-129.

**38-Tekeli T (1975):** Türkiye'de Gıda Mevzuatı ve Kontrolü'nün Esasları. s 5-13, 84-97, Genel Yayın No.27, Gıda Mevzuatı Serisi No.3, Ankara.

**39-Timbergen BJ, Olsman WJ (1976):** Isoelectric Focusing as a Species Identification Technique in the Identification of Foods Products. Fleischwirtschaft 10: 1501-1504.

**40-White BJ, Robyt F (1987):** Electrophoretic Theory in Biochemical Techniques. Theory and Practice, İSBN 0-534-07944

**41-Whittaker RG (1983):** An ELİSA Species Identification of Raw Meat. J Food Science and Agriculture 34: 1143-1446.

**42-Woadrow CM, Samy HA, Philips GS (1988):** Liquid Chromatographic Identification of Meat. J.A. O. C. 71 (2): 349-409.

**43-Yenson M (1980):** Klinik Biyokimya Laboratuar Çalışmaları. Geliştirilmiş 6.Baskı, s 264-271, İstanbul.

**44-Zerifi A, Labie C, Benard G (1992):** SDS-PAGE Technique for the Species Identification of Cooked Meat. Fleischwirtschaft 1 : 54-59.