

Identyfikacja gatunkowości mięsa, podstawy prawne oraz przegląd metod badań

Mirosław Różycki, Ewa Chmurzyńska, Ewa Bilaska-Zajęc, Jacek Karamon, Tomasz Cencek

z Zakładu Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Istnieje co najmniej kilka istotnych przesłanek uzasadniających konieczność identyfikacji gatunkowej mięsa. Najważniejsze z nich to względy zdrowotne, religijne i komercyjne. Względy te były podstawą regulacji prawnych wprowadzających obowiązek badania mięsa i jego przetworów. Z obowiązkiem tym wiąże się konieczność posiadania rzetelnych metod umożliwiających niezawodną identyfikację tych produktów. Istnieje wiele metod, które znalazły zastosowanie do badania gatunkowości mięsa, ale jak dotąd brak jest procedur badawczych nadających się do analiz urzędowych.

Podmiana i zafałszowania żywności

Produkty spożywcze są fałszowane – głównie z chęci zwiększenia sprzedaży i zysków.

Globalizacja rynku oraz swobodny przepływ towarów sprzyjają wprowadzaniu do obrotu towarów nieoryginalnych. Szczególnie często podrabiane lub podmieniane są produkty luksusowe i markowe o uznanej pozycji na rynku, np.: alkohole, wyroby wędliniarskie, sery twarde i inne. Żywność zafałszowana jest zwykle mniej wartościowa pod względem składu chemicznego, właściwości biologicznych i wartości odżywczej (1, 2). Może być również niebezpieczna dla zdrowia, a nawet życia konsumenta z powodu dodatku substancji toksycznych (3, 4, 5, 6). Zgodnie z art. 3 ust. 3 pkt 45 ustawy z 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz.U. nr 171, poz. 1225), za środek spożywczy zafałszowany uznaje się między innymi środek spożywczy, w którym zostały wprowadzone zmiany mające na celu ukrycie jego

The legal basis and review of procedures for meat species identification

Różycki M., Chmurzyńska E., Bilaska-Zajęc E., Karamon J., Cencek T., Department of Parasitology and Invasive Diseases, National Veterinary Research Institute in Pulawy

The aim of this article was to present some important issues associated with meat consumption. There are significant reasons justifying the need for meat species identification. The most important are health, religious and commercial aspects. These needs laid down the basis for official regulations and created compulsory species identification of meat and meat products. Together with the official obligations, there is a need to have reliable methods that allow species identification of meat products. There are many methods that have been applied for this purpose, but there are no officially established procedures suitable for meat inspection service. In this article, the legal basis for species identification and methods that are recently in use, were presented.

Keywords: meat, meat products, species identification, legal basis.

rzeczywistego składu lub innych właściwości. Środek spożywczy jest środkiem spożywczym zafałszowanym, jeżeli:

- a) dodano do niego substancje zmieniające jego skład lub obniżające jego wartość odżywczą,
- b) odjęto składnik lub zmniejszono zawartość jednego bądź kilku składników decydujących o wartości odżywczej albo innej właściwości środka spożywczego,
- c) dokonano zabiegów, które ukryły jego rzeczywisty skład lub nadały mu wygląd środka spożywczego o należytej jakości,
- d) niezgodnie z prawdą podano jego nazwę, skład, datę bądź miejsce produkcji, termin przydatności do spożycia lub datę minimalnej trwałości albo w inny sposób nieprawidłowo go oznakowano – wpływając na bezpieczeństwo środka spożywczego (7).

Zafałszowanie składu środka spożywczego jeszcze do niedawna było rozpatrywane jako przestępstwo o charakterze gospodarczym (wyłudzenie). Wraz z rozwojem wiedzy zafałszowania zostały zakwalifikowane jako zagrożenie bezpieczeństwa żywności (8, 9, 10). Badania nad przyczynami występowania alergii pokarmowych oraz pojawienie się nowych zagrożeń, np. nowego wariantu choroby Creutzfeldta-Jakoba (nCJD), są tego świadectwem (11, 12, 13, 14, 15).

W większości przypadków prosta podmiana gatunkowa, np. zastąpienie mięsa gatunku droższego mięsem tańszym, nie stanowi bezpośredniego zagrożenia dla życia (16). Jednak w niektórych przypadkach podmiany mogą być niebezpieczne dla zdrowia konsumentów (17). Dotyczy to osób, u których występują reakcje uczuleniowe na obecność białka zwierzęcego w pokarmie. Reakcje alergiczne mogą być wywołane spożyciem białka ryb, drobiu, jaj, mleka i mięsa (18, 19). Szacuje się, że ponad 4% populacji ludzkiej wykazuje objawy nadreaktywności układu immunologicznego na obecność alergenów pokarmowych. Reakcje alergiczne u osób uczulonych mogą przebiegać w różny sposób. Jednym z najczęstszych objawów są reakcje skórne – wysypka, pokrzywka pokarmowa, nudności zaburzenia żołądkowo-jelitowe. W przypadku anafilaksji mogą stanowić bezpośrednie zagrożenie życia (20, 21). Rocznie na świecie około czterech tysięcy osób umiera z powodu alergii pokarmowych (15).

Procesy technologiczne, takie jak peklowanie, wędzenie, obróbka cieplna, są w stanie inaktywować niektóre alergeny. Jednak, pomimo obróbki termicznej i zastosowania różnych procesów technologicznych, osoby uczulone mogą reagować na obecność alergenów zwierzęcych w pokarmie (21, 22).

Większość produktów mięsnych, jak np.: frankfurterki, luncheon meat czy parówki śląskie, zawierają nie tylko białka mięsa, lecz również białka roślinne, skrobię czy

białka mleka, których użycie jest dozwolone pod warunkiem, że producent poinformuje konsumentów o składzie produktu (20, 23). Użycie do produkcji substancji dozwolonych bez podania ich w deklaracji składu również może stanowić zagrożenie (24, 25, 26). Deklaracja składu zgodna z faktycznym składem produktu ma szczególne znaczenie dla osób, u których występuje nadwrażliwość na niektóre składniki pokarmu (27).

Znajduje to odbicie w prawie żywnościowym, spośród czternastu wymienionych w dyrektywie Parlamentu Europejskiego nr 1169/2011 składników pięć jest pochodzenia zwierzęcego (28). Podobnie jest też w innych krajach, np. w USA, gdzie w 2006 r. Senat uchwalił ustawę o alergiach w żywności i ochronie konsumentów „The Food Allergen and Consumer Protection Act” (FALCPA).

Identyfikacja gatunkowości mięsa i produktów mięsnych jest również wymagana w związku z refundacjami wywozowymi na rynku wołowiny i cielęciny (29). Określanie gatunkowości w tym przypadku ma na celu ograniczenie podmian o charakterze kryminalnym. W niektórych krajach identyfikacja gatunkowości mięsa wymagana jest ze względów religijnych, np. w Izraelu czy Indiach. W takich krajach, jak Australia, Nowa Zelandia, USA czy kraje Bliskiego Wschodu, określanie gatunkowości mięsa jest jednym z badań urzędowych (30, 31). Wymóg identyfikacji gatunkowej mięsa w Polsce pojawił się w latach 70. ubiegłego wieku w związku z eksportem polskich produktów mięsnych na rynek amerykański. Jednym z warunków wywozowych było przeprowadzenie badań na gatunkowość mięsa każdej partii puszgowanych szynki i łopatek, badania te były ukierunkowane na zafałszowanie mięsem drobiowym.

Metody stosowane do identyfikacji gatunkowości mięsa

Obecnie do identyfikacji gatunkowości mięsa stosowane są metody, które można usystematyzować jako: organoleptyczne, serologiczne, immunoenzymatyczne, elektroforetyczne, chromatograficzne oraz techniki molekularne z użyciem łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR; 32, 33, 34, 35).

Metody organoleptyczne

Badaniem podstawowym wykonywanym w celu określenia pochodzenia gatunkowego mięsa i produktów mięsnych jest badanie organoleptyczne (36). W jego trakcie zwraca się uwagę na budowę anatomiczną tkanek, barwę mięsa i jego zapach, teksturę, obecność kości, pozostałości sierści etc. W badaniu tym pomocne są specjalne przewodniki zawierające zdjęcia

oraz próbki sierści, kości różnych gatunków zwierząt, a także preparatów mikroskopowych tkanek. Wystarczy jednak, by produkt został poddany obróbce, a określenie gatunku zwierzęcia, z którego powstał, będzie utrudnione lub niemożliwe (37). Ponadto wadą badania organoleptycznego jest jego subiektywność.

Metody serologiczne

W latach 50. ubiegłego stulecia do określenia gatunkowości mięsa zaczęto stosować testy serologiczne oparte na reakcji antygen – przeciwciało (próba pierścieniowa). Zasadą testu jest reakcja specyficznej gatunkowo surowicy z antygenem obecnym w produkcie. Surowicę do próby pierścieniowej otrzymuje się poprzez immunizację zwierząt doświadczalnych (króliki, konie) wyciągiem białek tkanki mięśniowej. Wykonanie badania polega na dodawaniu do badanej próbki, surowicy zawierającej specyficzne immunoglobuliny (precypityny). Jeśli w próbce obecny jest antygen, zachodzi wówczas reakcja antygen – przeciwciało. Powstają kompleksy antygen przeciwciało, które łączą się z kolejnymi antygenami, tworząc sieć widoczną w postaci precypitatu (ryc. 1). Wadą tej metody jest występowanie reakcji krzyżowych pomiędzy blisko spokrewnionymi gatunkami oraz to, że przebieg reakcji wymaga wysokiego stężenia reagentów. Ponadto stężenia antygeny i surowicy powinny być podobne, w innym przypadku powstaną kompleksy rozpuszczalne (38). Obecnie metody serologiczne są stosowane do identyfikacji gatunkowości jako badania przesiewowe. W przypadku uzyskania wyników wątpliwych metodą serologiczną, gatunkowość próbek powinna zostać potwierdzona innymi metodami (39).

Metody immunoenzymatyczne – test ELISA

Test ELISA należy do metod immunoenzymatycznych. Test ten wykorzystywany jest do wykrywania antygenów (mioglobiny) w badanym materiale. Testy ELISA są obecnie najczęściej stosowane w diagnostyce rutynowej. W teście tym studzienki zostają opłaszczane gatunkowo specyficznymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko termostabilnym białkom tkanki mięśniowej. Następnie do studzienek wprowadzana jest badana próbka. W czasie inkubacji zawarte w próbce antygeny zostają związane z przeciwciałami. Po wypłukaniu nadmiaru antygeny, do studzienek wprowadza się specyficzne przeciwciała monoklonalne znakowane enzymem, skierowane przeciwko specyficznym gatunkowo termostabilnym białkom mięśni. W czasie kolejnej inkubacji przeciwciała te

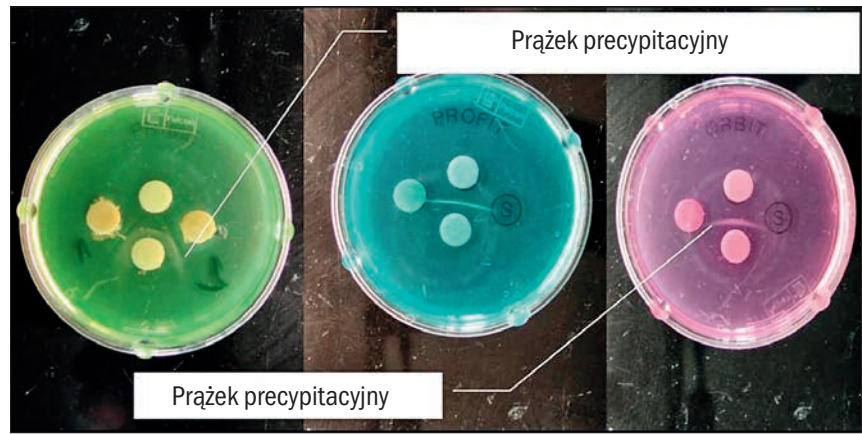
wiążą się z antygenem. Po kolejnym płukaniu do studzienek dodaje się substrat. W wyniku reakcji enzymatycznej substrat jest rozkładany i pojawia się zabarwienie sygnalizujące obecność badanego białka (40). Zmiana barwy jest podstawą identyfikacji gatunkowości produktu (41). Odczyt wyniku badania możliwy jest za pomocą spektrofotometru (czytnika do testów ELISA) lub optycznie na podstawie zmiany zabarwienia (42). Wadą testu ELISA jest możliwość wystąpienia reakcji krzyżowych w przypadku blisko spokrewnionych gatunków (np. świnia – dzik, koń – muł).

Metody chromatograficzne

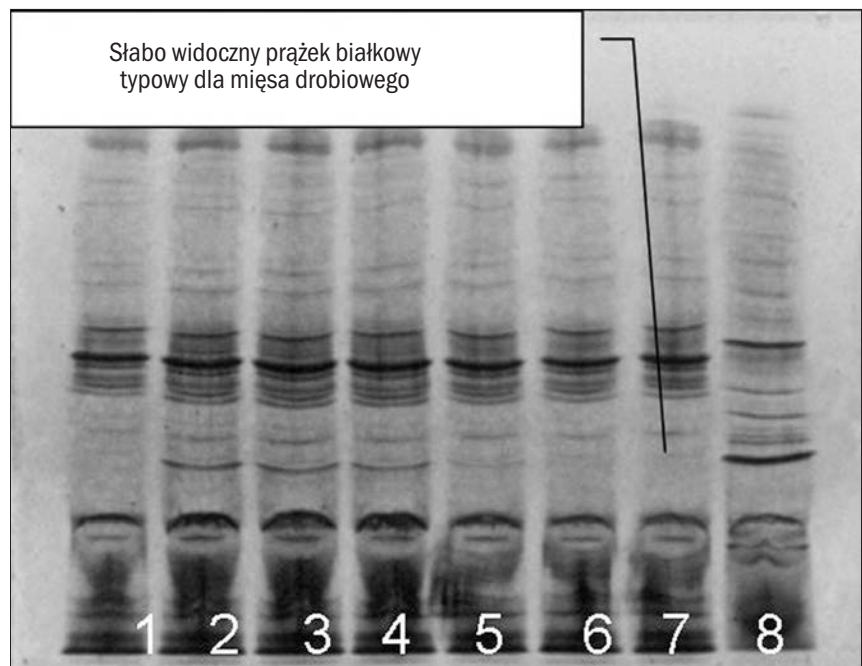
Chromatografia jest techniką analityczną służącą do rozdzielania i badania składu mieszanin związków chemicznych. Zasadą chromatografii jest rozdział mieszaniny na poszczególne składniki, a następnie detekcja tych składników. Rozdział substancji następuje w wyniku przepuszczenia roztworu badanej mieszaniny przez fazę rozdzielczą (złożę) lub ekstrakcję. Techniki chromatograficzne dzieli się według rodzaju eluentu (substancji, w której zostaje rozpuszczona badana mieszanina) lub w zależności od rodzaju fazy rozdzielczej. W analizie żywności najczęściej stosowana jest wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) z zastosowaniem różnych detektorów. Przy użyciu HPLC identyfikacji gatunkowości mięsa lub produktów dokonuje się na podstawie oznaczenia obecności termostabilnych dwupeptydów (anseryna/karnozyna) lub na podstawie analizy stosunku ilościowego nienasyconych kwasów tłuszczowych w triglicerydach. Wadą tej metody jest zmienność składu tłuszczowego i aminokwasowego tkanek zwierząt spowodowana wpływem żywienia (43).

Metody elektroforetyczne

Do badania gatunkowości mięsa znalazły również zastosowanie metody elektroforetyczne (ryc. 2). Przy użyciu metod elektroforetycznych oznacza się masę cząsteczkową białek lub wartość ich punktu izoelektrycznego (44, 45, 46). Elektroforeza poliakrylamidowa w warunkach denaturujących w obecności SDS (SDS – PAGE) należy do metod, które można zastosować do białka poddanego obróbce cieplnej (47). Natomiast ogniskowanie izoelektryczne jest metodą natywną mającą zastosowanie do badania białek nienaturowanych (44). Elektroforeza SDS – PAGE jest techniką powszechnie stosowaną w analizie białek. Identyfikacja białek odbywa się na podstawie różnic ich masy cząsteczkowej. Przy użyciu elektroforezy w obecności



Ryc. 1. Wyniki badania testem Rapid, Profit i Orbit surowego mięsa ryb (mięso mielone z morskiczka z dodatkiem 5% mięsa: a) drobiowego, b) świń, c) krów. Dolny krążek z surowicą, górny nasączony wyciekami z próbki zawierającej identyfikowany gatunek



Ryc. 2. Rozdział elektroforetyczny IEF próbek mięsa świń z dodatkiem mięsa drobiu w ilości 2–4%, 3–3%, 4–2%, 5–1%, 6–0,5%, 7–0,2%, 1 – mięso świń, 8 – mięso drobiu, próbki o objętości 1 µl

siarczanu dodecylu (SDS) frakcjonuje się białka, zależnie od ich masy cząsteczkowej (długości łańcucha polipeptydowego). Pod wpływem siarczanu dodecylu, β-merkaptioetanolu i EDTA następuje denaturacja białek i zmiana struktury przestrzennej łańcuchów białkowych. Łańcuchy polipeptydowe ulegają zwinieniu, dzięki temu na rozdział elektroforetyczny ma wpływ tylko masa cząstek białkowych, a nie ich konformacja przestrzenna (48). Technika ta pozwala na ustalenie masy cząsteczkowej danego białka poprzez porównanie z odpowiednimi standardami masy cząsteczkowej. Wadą metody jest brak możliwości identyfikacji białek o zróżnicowanej konformacji przestrzennej, a zbliżonej masie, np.: białka histonowe (49).

W badaniu gatunkowości produktów pochodzenia zwierzęcego najczęściej stosuje się elektroforezę SDS – PAGE. Jest

ona używana w wersji nieciągłej (discontinuous). Zastosowanie tej wersji elektroforezy umożliwia maksymalne wykorzystanie zdolności rozdzielczych tej metody. Probki nakładane na żel w tym układzie zostają zagęszczane do wąskich pasm, które w żelu rozdzielającym są rozdzielane na pojedyncze prążki. W zależności od badanego materiału w celu uzyskania czytelnych rozdziałów elektroforetycznych stosowane są różne stężenia żeli (50, 51). Zastosowanie żeli o różnym stopniu koncentracji pozwala na rozdział białek o zbliżonej masie cząsteczkowej. W praktyce najczęściej stosowane są jednak żele homogeniczne 7 i 15% oraz żele o zmiennym gradientie stężeń 7–10 i 8–25% (24). Zaletą metody SDS – PAGE jest niewielki wpływ III- i IV-rzędowej struktury białka na wynik badania oraz możliwość zastosowania do białek denaturowanych, np. gotowane

wyroby mięsne (52). Wadą zaś jest brak możliwości identyfikacji białek o podobnej masie cząsteczkowej (53, 54).

Ogniskowanie izoelektryczne białek w gradiencie pH (IEF)

Drugą metodą elektroforetyczną znajdującą zastosowanie w identyfikacji gatunkowej jest izoogniskowanie białek w gradiencie pH. W metodzie tej wykorzystuje się amfoteryczność białek. Białka poszczególnych gatunków zwierząt mogą mieć podobną masę cząsteczkową, lecz zbudowane są z różnych aminokwasów. Jednak nawet w przypadku blisko spokrewnionych gatunków sekwencja aminokwasów w podobnych funkcjonalnie białkach może być różna. W takim przypadku różna będzie też prezentacja grup COO⁻ i NH⁺ (52, 53). Ogniskowanie izoelektryczne zachodzi w żelach poliakrylamidowych nasączonych amfolitami. Pod wpływem prądu obecne w żelu amfolyty zostają uporządkowane i tworzą gradient pH, który zmienia się w sposób ciągły. Wartość pH żelu jest najwyższa przy katodzie, a najniższa przy anodzie (52, 54).

Po ustaleniu gradientu pH na żel nanoszone są próbki. Rozdział elektroforetyczny zachodzi pod wpływem działania prądu o niewielkim natężeniu (utrzymuje liniowe przemieszczanie się białek). Ze względu na specyficzne właściwości białek, tj. ich cechy amfoteryczne, białka w zależności od pH środowiska, w jakim się znajdują, mogą zachowywać się jak słabe kwasy lub zasady (55). Dzięki tej właściwości migrują w polu elektrycznym w kierunku pH przeciwnego ich ładunkowi. W trakcie przemieszczania się w żelu docierają do granicy pH, w którym białka stają się obojętne elektrycznie i przestają się przemieszczać (55, 56). Po zakończeniu elektroforezy żele są barwione i poddawane analizie. Analiza rozdziałów elektroforetycznych możliwa jest w oparciu o porównanie położenia prążków białkowych z rozdziałem wzorca (54). Wzorcami są białka o znanym pI (punkcie

izoelektrycznym) lub wzorce białkowe gatunków zwierząt.

Zastosowanie tej techniki pozwala na zróżnicowanie białek określanych innymi technikami jako jednakowe (52, 56). Zaletą metody jest wysoka zdolność rozdzielcza, wadą zaś brak możliwości badania białek denaturowanych (55, 56).

Metody molekularne – reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR)

Obecnie najczęściej w badaniach rutynowych do określania gatunkowości mięsa i produktów mięsnych stosowane są metody molekularne, a zwłaszcza reakcja łańcuchowa polimerazy (polymerase chain reaction – PCR). PCR jest techniką umożliwiającą powielanie (amplifikację) specyficznej sekwencji DNA. Jako startery reakcji służą dodawane oligonukleotydy (startery) wiążące się specyficznie z określonym miejscem na jednoniciowej matrycy DNA danej próbki (57, 58). Startery konstruuje się tak, by oskrzydlały odcinek DNA, który ma być poddany replikacji (59). Po zakończeniu replikacji nici są rozdzielane (denaturacja), aby ponownie umożliwić wiązanie starterów (hybrydyzacja) i syntezę DNA. Cykl taki powtarza się wielokrotnie, by w efekcie otrzymać 2n kopii sekwencji zawartej pomiędzy starterami. Produkty reakcji PCR z reguły są rozdzielane elektroforetycznie w żelu agarowym, a następnie barwione np. bromkiem etydy (ryc. 3). Reakcja PCR ma wiele zalet. Cechami charakterystycznymi reakcji PCR są wysoka czułość i specyficzność metody. Niestety, metoda ta nie jest pozbawiona wad. Główną wadą reakcji PCR jest wrażliwość testu na obecność substancji hamujących przebieg reakcji, np. obecność resztek białkowych, kolagenowych. Niewątpliwą zaletą metody PCR w modyfikacji Real-Time PCR jest to, że dzięki zastosowaniu technik fluorescencji liczba kopii DNA (ilość produktu) jest mierzona w czasie trwania reakcji. Dzięki zastosowaniu tej techniki możliwe jest oszacowanie

składu gatunkowego próbki. W ostatnich latach spore zainteresowanie w identyfikacji gatunkowej mięsa i produktów mięsnych budzi technika oparta na replikacji mitochondrialnego genu D-Loop (60).

Podsumowanie

Przedstawione metody były i są nadal stosowane w celu weryfikacji składu gatunkowego wyrobów mięsnych i określenia gatunkowości mięsa oraz produktów mięsnych. Dobór metod uzależniony jest od rodzaju matrycy i procesów, jakim została ona poddana. O zasadności używania kombinacji metod identyfikacyjnych może świadczyć przebieg badań związanych z aferą żywnościową w Wielkiej Brytanii o międzynarodowym zasięgu, która dotyczyła fałszowania mięsa wołowego koniną. O skuteczności stosowania kombinacji metod świadczą działania przeprowadzone przez Inspekcję Weterynaryjną w styczniu 2013 r., po uzyskaniu informacji o wykorzystaniu koniny do produkcji zafałszowanych burgerów wołowych. Badania identyfikacyjne w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym w Puławach prowadzono dwuetapowo. Próbkę poddano badaniu metodą izoogniskowania białek w gradiencie pH (IEF), a badania potwierdzające wykonano metodą Real-Time PCR. Łącznie badaniu poddano 479 próbek pobranych w chłodniach składowych. W ramach puli próbek badanych wyłączną metodą IEF (110 próbek) wykonano badania potwierdzające sprawdzające metodą RT PCR, wykazując 100% zgodności obu metod.

Piśmiennictwo

- Lumley S.: Adulteration of meat and meat products. In: Authenticity and Adulteration of Food – the Analytical Approach. *Proc. Euro Food Chem.* IX, Switzerland 1997.
- Lüthy J.: Detection strategies for food authenticity and genetically modified food. *Food Control*. 1999, **10**, 359–361.
- Kaczmarek M.: Alergie i nietolerancje pokarmowe. Stanowisko Polskiej Grupy Ekspertów, red. M. Kaczmarek, Sympozjum, 1997.
- Jarocka-Cyrta E., Uścińciewicz M., Wasilewska J., Kaczmarek M.: Rola alergii na białka mleka krowiego w etiopatogenezie przewlekłych bólów brzucha u dzieci. The role of cows milk allergy in recurrent abdominal pain in children. *Pediatrics Współczesna, Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka* 2002, **4**, 3, 261–264.
- Opinion of the Economic and Social Committee on the “Proposal for a European Parliament and Council Directive amending Council Directive 96/22/EC concerning the prohibition on the use in stockfarming of certain substances having a hormonal or thyrostatic action and of beta-agonists” OJ C 14, 16.1.2001, 47–49.
- Opinion of the Committee of the Regions on “Food safety: the BSE crisis – consequences for consumers and primary producers” Official Journal C 107, 03/05/2002, 0021–0023.
- USTAWA z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz.U. z 27 września 2006 r.).
- Malczewski Ł.: Toksyczna karma. *Marketing Serwis*. 2000, **11**, 62–63.
- Misbranding Section of the Federal Food Drug and Cosmetic Act Section 403: MISBRANDED FOOD. United States Code, Title 21, Chapter 9, Subchapter IV, Section 343.
- <http://www.efuc.org/article/pl/show/eu-initiatives/rid/safe-foods-risk-analysis/>



Ryc. 3. Tradycyjny odczyt reakcji PCR, barwienie bromkiem etydy, 1 i 12 – marker, wzorce DNA mięsa: 2, 3 – końskiego, 4, 5 – świń, 6, 7 – owiec, 8, 9 – bydła, 10, 11 – drobiu

- Proposal for a Council Decision concerning certain protection measures with regard to transmissible spongiform encephalopathies and the feeding of animal protein / COM/2000/0820/.
- Common Position (EC) No 8/2001 of 12 February 2001 adopted by the Council, acting in accordance with the procedure referred to in Article 251 of the Treaty establishing the European Community, with a view to adopting a Regulation of the European Parliament and of the Council laying down rules for the prevention, control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies OJ C 88, 19.3.2001, 1–50.
- Amendment of D 89/469/EEC and D 90/200/EEC – Guarantees on identification of animals and certification for beef dispatch D 90/261/EEC of 8 June 1990
- European Parliament resolution on monitoring of the BSE crisis with regard to public health and food safety (2000/2321(INI)) Official Journal C 284 E, 21/11/2002, 0199–0203.
- Guidance for Industry The Sourcing and Processing of Gelatin to Reduce the Potential Risk Posed by Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) in FDA-Regulated Products for Human Use U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration September 1997.
- Pascoal A., Prado M., Calo P., Cepeda A., Barros-Velazquez J.: Detection of bovine DNA in raw and heat-processed foodstuffs, commercial foods and specific risk materials by a novel specific polymerase chain reaction method. *Eur Food Res Technol.* 2005, **220**, 444–450.
- <https://portals.iucn.org/library/efiles/documents/2005–113.pdf>
- <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Allergens/ucm106187.htm>
- Formanek Jr. R.: Food Allergies: When Food Becomes the Enemy *FDA Consumer Mag.* 2001.
- Kagy L., Blaiss M.: Anaphylaxis in children. *Pediatr Ann.* 1998, **27**, 727–734.
- Kasperczyk R., Mess E., Mach G.: Ocena stanu wiedzy pielęgniarki o przyczynach i objawach anafilaksji oraz postępowania w sytuacjach zagrożenia anafilaksją. Estimation of nurses' knowledge about the reasons symptoms of the anaphylaxis and the proceeding in the anaphylaxis menace. *Pol Med Rodz.* 2004, **6**, 488–493.
- Rudzi E.: Żółtko jaja kurzego. *Alergeny. Med Prak.* 1996, **01**, 65–66.
- Corona1 B., Leonard R., Carpio Y., Uffo O., Martinez S.: PCR detection of DNA of bovine, ovine-caprine and porcine origin in feed as part of a bovine spongiform encephalopathy control program. *Span. J. Agric. Res.* 2007, **5**, 312–317.
- Kim, Y.H.: Studies on identification of meat types and non-meat proteins in the meat product. *Kor J Anim Sci.* 1989, **31**, 527–537.
- Misbranding Section of the Federal Food Drug and Cosmetic Act Section 403: MISBRANDED FOOD. United States Code, Title 21, Chapter 9, Subchapter IV, Section 343.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, zmiany rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1924/2006 i (WE) nr 1925/2006 oraz uchylecia dyrektywy Komisji 87/250/EWG, dyrektywy Rady 90/496/EWG, dyrektywy Komisji 1999/10/WE, dyrektywy 2000/13/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, dyrektywy Komisji 2002/67/WE i 2008/5/WE oraz rozporządzenia Komisji (WE) nr 608/2004.
- Zhang G., Zheng M., Zhou Z., Ouyang H., Lu Q.: Establishment and application of a polymerase chain reaction for the identification of beef. *Meat Sci.* 1999, **51**, 233–236.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, OJ L 304, 22.11.2011, p. 18–63.
- Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) NR 859/2012 z 20 września 2012 r. ustalające refundacje wywozowe do wołowiny i cielęciny.
- Australian Government Supervised, Muslim Slaughterer (Agsms) – Halal Program Meat 2002/16 NSFS Food Exports\AMEATSEV\2002_16 Aust. Gov. Supervised Muslim slaughterer.
- Daszkiewicz P.: Kłopoty z koszernością. *Wiedza i życie*, Prószyński Media. Kwiecień 1997.
- Barai B.K., Nayak R., Singhaland R., Kulkarni P.: Approaches to the detection of meat adulteration. *Trends Food Sci. Tech.* 1992, **3**, 69–72.
- Chung K.Y., Lee N.H., Rhim T.J., Hwang B.S.: Identification of animal meat species, beef, pork and chicken, using SDS-PAGE. *Kor. J. Anim. Sci.* 1997, **39**, 545–552.
- Fur-Chi Chen Y., Hsieh P., Bridgman R.: Monoclonal Antibodies to Porcine Thermal-Stable Muscle Protein for Detection of Pork in Raw and Cooked Meats. *J. Food Sci.* 1998, **63**, 201–205.
- Popping B.: The application of biotechnological methods in authenticity testing. *J. Biotechnol.* 2002, **98**, 107–112.
- Sawicki W.: Falszowanie żywności od czasów starożytnych do dziś. *Przemysł Spożywczy* 2009, **63**, 2–6.
- Murphy R., Marks B.: Effect of meat temperature on proteins, texture, and cook loss for ground chicken breast patties. *Poult. Sci.* 2000, **79**, 99–101.
- Cutrufelli M., Mageau R.: Species identification field tests (SIFT). USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 3rd Edition. 1998, **18**, 1–5.
- Flores-Munguia M.E., Bermudez-Almada M.C., Vázquez-Moreno L.: Detection of adulteration in processed traditional meat products. *J. Muscle Foods.* 2000, **11**, 319–325.
- Kangethe E., Jones S., Patterson S.: Identification of the species origin of fresh meat using an enzyme-linked immunosorbent assay procedure. *Meat Sci.* 1982, **7**, 229–240.
- Dincer B., Spearow J., Cassens G., Greaser M.: The effects of curing and cooking on the detection of species origin of meat products by competitive and indirect ELISA techniques. *Meat Sci.* 1987, **20**, 253–265.
- Patterson R.M., Spencer T.L.: Differentiation of raw meat from phylogenically related species by ELISA. *Meat Sci.* 1985, **15**, 119–123.
- Concepción M., Toldrá A.: Histidine dipeptides HPLC-based test for the detection of mammalian origin proteins in feeds for ruminants. *Meat Sci.* 2004, **67**, 211–217.
- Rehbein H.: Fish species identification by isoelectric focusing of sarcoplasmic proteins. *Electrophoresis* '84.

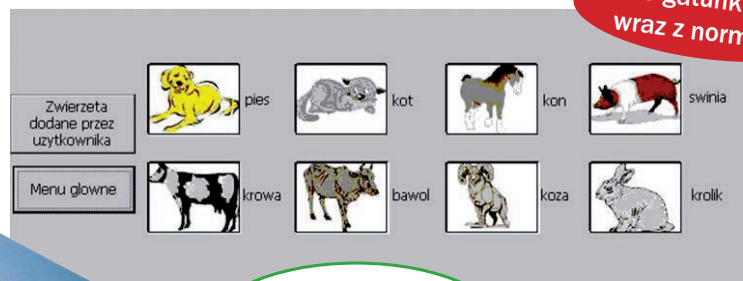
WETERYNARYJNY ANALIZATOR BIOCHEMICZNY

- Albumina
- ALP
- Amoniak
- Amylaza
- ALT
- AST
- Bilirubina
- Cholesterol
- CK
- CKMB
- Fruktozamina
- Glukoza
- GGT
- Kreatynina
- Kwas moczowy
- Kwasy żółciowe
- Mikroproteina
- Mocznik
- Trójglicerydy
- Cynk
- Miedź
- Magnez
- Fosfor
- Potas
- Sód
- Chlorki
- Żelazo
- Wapń
- Lipaza
- Wodorowęglany

0,7 PLN / test



PROMOCJA
odbierzemy w rozliczeniu
Twój sprzęt laboratoryjny



8 gatunków
wraz z normami

Wynik
po 120 sekundach

Dedykowany
system
jednorazowych
testów

Polskie
oprogramowanie
weterynaryjne

Na rynku
od 2005 roku

3 lata
gwarancji

www.AnalizatoryWeterynaryjne.pl

Tel.: 601 845 055 (Marek) • 601 932 909 (Stanisław)

- Proceedings of the fourth meeting of the international electrophoresis society. 1984, 471–473.
45. Rehbein H., Kress G., Schmidt T.: Application of PCR SSCP to species identification of fishery products. *J. Sci. Food Agric.* 1997, **74**, 35–41.
 46. Skarpeid H., Elin Moe R., Indahl U.: Detection of mechanically recovered meat and head meat from cattle in ground beef mixtures by multivariate analysis of isoelectric focusing protein profiles. *Meat Sci.* 2001, **57**, 227–234.
 47. Skarpeid H.J., Kvaal K., Hildrum K.I.: Identification of animal species in ground meat mixtures by multivariate analysis of isoelectric focusing protein profiles. *Electrophoresis.* 1998, **19**, 3103–3109.
 48. Slattery W.J., Sinclair A.J.: Differentiation of meat according to species by the electrophoretic separation of muscle lactate dehydrogenase and esterase isoenzymes and isoelectric focusing of soluble muscle proteins. *Aust. Vet. J.* 1983, **60**, 47–51.
 49. Westermeier R.: Electrophoresis in Practice, VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim, 2.ed., 1997.
 50. Martinez I., Jakobsen Friis T., Seppola M.: Requirements for the application of protein sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and randomly amplified polymorphic DNA analyses to product speciation. *Electrophoresis* 2001, **22**, 1526–1533.
 51. Minkiewicz P., Dziuba J., Nałęcz D.: Współczesne metody rozdzielania oraz badania struktury peptydów i białek żywności. Modern methods of separation and research of peptides structure and proteins of food. *Przem. Spoż.* 2000, **12**, 34–37.
 52. Elektroforeza przykłady zastosowań. Opracowanie zbiorowe pod redakcją Bogdana Walkowiaka i Violety Kochmańskiej, Amersham Biosciences, Łódź, Warszawa, październik 2002 rok, <http://www.biofizyka.p.lodz.pl/elektroforeza.pdf>
 53. Hofmann K.: Principal problems in the identification of meat species of slaughter animals using electrophoretic methods. In: Biochemical identification of meat species. Ed. R.L.S. Patterson. Elsevier, London, 1985, 9–31.
 54. Winterø A., Thomsen P., Davies W.: A comparison of DNA-hybridization, immunodiffusion, countercurrent immunoelectrophoresis and isoelectric focusing for detecting the admixture of pork to beef. *Meat Sci.* 1990, **27**, 75–85.
 55. Escuredo P.R., Ayala A., Parrado J.: Use of electrophoretic titration curves in the purification of a β -1,3-glucanase from *Oerskovia xanthineolytica*. *Biotechnol. Tech.* 1997, **11**, 63–66.
 56. Esteve-Romero J.S., Yman I.M., Bossi A., Righetti P.G.: Fish species identification by isoelectric focusing of parvalbumins in immobilized pH gradients. *Electrophoresis.* 1996, **17**, 1380–1385.
 57. Dooley J., Paine K., Stephen D., Garrett S.D., Brown H.M.: Detection of meat species using TaqMan real-time PCR assays. *Meat Sci.* 2004, **68**, 431–438.
 58. Kwiatek K., Różycki M., Rzeżutka A., Mizak B.: Zastosowanie reakcji PCR do detekcji materiału genetycznego *Listeria monocytogenes* z wykorzystaniem różnego typu polimeraz DNA. *Med. Weter.* 2003, **59**, 277–368.
 59. Bottero M.T., Civera T., Nucera D., Turi R.M.: Design of Universal Primers for the Detection of Animal Tissues in Feedstuff. *Vet Res Commun.* 2003, **27**, 667–669.
 60. Parkanyi V., Ondruska L., Vasicek D., Slamecka J.: Multilevel D-loop PCR identification of hunting game. *Appl Transl Genomics.* 2014, **3**, 1–7.

Dr Mirosław Różycki, Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Aleja Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mrozycki@piwet.pulawy.pl