

ВЕТЕРИНАРНІ НАУКИ

УДК 619:613.281:577.212.3:608.2

DOI: 10.15587/2313-8416.2016.83196

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ДНК ТВАРИННОГО ПОХОДЖЕННЯ В М'ЯСНИХ ПРОДУКТАХ ТА КОРМАХ ДЛЯ ТВАРИН МЕТОДОМ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ В РЕАЛЬНОМУ ЧАСІ**© Л. М. Іщенко, Л. М. Шинкаренко, І. В. Андрєєв, Л. І. Калакайло, В. Д. Іщенко, В. Г. Спиридонов**

Проведено апробацію діагностичних тестів для видової ідентифікації яловичини, свинини та курятини методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. Для дослідження використовували продукти м'ясної промисловості з торгівельних мереж, в тому числі тих, що зазнали термічної обробки, та корми. Встановлено факт невідповідності щодо зазначеного виробником складу окремих м'ясних продуктів
Ключові слова: полімеразна ланцюгова реакція, видова ідентифікація ДНК, яловичина, свинина, курятина

Approbation of diagnostic tests for species identification of beef, pork and chicken by real time polymerase chain reaction method was done. Meat food, including heat treated and animal feed, was used for research. The fact of inconsistencies was revealed for product composition of some meat products that is marked by manufacturer
Keywords: polymerase chain reaction, DNA species identification, beef, pork, chicken

1. Вступ

Підвищення темпів виробництва і обсягів випуску продукції м'ясної промисловості нерозривно пов'язане з вдосконаленням і створенням нових ресурсозберігаючих технологій, комплексним використанням тваринницької сировини, розробкою нових видів продукції з високими споживчими властивостями. Проте вирішення цих завдань обов'язково повинно супроводжуватися впровадженням комплексу показників об'єктивної і надійної оцінки якості сировини і готової продукції за рахунок використання нових аналітичних методів, які відповідають останнім досягненням в галузі аналітичних досліджень.

2. Аналіз літературних даних і постановка проблеми

Фальсифікація видового складу м'ясних продуктів, окрім економічного шахрайства, має цілий ряд інших проблем, серед яких можна виділити медичні, ветеринарно-санітарні та соціальні. З медичних і ветеринарних аспектів небезпеку становить можливість попадання в м'ясну сировину, готові м'ясні вироби, корми для тварин та дієтичні добавки кісткового чи м'ясо-кісткового борошна тварин, хворих губчастою енцефалопатією великої рогатої худоби (ГЕ ВРХ) [1, 2]. Захворювання виникає після згодовування великій рогатій худобі кормів, до складу яких входить тваринне борошно (м'ясо-кісткове, кісткове), уражене патологічним пріоном [3]. Через 10 років від

початку виникнення епізоотії ГЕ ВРХ у Великобританії було доведено можливість зараження людей від великої рогатої худоби (нетипова форма хвороби Крейцфельда-Якоба) [4]. Ураження людей частіше реєструють у регіонах, де у худоби діагностували губчасту енцефалопатію. Також слід відмітити виникнення індивідуальних алергічних реакцій, на вживання певного виду м'яса [5, 6]. Особливої уваги науковців сьогодні привертає алергія у дітей на вживання яловичини [7, 8].

Серед соціальних питань варто зазначити релігійні табу на деякі види м'яса, моральне несприйняття споживання м'яса кремів видів тварин.

Окрім того, багато споживачів для зменшення надходження жирів, вважають за краще включати у раціон більше курятини, ніж яловичини або свинини.

У кормах для дрібних тварин також важливо контролювати видовий склад м'ясних компонентів, особливо в дієтичних кормах, призначених для попередження кормової алергії [9–11].

Таким чином, потреба видової ідентифікації м'ясних компонентів в продуктах харчування та кормах для тварин не викликає сумнівів. Такі методи дослідження, як імунодифузія в гелі, імуноферментний аналіз (ІФА) та інші, що широко використовуються для видової ідентифікації сирого м'яса, є малоінформативними щодо продуктів, виробництво яких вимагає термічної обробки, оскільки, вона приз-

водить до денатурації білків і втрати ними видової специфічності [12]. На відміну від білків, ДНК є більш стійкою до термічної обробки, тому нині перспективними для ідентифікації видового складу м'ясних компонентів у продуктах харчування та кормах для тварин є молекулярно-генетичні методи, зокрема, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) в різних її модифікаціях [13–15]. У попередніх дослідженнях нами було розроблено діагностичні тести для ідентифікації яловичини, свинини і курятини, визначено їх специфічність та ефективність використання для продуктів, що зазнали термічної обробки [16]. Водночас актуальним питанням залишається апробація запропонованих тестів.

3. Мета та задачі дослідження

Метою дослідження було провести апробацію діагностичних тестів на основі полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі для ідентифікації яловичини, свинини та курятини.

Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні задачі:

а) дослідити окремі валідаційні показники запропонованих діагностичних тестів;

б) здійснити практичну апробацію розроблених діагностичних тестів.

4. Матеріали і методи дослідження

Досліджувані матеріали, що використовувались в експерименті:

1. Свіже м'ясо тварин (яловичина, свинина, курятина).

2. Самостійно приготовлені 1 %-ні фарші свинини, яловичини та курятини.

3. М'ясні вироби з торгівельної мережі.

4. Сухі корми для собак різного класу якості.

Екстракцію ДНК із зразків проводили методом сорбції на оксиді кремнію [17], з передньою інкубацією із протеїназою K упродовж 2 год.

4.1. Методика полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі для видової ідентифікації ДНК запропонованими діагностичними тестами

Ампліфікацію проводили в реакційній суміші об'ємом 25 мкл, що містила: 50,0 мМ Трис-НСІ (рН 8,3), 3,0 мМ MgCl₂, 0,2 мМ кожного з дНТФ, по 2 пМ пари олігонуклеотидних праймерів, 10 пМ «антипраймеру» та 1 од. Таq ДНК-полімерази. Зразки екстрагованої ДНК вносили у об'ємі 5 мкл. Дослідження проводили на приладі *ABI PRISM SDS 7000 (Applied Biosystems, Великобританія)* та *CFX96 Real-Time System (BioRad)* із наступним температурним профілем (табл. 1).

Таблиця 1

Температурний режим ампліфікації

Стадія	Режим ампліфікації		Процес	Кількість циклів
	температура, °C	час		
1	95	5 хв	Активация полімерази	1
2	95	15 с	Денатурація ДНК	25
	64 (66)*	30 с	Відпалювання праймерів	
	72	30 с	Елонгація ДНК	
	50	45 с	Приєднання антипраймера**	

Примітка: * – для свинини і яловичини температура відпалювання праймерів 64 °C, для курятини – 66 °C; **стадія на якій відбувається реєстрація даних флуоресценції

У запропонованих діагностичних тестах для реєстрації флуоресцентного сигналу при проведенні ПЛР у реальному часі використано технологію «антипраймеру» [18]. Суть цієї модифікації полягає у тому, що до одного із праймерів «пришивається» універсальна нуклеотидна послідовність мічена флуоресцентним барвником (15–20 нуклеотидів) на 5'-кінці. Відповідно, в реакційне середовище вносять комплементарну їй нуклеотидну послідовність «антипраймеру», мічену гасником флуоресценції на 3'-кінці. Таким чином, до початку реакції флуоресцентний сигнал відсутній, оскільки флуорофор і гасник флуоресценції просторово зближені. При наявності специфічної матриці в реакції ПЛР олігонуклеотид, який містить гасник, витісняється Таq-ДНК-полімеразою, в результаті чого підвищується рівень флуоресценції. Такий підхід до проведення ПЛР в реальному часі є максимально економним, оскільки, немає потреби у дизайні флуоресцентних зондів до кожної матриці. Окрім того, дизайн праймерів проводили таким чином, щоб один із праймерів був спільним для тварин трьох видів (до нього і приєднували універсальну нуклеотидну послідов-

ність із флуоресцентним барвником FAM), а інший – видоспецифічний, що також суттєво знизило вартість дослідження, оскільки, найбільш вагому частку собівартості ПЛР у реальному часі становлять флуоресцентні зонди.

5. Результати досліджень м'ясних продуктів харчування і сухих кормів для собак на видову належність м'ясної сировини

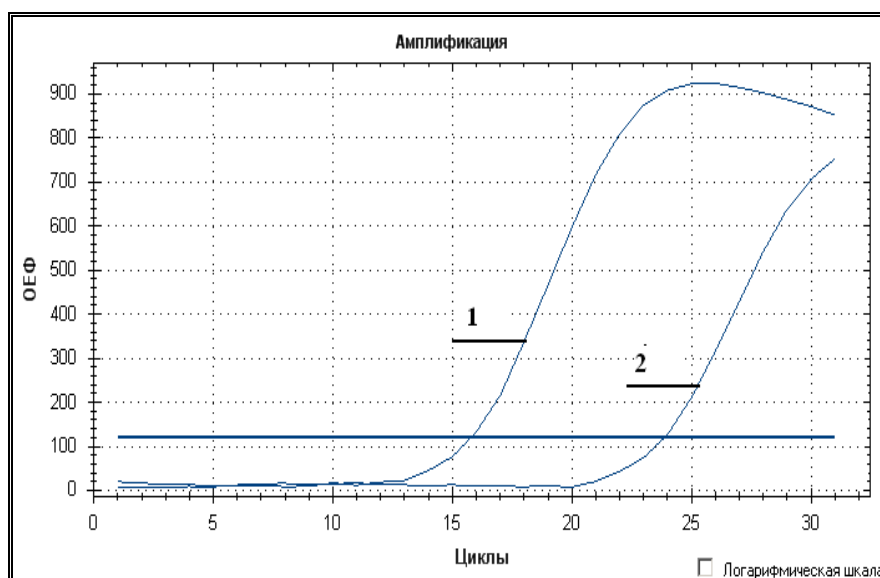
Оскільки валідація запропонованих діагностичних тестів проводилася на приладі *ABI PRISM SDS 7000 (Applied Biosystems, Великобританія)*, а апробація на приладі *CFX96 Real-Time System (BioRad)*, було проведено дослідження внутрішньо-лабораторної відтворюваності такого показника як чутливість. Для дослідження використовували м'ясо та приготовлений 1,0 % фарш з м'яса тварин кожного досліджуваного виду. Переметри кривих ампліфікації, отриманих на різних приладах, наведено в табл. 2. На рис. 1 зображено криві ампліфікації, отримані при ампліфікації яловичини та 1,0 % яловичого фаршу, на різних приладах для проведення ПЛР у реальному часі.

Таблиця 2

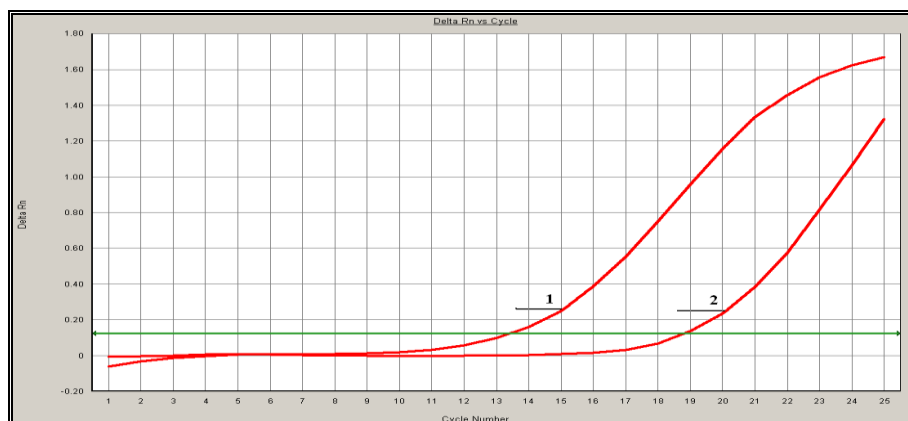
Характеристики кривих ампліфікації за барвником FAM на різних приладах для проведення ПЛР у реальному часі

Сировина	ABI PRISM SDS 7000				CFX96 Real-Time System			
	м'ясо		1,0 % фарш		м'ясо		1,0 % фарш	
	Ct _{FAM}	ΔRn*	Ct _{FAM}	ΔRn	Ct _{FAM}	ΔRn	Ct _{FAM}	ΔRn
Яловичина	13,5	1600	19,8	1200	17,5	900	23,0	700
Свинина	15,8	1400	21,5	1000	16,0	1200	24,5	1000
Курятина	15,4	1450	20,4	1000	17,8	1300	23,8	1100

Примітка: * - відносні одиниці флуоресценції



а



б

Рис. 1. Криві ампліфікації 100 % яловичини і 1 % яловичого фаршу, отримані на приладах: а – CFX96 Real-Time System; б – ABI PRISM SDS 7000

З отриманих результатів дослідження видно, що запропоновані діагностичні тести можна використовувати як на приладі CFX96 Real-Time System, так і на ABI PRISM SDS 7000.

Для апробації тестів видової ідентифікації ДНК досліджували різні м'ясні продукти харчування, придбані в торговельній мережі, в тому числі такі, які у процесі виробництва піддавали термічній обробці, та готові корми для собак.

Результати дослідження продуктів харчування щодо видового складу їх м'ясних компонентів наведено в табл. 3.

Як видно із представлених результатів дослідження в окремих харчових продуктах встановлено факт невідповідності видового складу сировини заявленої виробником. Так, у паштеті «Нижній» (№ 3) не виявлено курятини, а у сардельках «Селянські» (№ 7) та сосисках «Дитячі» (№ 8) – не виявлено свинини.

Слід відмітити можливість встановлення видового складу м'ясної сировини у консервах домашнього приготування (№ 10) та у булочних виробках (№ 6), які зазнають термічної обробки, адже такі продукти часто можна зустріти на стихійних ринках та у закладах «вуличного» харчування.

Таблиця 3

Видова ідентифікація м'яса в різних продуктах

№	Назва продукту	Склад виробу (згідно з даними виробника)	Результати ПЛР (значення порогового циклу за каналом FAM, Ct)		
			яловичина	свинина	курятина
1	Сосиски «Тигрик», вищий сорт	свинина, курятина, яловичина, яєчний порошок	20,44	23,5	21,25
2	Сарделькі «Шкільні», вищий сорт	свинина, яловичина, яєчний порошок	26,74	21,68	21,86
3	Паштет «Ніжний», перший сорт	м'ясо куряче, печінка свиняча, шкурка свиняча варена	–	17,94	–
4	Ковбаса сирокочена «Махан по татарськи», першого сорту	конина, яловичина	21,38	–	–
5	Салаямі «Віденська»	свинина, яловичина	20,45	21,80	–
6	Булочний виріб з потрошками	без етикетки	–	21,84	–
7	Сарделькі «Селянські»	яловичина, свинина, яйця курячі, курятина	24,0	–	19,5
8	Сосиски «Дитячі»	яловичина, свинина, яйця курячі	24,0	–	19,0
9	Вареники із печінкою	яловичина	19,0	–	–
10	Паштет із суб-продуктів свині домашнього приготування	свинина	–	23	–

Для оцінки можливості використання запропонованих діагностичних тестів для визначення видового складу м'ясної сировини у кормах для тварин досліджували готові сухі корми для собак різних виробників та різного класу якості, придбані в торговельній мережі. Відбираючи зразки для дослідження було встановлено, що у кормах для тва-

рин виробником не завжди вказується видовий склад м'ясної сировини. Наприклад, у кормах економ-класу часто можна зустріти вказівки: «м'ясо птиці», «м'ясо свійської птиці» або «м'ясо тварин і м'ясні похідні» – без конкретизації його видової належності. Результати досліджень кормів для собак наведені в табл. 4.

Таблиця 4

Видова ідентифікація м'ясних компонентів в кормах для собак

№	Країна-виробник та клас корму	Склад продукту (згідно з даними виробника)	Результати ПЛР (значення порогового циклу за каналом FAM, Ct)		
			яловичина	свинина	курятина
1	Німеччина, супер-преміум	свіже м'ясо свійської птиці, яєчний порошок	–	–	24
2	Німеччина, преміум	м'ясо тварин і м'ясні похідні	–	–	–
3	Німеччина, преміум	м'ясо тварин і м'ясні похідні	26	26	–
4	Італія супер-преміум	сублімоване м'ясо курки та індички, свіже м'ясо курки та індички	–	–	24
5	Іспанія, супер-преміум	м'ясо ягняти, білки м'яса свійської птиці	–	–	23
6	Іспанія, преміум	м'ясо та м'ясні продукти (не менше 6% курки)	–	–	25
7	Франція, супер-преміум	дегідратоване м'ясо птиці	–	–	25
8	Франція, супер-преміум	зневоднене м'ясо птиці	–	–	23
9	Франція, супер-преміум	зневоднене м'ясо птиці	–	–	21
10	Франція, преміум	дегідратоване м'ясо птиці	–	–	–
11	Велико-британія, супер-преміум	борошно з курячого м'яса, свіже куряче м'ясо (5%), яєчний порошок	–	–	20
12	Іспанія, супер-преміум	курка (16%), яєчний порошок	–	–	20

Аналізуючи дані наведені в табл. 4 щодо ідентифікації видового складу м'ясних компонентів у сухих кормах для собак можна зробити висновок, що

факту фальсифікації видового складу не виявлено, оскільки, в багатьох кормах, як уже досліджувалося досліджувалося вище, не зазначається видовий склад

корму. Курятину було виявлено у 75,0 % кормів, 40,0 % з яких склали корми, у яких не зазначено видового складу сировини. У 16,6 % досліджуваних зразків кормів видовий склад не встановлено.

6. Висновки

1. Результати дослідження внутрішньолабораторної відтворюваності для запропонованих діагностичних тестів свідчать, що їх можна застосовувати як на приладі CFX96 Real-Time System так і на ABI PRISM SDS 7000.

2. Отримані дані щодо апробації діагностичних тестів для ідентифікації яловичини, свинини та курятини методом ПЛР в реальному часі дозволяють зробити висновок, що вони є високочутливим та специфічним засобом для видової ідентифікації м'ясних компонентів в продуктах харчування, в тому числі тих що зазнали термічної обробки, та в кормах для тварин.

Література

1. Вербицький, П. І. Статус України щодо губчастоподібної енцефалопатії великої рогатої худоби згідно з рекомендаціями кодексу МЄБ [Текст] / П. І. Вербицький, В. В. Влізло, А. В. Абрамов, О. В. Ложкіна // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 1. – С. 7–10.

2. Назар, Б. І. Обмеження та контроль за використанням білків жуйних тварин в Україні [Текст] / Б. І. Назар // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 209–211.

3. Про затвердження Інструкції щодо діагностики, профілактики та боротьби з губчастоподібною енцефалопатією великої рогатої худоби [Текст]. – Держкомветмедицини, 2008. – № 180. – Режим доступу: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/z0994-08>

4. Henry, C. Clinical features of variant Creutzfeldt-Jakob disease [Text] / C. Henry, R. Knight // *Reviews in Medical Virology*. – 2002. – Vol. 12, Issue 3. – P. 143–150. doi: 10.1002/rmv.345

5. Theler, B. Clinical presentation and diagnosis of meat allergy in Switzerland and Southern Germany [Text] / B. Theler, K. Brockow, B. Ballmer-Weber // *Swiss Med Wkly*. – 2009. – Vol. 139, Issue 17-18. – P. 264–270.

6. Restani, P. Meat allergy [Text] / P. Restani, C. Ballabio, S. Tripodi, A. Fiocchi // *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. – 2009. – Vol. 9, Issue 3. – P. 265–269. doi: 10.1097/aci.0b013e32832aef3d

7. Fiocchi, A. Beef allergy in children [Text] / A. Fiocchi, P. Restani, E. Riva // *Nutrition*. – 2000. – Vol. 16, Issue 6. – P. 454–457. doi: 10.1016/s0899-9007(00)00285-9

8. Werfel, S. Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk [Text] / S. Werfel, S. Cooke, H. Sampson // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 1997. – Vol. 99, Issue 3. – P. 293–300. doi: 10.1016/s0091-6749(97)70045-9

9. Шарифулина, Е. М. Вопрос выбора лучшего корма для мелких домашних животных [Текст] / Е. М. Шарифулина, К. В. Закирова // *Science Time*. – 2015. – № 12. – С. 862–867.

10. Хохрин, С. Н. Кормление собак [Текст] / С. Н. Хохрин. – СПб.: Лань, 2001. – 192 с.

11. Raditic, D. M. ELISA testing for common food antigens in four dry dog foods used in dietary elimination trials [Text] / D. M. Raditic, R. L. Remillard, K. C. Tater // *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. – 2011. – Vol. 95, Issue 1. – P. 90–97. doi: 10.1111/j.1439-0396.2010.01016.x

12. Wintero, A. K. A comparison of DNA-hybridization, immunodiffusion, countercurrent immunoelectrophoresis

and isoelectric focusing for detecting the admixture of pork to beef [Text] / A. K. Wintero, P. D. Thomsen, W. Davies // *Meat Science*. – 1990. – Vol. 27, Issue 1. – P. 75–85. doi: 10.1016/0309-1740(90)90030-a

13. Lopez-Andreo, M. Identification and quantitation of species in complex DNA mixtures by real-time polymerase chain reaction [Text] / M. López-Andreo, L. Lugo, A. Garrido-Pertierra, M. Isabel Prieto, A. Puyet // *Analytical Biochemistry*. – 2005. – Vol. 339, Issue 1. – P. 73–82. doi: 10.1016/j.ab.2004.11.045

14. Kesmena, Z. PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages [Text] / Z. Kesmen, F. Sahin, H. Yetim // *Meat Science*. – 2007. – Vol. 77, Issue 4. – P. 649–653. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.05.018

15. Laube, I. Methods for the detection of beef and pork in foods using real-time polymerase chain reaction [Text] / I. Laube, A. Spiegelberg, A. Butschke, J. Zagon, M. Schauzu, L. Kroh, H. Broll // *International Journal of Food Science and Technology*. – 2003. – Vol. 38, Issue 2. – P. 111–118. doi: 10.1046/j.1365-2621.2003.00651.x

16. Спиридонов, В. Г. Ідентифікація ДНК тваринного походження в м'ясних продуктах та кормах, що зазнали термічної обробки [Текст] / В. Г. Спиридонов, Л. М. Іщенко, С. Д. Мельничук // *Продовольча індустрія АПК*. – 2010. – № 3-4. – С. 39–43.

17. Boom, R. Rapid and simple method for purification of nucleic acids [Text] / R. Boom, C. J. Sol, M. M. Salimans et al. // *Journal of clinical microbiology*. – 1990. – Vol. 28, Issue 3. – P. 495–503.

18. Jin Li G. Anti-primer quenching-based real-time PCR for simplex or multiplex DNA quantification and single-nucleotide polymorphism genotyping [Text] / J. Li, G. M. Makrigiorgos // *Nature Protocols*. – 2007. – Vol. 2, Issue 1. – P. 50–58. doi: 10.1038/nprot.2007.11

References

1. Verbyts' tsyy, P. I., Vlizlo, V. V., Abramov, A. V., Lozhkina, O. V. (2010). Ctatus Ukrayiny shchodo hubchastopodibnoyi entsefalopatiyi velykoyi rohatoyi khudoby zhidno z rekomendatsiyamy kodeksu MEB. *Veterynarna medytsyna Ukrayiny*, 1, 7–10.

2. Nazar, B. I. (2012). Obmezheniya ta kontrol' za vykorystanniam bilkiv zhuynykh tvaryn v Ukraini. *Naukovyy visnyk L'viv's'koho natsional'noho universytetu veterynarnoyi medytsyny ta biotekhnolohiy imeni S. Z. Ghlyts'koho*, 14 (3), 209–211.

3. Pro zatverdzhennja Instrukcii' shhodo diagnostyky, profilyaktyky ta borot'by z gubchastopodibnoju encefalopatiyeju velykoi' rogoatyi' hudoby (2008). *Derzhkomvetmedycyny*, 180. Available at: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/z0994-08>

4. Henry, C., Knight, R. (2002). Clinical features of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Reviews in Medical Virology*, 12 (3), 143–150. doi: 10.1002/rmv.345

5. Theler, B., Brockow, K., Ballmer-Weber, B. (2009). Clinical presentation and diagnosis of meat allergy in Switzerland and Southern Germany. *Swiss Med Wkly.*, 139 (17-18), 264–270.

6. Restani, P., Ballabio, C., Tripodi, S., Fiocchi, A. (2009). Meat allergy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 9 (3), 265–269. doi: 10.1097/aci.0b013e32832aef3d

7. Fiocchi, A., Restani, P., Riva, E. (2000). Beef allergy in children. *Nutrition*, 16 (6), 454–457. doi: 10.1016/s0899-9007(00)00285-9

8. Werfel, S., Cooke, S., Sampson, H. (1997). Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 99 (3), 293–300. doi: 10.1016/s0091-6749(97)70045-9

9. Sharyfulyna, E. M., Zakyrova, K. V. (2015). Vopros vybora luchsheho korma dlya melkykh domashnykh zhyvotnykh. *Science Time*, 12, 862–867.

10. Hohrin, S. N. (2001). Kormlenie sobak. Sankt-Peterburg: Lan', 192.
11. Raditic, D. M., Remillard, R. L., Tater, K. C. (2010). ELISA testing for common food antigens in four dry dog foods used in dietary elimination trials. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 95 (1), 90–97. doi: 10.1111/j.1439-0396.2010.01016.x
12. Wintero, A. K., Thomsen, P. D., Davies, W. (1990). A comparison of DNA-hybridization, immunodiffusion, counter-current immunoelectrophoresis and isoelectric focusing for detecting the admixture of pork to beef. *Meat Science*, 27 (1), 75–85. doi: 10.1016/0309-1740(90)90030-a
13. López-Andreo, M., Lugo, L., Garrido-Pertierra, A., Prieto, M. I., Puyet, A. (2005). Identification and quantitation of species in complex DNA mixtures by real-time polymerase chain reaction. *Analytical Biochemistry*, 339 (1), 73–82. doi: 10.1016/j.ab.2004.11.045
14. Kesmen, Z., Sahin, F., Yetim, H. (2007). PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages. *Meat Science*, 77 (4), 649–653. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.05.018
15. Laube, I., Spiegelberg, A., Butschke, A., Zagon, J., Schauzu, M., Kroh, L., Broll, H. (2003). Methods for the detection of beef and pork in foods using real-time polymerase chain reaction. *International Journal of Food Science and Technology*, 38 (2), 111–118. doi: 10.1046/j.1365-2621.2003.00651.x
16. Spirydonov, V. H., Ishchenko, L. M., Mel'nychuk, S. D. (2010). Identyfikatsiya DNK tvarynnoho pokhodzhennya v m"yasnykh produktakh ta kormakh, shcho zaznaly termichnoyi obrobky. *Prodovol'cha industriya APK*, 3-4, 39–43.
17. Boom, R., Sol, C. J., Salimans, M. M. et. al. (1990). Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of clinical microbiology*, 28 (3), 495–503.
18. Li, J., Makrigiorgos, G. M. (2007). Anti-primer quenching-based real-time PCR for simplex or multiplex DNA quantification and single-nucleotide polymorphism genotyping. *Nature Protocols*, 2 (1), 50–58. doi: 10.1038/nprot.2007.11

Дата надходження рукопису 04.10.2016

Іщенко Людмила Мар'янівна, кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: ischenko_lm@ukr.net

Шинкаренко Лариса Миколаївна, провідний інженер, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: IBK_line@mail.ru

Андрєєв Ілля Володимирович, науковий співробітник, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: vmdd1@ukr.net

Калакайло Любов Іванівна, провідний інженер, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: kalakajlo92@mail.ru

Іщенко Вадим Дмитрович, кандидат ветеринарних наук, доцент, кафедра фармакології та токсикології, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: ischenko_vd@nubip.edu.ua

Спирідонов Владислав Геннадійович, доктор сільськогосподарських наук, завідувач відділу, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: spirydonov@ukr.net