

*С.Т. ДАУГАЛИЕВА, З.А. ЛАТЬПОВА, А.А. КЕРИМБАЕВА*

## **ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ КАЧЕСТВА МЯСНОЙ ПРОДУКЦИИ ПО ВИДОВОМУ СОСТАВУ**

*ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», г. Алматы*

Целью работы явилось определение роли полимеразной цепной реакции при определении качества мясной продукции.

В основе метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) лежит амплификация специфического участка ДНК за счет многократного повторения циклов денатурации в исследуемой пробе, отжига специфических олигонуклеотидных затравок (праймеров) и синтеза комплементарных цепей ДНК с помощью фермента Таq-полимеразы.

Методика ПЦР может быть использована при определении качества мясной продукции по видовому составу.

Выводы: при определении видового состава мясной продукции с целью предотвращения фальсификации использование метода ПЦР является наиболее перспективным.

Безопасность и польза пищевой продукции имеют первостепенное значение для каждого потребителя и общества в целом. Рост производства продуктов питания приводит к увеличению риска попадания на рынок товаров ненадлежащего качества. Вступление нашей Республики в Таможенный Союз и предстоящее вступление в ВТО приведет к возрастанию потока товаров импортных производителей, нетрадиционных для отечественного рынка, что вызовет необходимость в осуществлении контроля за их качеством, в том числе по белковому составу. Ситуация также осложняется значительным количеством отечественных предприятий, изготавливающих продукцию по собственным рецептограммам, что увеличивает вероятность попадания на рынок мясных товаров с ассортиментной или качественной фальсификацией. В погоне за прибылью многие производители снижают цену своей продукции за счет качества сырья, производственного процесса, в результате чего страдают потребительские свойства выпускаемой продукции. Поэтому защита отечественного рынка от некачественной продукции и обеспечение населения полноценными продуктами питания является одним из главных направлений развития экономики страны.

При ветеринарно-санитарной экспертизе мясных продуктов используются методы органолептического, физико-химического и микробиологического контроля, которые дают возможность определить свежесть и безопасность мясного сырья и готовых мясных изделий. Но с помощью данных методов нельзя решить не менее важную задачу, возникающую в практике определения качества мясной продукции - установление видовой принадлежности мясных товаров.

Замена одного вида мяса другим является фальсификацией, что может представлять в некоторых случаях угрозу здоровью населения за счет дефицита полноценного белка, с другой стороны, имеет эстетические и религиозные аспекты.

Эффективность тех или иных методов идентификации зависит от различных технологических воздействий на мясо (высокой и низкой температур, длительности хранения и т.д.), что может существенно влиять на чувствительность и специфичность анализа. Применение химических, физико-химических и биохимических методов позволяет получить только часть необходимой информации о качестве мясопродуктов. В мировой практике для выяснения состава пищевых продуктов опробованы различные методы: иммуноферментного анализа (ELISA), хроматографического анализа, обладающих высокой чувствительностью и быстрой исполнения [1,2]. Однако термическая обработка продуктов при 80 °C в течение 30 мин, при 100 °C - 20 мин, или 121 °C - 10 мин, отрицательно влияет на чувствительность и специфичность данных методов и не позволяет выявлять в образцах примеси отдельных видов мяса в количестве менее 20% [3,4]. Кроме того, с помощью ELISA оказалось невозможным дифференцировать мясо близкородственных видов животных и птицы, что снижает надежность применения данного метода [1]. Гистологический метод прямого определения состава сырья позволяет судить о составе

продукта в целом и дифференцировать особенности тканевых и клеточных структур. Однако этот метод трудоемок и требует специального оборудования, что вызывает определенные трудности его использования [5]. Использование иммунологических методов исследования: РА, РП, РИД и ИФА, не всегда достигает цели, так как эти методы не позволяют надежно выявить наличие подложного мяса, содержащегося в количестве менее 10-20% от общей массы продукта. Более того, указанные методы практически не пригодны для исследования мясного сырья близкородственных видов животных и мясных продуктов, прошедших термическую обработку выше 48-57С [6].

Наиболее перспективными для контроля качества сырья и продуктов животного происхождения являются методы ДНК-диагностики в особенности, метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ее разновидности.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) представляет собой селективную амплификацию (многократное воспроизведение) целевого фрагмента дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) определенного организма. Метод основан на уникальной способности ДНК к самовоспроизведению – репликации, включающей расплетение двойной спирали ДНК, расхождении ее нитей и достраивание на них дочерних цепей по принципу комплементарности. При этом синтез может начаться не в любой точке последовательности ДНК, а только в определенных стартовых блоках. Суть метода ПЦР заключается в том, что маркировав такими блоками (искусственно синтезированными) специфический участок ДНК, можно добиться синтеза дочерних цепей только в этом конкретном участке. В результате происходит увеличение количества копий специфического фрагмента в геометрической прогрессии, что дает возможность определять единичные клетки в исследуемой пробе.

В последние годы ПЦР успешно применяют при разработке методов установления видовой принадлежности ингредиентов мясной продукции. Большинство разработанных тест систем обладают значительной чувствительностью, позволяющей определять примеси мяса отдельных видов животных в количестве от 0,1 до 1% от общей массы продукта. Однако для применения их с целью экспертизы пищевых продуктов и внедрения в практику экспертных лабораторий необходима разработка и стандартизация оптимальных условий экстракции ДНК из нативных и термообработанных продуктов, совершенствование имеющихся тест-систем и разработка отечественных из-за дороговизны зарубежных наборов.

Работа в этом направлении начата в текущем году на базе лаборатории пищевой безопасности ТОО «КазНИВИ». При этом исполнителями планируется получение специальных праймеров (олигонуклеотидные цепочки, комплементарные определенной последовательности и фрагмента ДНК выявляемого материала) для определения видовой принадлежности мясного сырья в готовой мясной продукции.

Таким образом, как видно из приведенных данных, метод ПЦР анализа является перспективным, наиболее чувствительным и специфичным при оценке качества мясной продукции при определении видового состава ее ингредиентов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Chen F.C., Hsieh Y.H. Detection of pork in heat-processed meat products by monoclonal antibody-based ELISA // J. AOAC Int. 2000, v. 83, p.79-85.
- Cruickshank P. A, Sheehan J.C. The gas chromatography of methyl ether from amino acids. // Analyt. Chem., v. 36, 1964, №7, p. 1191-1197.
- Езерская Е.Я. Анализ видовой принадлежности мяса и мясопродуктов // Ветеринария, № 6. М., 2001. - С.45.
- Ilhak O.L., Arslan A. Identification of meat species by polymerase chain reaction technique. Turk.J. Sci. – 2007; 31 (3) p. 159-163.
- Хвыля С.И. Микроструктурный анализ, идентификация и фасильфикация мясных продуктов // Пищевая промышленность, № 5. 1998. С. 68-69.

6 Родин В.И. Сравнительная оценка методов ветеринарно-санитарного контроля пищевого сырья и готовых продуктов // Материалы международной научно-технической конференции «Пищевой белок и экология». М.: 2000. С. 188-189.

#### LITERATURA

- Chen F.C., Hsieh Y.H. J. AOAC Int. 2000, v. 83, p.79-85 (in English)
- Cruickshank P. A, Sheehan J.C. Analyt. Chem., v. 36, 1964, №7, p. 1191-1197 (in English)

- 3 Ezerskaja E.Ja. *Veterinarija*, № 6. M., 2001. - S.45. (in Russ.)  
4 Ilhak O.L., Arslan A. *Turk.J. Sci.* 2007; 31 (3) p. 159-163 ( in English)  
5 Hvylja S.I. *Mikro Piwevaja promyshlenost'*, № 5. 1998. S. 68-69 (in Russ.)  
6 Rodin V.I. *Materialy mezhdunarodnoj nauchno-tehnicheskoy konferencii «Piwevoj belok i jekologija»*. M.: 2000. S. 188-189 (in Russ.)

ӨОЖ 61: 05-16/186  
ДАУГАЛИЕВА С.Т., ЛАТЫПОВА З.А., КЕРИМБАЕВА А.А.

**ТҮРЛІК ҚҰРАМЫ БОЙЫНША ЕТ ӨНІМДЕРІНІҢ САПАСЫН ПОЛИМЕРАЗДЫ ТІЗБЕКТІ РЕАКЦИЯ ӘДІСІН ҚОЛДАНУЫП АНЫҚТАУ**

«Казақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖПС  
Алматы қ.

**Резюме**

Ет өнімдерінің сапасын анықтауда полимеразды тізбекті реакциясының ролін анықтау – жұмыстың мақсаты.

Полимеразды тізбекті реакция (ПТР) әдісінің негізі зерттелетін сынамадағы денатурация кезеңінің бірнеше рет қайталану есебінен ДНҚ-ның өзіне тән аймағының амплификациясы, өзіне тән олигонуклеидті шүршілердің (праймерлердің) ондеуі және Тақ-полимераза ферментінің комегімен ДНҚ-ның комплементті тізбектерінің синтезі болып табылады.

Түрлік құрамы бойынша ет өнімдерінің сапасын анықтау кезінде ПТР әдістемесі қолданылуы мүмкін.

**Корытынды:** жалғандығын болдырмау мақсатында ет өнімдерінің түрлік құрамын анықтауда ПТР әдісін пайдаланудың келепегі зор.

UDC 61:05-16/186  
DAUGALIYEVA S. T., LATYPOVA Z.A., KERIMBAYEVA A.A.

**METHOD APPLICATION CHAIN REACTION BY POLIMERAZE CHAIN REACTION AT DETERMINATION OF QUALITY OF MEAT PRODUCTION ON SPECIFIC STRUCTURE**

LP "Kazakh Research Veterinary Institute", Almaty

**Summary**

The purpose of work was definition of a role of polimeraze chain reaction at determination of quality of meat production.

At the heart of a method of polimeraze chain reaction (PCR) amplification of a specific site of DNA at the expense of repeated repetition of cycles of a denaturation in studied test, annealing of specific oligonukleotidny primings (pраймер) and synthesis of complementary chains of DNA by means of Taq-polimerazy enzyme lies.

The technique of PCR can be used at determination of quality of meat production on specific structure.

Conclusions: at definition of specific structure of meat production for the purpose of falsification prevention use of a PCR method is the most perspective.

**Сведения об авторах:**

**Даугалиева С.Т.** – ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», кандидат ветеринарных наук. saule.daugalieva@mail.ru

**Латыпова З.А.** – старший научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», кандидат биологических наук. zalinal@list.ru

**Керимбаева А.А.** - младший научный сотрудник лаборатории пищевой безопасности ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт».