

Таким образом, анализ современных положений физиологии и биохимии питания позволяет сформулировать требования к пищевым продуктам. Согласно концепции сбалансированного питания, для нормальной жизнедеятельности человека необходимо не только поступление в организм таких важных компонентов пищи как незаменимых аминокислот (изолейцина, лейцина, лизина, метионина в сумме с цистином, фенилаланина в сумме с тирозином, триптофана, треонина, валина), полиненасыщенных жирных кислот (линолевой, линоленовой и арахидоновой), минеральных солей (фосфора, магния, кальция и др.), витаминов (А, Е, В1 В2, В6, В12, РР и др.), но и обеспечение определенных соотношений между ними. В то же время, согласно теории адекватного питания, питание должно быть не только сбалансированным, но и адекватным, т. е. содержащим балластные вещества и соответствующим возможностям организма.

#### **Библиографический список**

1. Покровский А.А. Беседы о питании/А.А. Покровский. - М.: Экономика, 1964. - 292 с.
2. Уголев, А.М. Естественные технологии биологических систем/А.М. Уголев. - Л.: Наука, 1987. - 347 с.
3. Уголев, А.М. Теория адекватного питания и трофология/А.М. Уголев. - С.-Пб.: Наука, 1991. - 272 с.

#### **THEORY OF ADEQUATE NUTRITION OR REQUIREMENTS OF FOOD COMPOSITION**

Antypkina Ya.Yu., Fedina A.V., Feoktistova N.A., Vasilev D.A.

This article describes the theory of adequate nutrition, proposed in the late twentieth century, AN Ugolev. We describe the qualitative and quantitative characteristics of nutrients entering the body with food. Proved vital role of dietary fibers, particularly dietary fiber in the metabolic cesses.

УДК 619:614.31:637

#### **ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЯСА**

Сульдина Е.В., 5 курс, факультет ветеринарной медицины  
Научные руководители: Колбасова О.Л., к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник ГНУ ВНИИВВиМ,  
Мерчина С.В., к.б.н., доцент кафедры МВЭиВСЭ  
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА»

Замена одного вида мяса другим является фальсификацией. Она может представлять, в некоторых случаях, угрозу жизни и здоровья, а также имеет эстетические и религиозные аспекты.

В связи с этим актуальным становится вопрос о необходимости идентификации мяса.

Идентификация продукции согласно закону «О техническом регулировании» является одним из основных элементов подтверждения соответствия, позволяет предотвратить фальсификацию продукции и обман потребителя [4].

Цель идентификации - определить и подтвердить подлинность товара конкретного вида и наименования, в том числе его соответствие определенным требованиям и информации, указанной на этикетке или в товарно-сопроводительных документах.

При идентификации мяса и используются различные методические подходы, основанные на органолептических показателях [Хуршудян С.А., Смирнова Е.А., Чернуха И.М., Кузнецова Т.Г., 2008; Ткаль В.А., Окунев А.О., 2007]; иммуноферментном анализе [Самуйленко А.Я., Кузнецов Д.П., 2005; Лушников, К.В., Патрушев М.В., 2004; Ayaz N.D, Erol I., 2006; von Holst C. et al., 2006]; хроматографическом анализе [Астахов, А.В., Глазырин Е.М., 2007; Bellowini S. et al., 2005]; биохимических [Светличкин В.В., Писарева В.М., Кононенко А.Б., 2004; Bermudo-Redondo, M.C. et al., 2005] и гистологических исследованиях, которые позволяют судить как о продукте в целом, так и дифференцировать особенности тканевых и клеточных структур [Хвыля С.И., Паршенкова Р.Р., 2008] [1,2,3].

В последнее же время широкое распространение получили молекулярно-генетические методы идентификации. Наиболее известным и эффективным из них стал метод полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В виду этого **целью** нашей работы являлось определение видовой принадлежности мяса различных видов животных методом полимеразной цепной реакции.

Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Выделить нуклеиновые кислоты из исследуемых проб мяса.
2. Провести полимеразную цепную реакцию анализируемых образцов.
3. Провести электрофоретический анализ полученных ПЦР-продуктов.

Для начала работы нами было отобрано 4 пробы мяса различного видового происхождения: крольчатина (1), свинина (2), говядина (3), баранина (4). В качестве контрольных образцов использовали кровь животных, находящихся в секторе подготовки подопытных животных ГНУ ВНИИВВиМ.

Из анализируемых проб готовили 10% суспензию. Для этого в керамической ступке с помощью пестика гомогенизировали 5 г пробы и 45 мл питательной среды. Однородности суспензии добивались добавлением стерильного песка.

Для выделения ДНК из образцов мяса была использована методика лизиса на основе гуанидинтиоционата с последующей нуклеосорбцией ДНК на силикагеле.

При постановке ПЦР, в качестве диагностических мишеней, нами были использованы: для идентификации крупного рогатого скота и овцы область гена *сytb*, для идентификации свиньи, кролика, собаки, кошки, и лошади область гена *COI*. К данным участкам генов митохондриальной ДНК уже

имелись подобранные видоспецифические праймеры и зонды. В качестве внутреннего контроля исследуемого образца служил консервативный участок 18S рибосомальной ДНК, который высокогомологичен среди эукариот.

Для проведения ПЦР использовали программируемый термоциклер RotorGene 6000 (Corbett Research, Австралия). Постановку полимеразной цепной реакции проводили в микропробирках емкостью 0,2 мл [5].

Состав смеси для проведения ПЦР:

- бидистиллированная вода - 5,8 мкл
- 5X буфер для ПЦР - 5 мкл
- MgCl<sub>2</sub> (25 мМ) - 1 мкл
- dNTP (25 мМ) - 0,5 мкл
- Taq ДНК-полимераза - 0,2 мкл
- смесь праймеров и зонда (10 пкМ праймеров, 5 пкМ зонда) - 2,5 мкл
- ДНК - матрица - 10 мкл

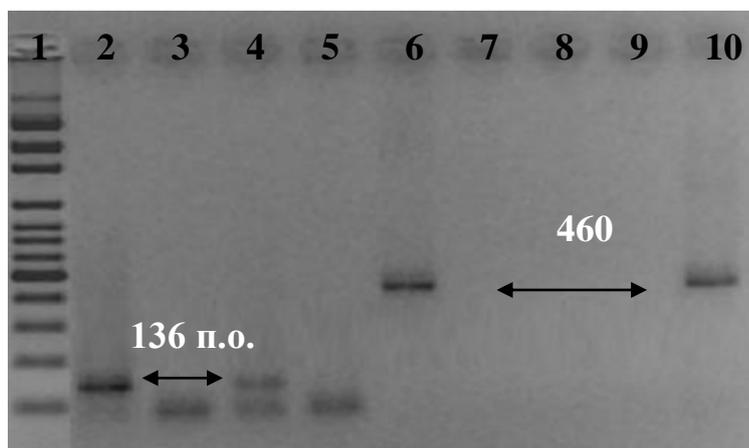
Пробирки с готовой ПЦР-смесью встряхивали на смесителе, все капли со стенок осаждали центрифугированием в течение 5-10 сек.

Переносили пробы в амплификатор и проводили ПЦР при следующих температурных режимах:

- активация TaqF-полимеразы при 95<sup>0</sup>С - 5 мин
- денатурация при 95<sup>0</sup>С- 20 сек;
- отжиг при 60<sup>0</sup>С-20 сек.,
- элонгация при 72<sup>0</sup>С – 20 сек. } I этап в течение 5 циклов
- денатурация при 95<sup>0</sup>С- 20 сек;
- отжиг при 60<sup>0</sup>С-20 сек., учет сигнала
- элонгация при 72<sup>0</sup>С - 20 сек. } II этап - 35 циклов

Параллельно с исследуемыми образцами ставили отрицательный контрольный образец (с деионизованной водой). Смесь для контрольного образца готовили по той же прописи, что и для анализируемых образцов.

Учет результатов осуществляли отдельно по каждому из каналов, в соответствии с инструкцией к прибору.



Треки:  
 1- маркер  
 молекулярной массы  
 (до 3000 п.н.); 2 –  
 K+Oc(136 п.о.); 3 – 1  
 Ss; 4 – 1 Oc (размер  
 136 п.о.); 5 – 2 Oc; 6 –  
 2 Ss (размер 460 п.о.);  
 7 – 1 Fc; 8 – 1 Cf; 9 – 2  
 Cf; 10 – K+Ss (460 п.о.)

Рис.1 Электрофореграмма ПЦР-продуктов проб №1 и №2

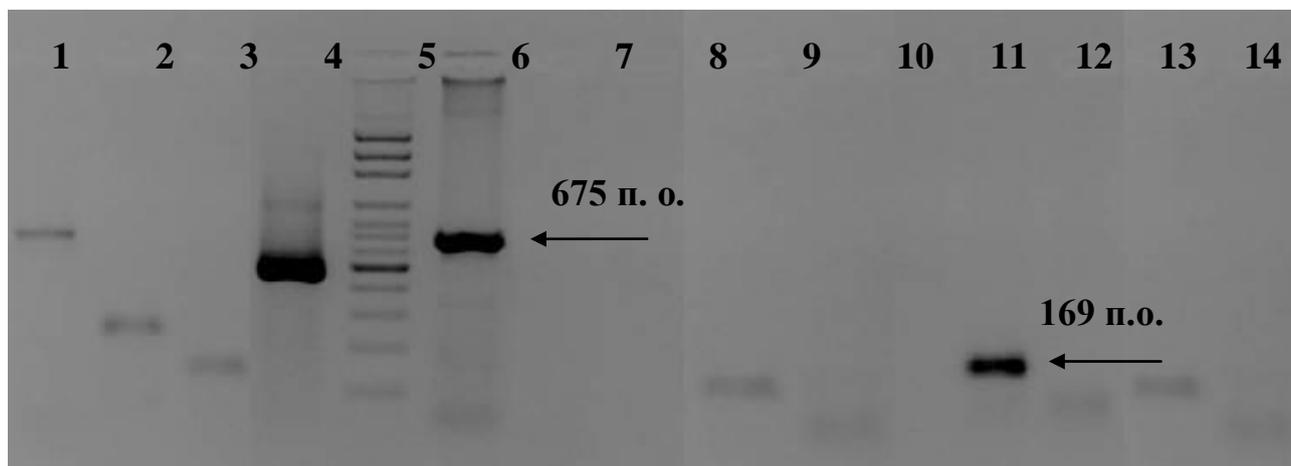


Рис.2 Электрофореграмма ПЦР-продуктов проб №3 и №4

Треки: 1- K+Bt(675 п.о.); 2 – K+Ec(243 п.о.); 3 – K+Oa(169 п.о.); 4 – K+ Ss(460 п.о.); 5 - маркер молекулярной массы (до 3000 п.н.); 6 – 3 Bt(размер 675 п.о.); 7 - 3 Oa; 8 – 3 Ss; 9 – 3 Ic(143 п.о.); 10 – 3 Ec; 11 – 4 Bt; 12 – 4Oa(размер 169 п.о.); 13 – 4 Ss; 14 – 4 Ic (143 п.о.); 15 – 4 Ec.

Анализ ПЦР-продуктов реакции осуществляли при помощи электрофореза. Электрофоретическую оценку проводили в 2%-ном агарозном геле, для приготовления которого смешивали 2 г. агарозы и 100 мл ТАЕ-буфера. Смесь помещали в микроволновую печь и доводили до кипения. Далее, в слегка охлажденную смесь добавляли 10 мкл 0,001 % бромистого этидия и тщательно перемешивали. Гель разливали в форму и устанавливали гребенки. В образовавшиеся в застывшем геле лунки вносили по 10 мкл ПЦР продуктов и 7 мкл маркера молекулярной массы. Электрофорез проводили используя Три-ацетатный буфер при напряжении 8 В/см длины геля в течение 40 минут.

Результаты электрофореза учитывали на трансиллюминаторе в ультрафиолетовом свете с длиной волны 254 нм. Амплифицированные фрагменты ДНК выявлялись в виде светящихся оранжевых полос в треках с исследуемыми образцами относительно фрагмента в пробе положительного контроля. Размеры исследуемых фрагментов ДНК вычисляли с помощью маркера молекулярной массы («Fermentas», Латвия). Сохранение полученных результатов проводили с помощью гель-документирующей системы «BioRad GelDoc XR» (рис.1, 2).

В ходе данной работы нам удалось выделить нуклеиновые кислоты из исследуемых образцов мяса: крольчатина, свинина, говядина, баранина. Методом полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией мы провели идентификацию анализируемых проб, и установить видовую принадлежность мяса.

Таким образом, в результате исследований нами была установлена видовая принадлежность 4 проб мяса - эти образцы полностью соответствуют наименованию, заявленному товаропроизводителем (мясо кролика, свинина, говядина, баранина).

#### Библиографический список

1. Гельгор В.И. Идентификация продуктов питания: проблем не стало меньше. // Пищевая промышленность. – 2009. №5. - С. 41-43.

2. Зайчик Б.Ц., Хуршудян С.А. Фальсификация пищевых продуктов в России история и современность // Пищевая промышленность. - 2009. – №8. -С. 22-25.
3. Курзина М.Н. Качество, безопасность, фальсификация мясной продукции // Пищевая промышленность. – 2006. № 4. - С. 75-76.
4. Лисицын А.Б., Веселова П.П. О техническом регулировании безопасности мяса и мясных продуктов // Мясная индустрия. 2004. - №11. -С. 28-30.1.1.
5. Методические рекомендации по определению видовой принадлежности клеточных культур методом полимеразой цепной реакции с детекцией в реальном времени (ПЦР-РВ): утв. отделением ветеринарной медицины РАСХН 24.11.2008. М. – 19 с. автор: К.В. Кулешов

### **APPLICATION OF MOLECULAR GENETIC ANALYSIS FOR SPECIES IDENTIFICATION OF MEAT**

Suldina E.V., Kolbasova O.L., Merchina S.V.

This work is devoted to species identification of four kinds of meat by the method of molecular-genetic analysis (polymerase chain reaction with electrophoretic detection). In conducting these studies, the authors found that the analyzed samples of the meat are fully consistent naming claimed producers (rabbit meat, pork, beef, lamb).

УДК 619:614.31:637

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ МЯСНОГО СЫРЬЯ В МЕЛКОИЗМЕЛЬЧЕННЫХ ПОЛУФАБРИКАТАХ И ГОТОВЫХ МЯСНЫХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ ДНК-ДИАГНОСТИКИ**

Сульдина Е.В., 5 курс, факультет ветеринарной медицины

Научные руководители: О.Л. Колбасова, к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник ГНУ ВНИИВВиМ, С.В. Мерчина, к.б.н., доцент кафедры МВЭиВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА»

В условиях формирования в России рыночной экономики, увеличение объема частного производства и свободной торговли продовольственными товарами, в том числе сырьем, полуфабрикатами и готовыми мясными продуктами, обуславливает возможность фальсификации продукции, как по структуре, так и по видовой принадлежности сырьевых составляющих. Так, например, при производстве мясных продуктов могут быть использованы мясо не убойных животных, субпродукты или растительные добавки. Таким образом продукция, благополучная по микробиологическим и приемлемая по органолептическим и химическим показателям, может не соответствовать заявленному составу или иметь низкое качество [1].

В связи с этим актуальным становится вопрос о необходимости идентификации, как мяса, так и сырьевых компонентов мясных продуктов.