

## Zastosowanie techniki PCR do weryfikacji autentyczności produktów wołowych i z wołowiną

### Streszczenie

Identyfikacja wołowiny w żywności pochodzenia zwierzęcego stanowi wyzwanie nie tylko w celu zapobiegania oszustwom handlowym, ale także w celu uniknięcia zagrożenia bezpieczeństwa wynikającego z obecności niedeklarowanego mięsa, które może być szkodliwe dla zdrowia. W niniejszym artykule przedstawiono protokół identyfikacji mięsa wołowego i wołowiny w produktach spożywczych. Przy użyciu klasycznej metody reakcji PCR uzyskano jednoznaczne potwierdzenie autentyczności wołowiny. Zaproponowana metoda pozwala wykryć obecność DNA wołowego również w próbkach poddanych obróbce cieplnej (smażenie, pieczenie, gotowanie). Zaobserwowano, że w czasie obróbki cieplnej nie zachodzą procesy, które denaturują DNA w sposób uniemożliwiający jego identyfikację.

**Słowa kluczowe:** wołowina, autentyczność, reakcja PCR

## Application of the PCR test to verify the authenticity of beef and beef products

### Summary

Identification of beef in food of animal origin is a challenge not only to prevent a commercial fraud, but also to avoid the safety risks of the presence of undeclared meat that may be harmful to health. This paper presents the protocol for the identification of beef and beef meat in food products. By using the classic PCR method, unambiguous confirmation of beef authenticity was obtained. The proposed method will detect the presence of beef DNA also in heat treated samples (frying, baking, cooking). It has been observed that during the heat treatment there are no processes that denature the DNA in such a way that it can not be detected.

**Key words:** beef, authenticity, PCR reaction

### Wprowadzenie

Potwierdzenie autentyczności użytych surowców w przetworzonej żywności pochodzenia zwierzęcego zostało uznane za ważny krok w ochronie konsumentów przed zafałszowaniami i nierzetelną informacją (Sentandreu i Sentandreu, 2014). Ustalenie autentyczności składników, przede wszystkim oznacza wykrycie nieprawidłowości, które determinują zgodne z prawem etykietowanie żywności. Najczęściej notowane zafałszowania dotyczą:

- zastępowania wskazanego na etykiecie mięsa surowcem innego gatunku (np.: wieprzowina zamiast wołowiny);
- zastępowania mięsa podrobami;
- zbyt dużego, niż wskazane, udziału dodatków roślinnych (np. białko sojowe, błonnik bambusowy, grochowy, skrobia ryżowa);
- niepoprawnego oznaczenia pochodzenia (szczególnie produkty PDO - chroniona nazwa pochodzenia i PGI - chronione oznaczenie geograficzne);
- metod hodowli/produkcji (np. produkty TSG - gwarantowana tradycyjna specjalność).

W ostatnich latach, w związku z globalizacją handlu, rozwojem wymiany towarowej oraz rozwojem nowych technologii przetwórstwa żywności, w sektorze rolno-spożywczym dochodzi do radykalnych zmian, które wymagają dokładnej charakterystyki łańcucha żywnościowego. W rzeczywistości globalizacja oznacza, że coraz więcej produktów spożywczych

sprzedawanych jest na całym świecie a łańcuch dostaw gwałtownie się wydłuża. Identyfikowalność stała się zatem kamieniem węgielnym unijnej polityki w zakresie bezpieczeństwa żywności. Jest podstawowym narzędziem zarządzania ryzykiem, które umożliwia przemysłowi spożywcemu oraz władzom wycofanie produktów uznanych za niebezpieczne lub niespełniające określonych norm.

Oszustwa handlowe związane z mięsem wołowym, zawierającym mięso innego gatunku np. wieprzowe, należy oceniać ze względów ekonomicznych, religijnych oraz zdrowotnych (Safdar i in., 2014). Wraz ze wzrostem produkcji mięsa drobiowego i wieprzowego, oraz różnorodnością oferowanych produktów mięsnych zwiększają się szanse skażenia (zafałszowania) mięsa wołowego i produktów z niego wytworzonych (Ayaz i in., 2006).

Sektor wołowiny był pierwszym obszarem unijnego prawa żywnościowego, w którym wprowadzono możliwość śledzenia. Był to bezpośredni skutek kryzysu związanego z encefalopatią gąbczastą bydła w latach 90-tych ubiegłego wieku. Ustanowiono system identyfikacji i rejestracji bydła oraz etykietowania mięsa wołowego i produktów z mięsa wołowego (rozp. 1760/2000/WE). „Możliwość śledzenia” (traceability), czyli możliwość kontrolowania przemieszczania się żywności lub substancji przeznaczonej do dodania bądź takiej, która może być dodana do żywności, na wszystkich etapach produkcji, przetwarzania i dystrybucji została obli-

gatoryjnie wprowadzona na obszarze UE z dniem 1 stycznia 2005 r. (rozp. 178/2002/WE). Ponadto, od dnia 1 kwietnia 2015 r. podmioty działające na rynku spożywczym są zobligowane wprowadzić i stosować system identyfikacji i rejestracji na każdym etapie produkcji i dystrybucji mięsa uzyskanego ze świń, owiec, kóz i drobiu (rozp. 1337/2013/WE).

W związku z tym, koniecznym stało się opracowanie skutecznej metody wykrywania i jednoczesnej identyfikacji gatunków mięsa w celu monitorowania nieprawidłowych, niespełniających norm produktów handlowych. Takie działania pozwoli na gwarantowanie uczciwych praktyk w handlu oraz ochronę interesów konsumenta.

## Cel badań

Celem pracy było ustalenie protokołu identyfikacji mięsa wołowego przy zastosowaniu techniki łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). Ponadto postanowiono przetestować na wybranych produktach spożywczych, zawierających w składzie (wg deklaracji producenta) mięso wołowe, w celu sprawdzenia przydatności testu w rutynowych kontrolach

## Materiał i metoda

Produkty spożywcze poddane analizie należały do różnych grup towarowych. Analizowane produkty pochodziły z kilku źródeł i obejmowały:

- produkty pobrane na terenie całej Polski przez inspektorów Wojewódzkich Inspektoratów Inspekcji Handlowej w ramach podpisanej umowy o współpracy z Urzędem Ochrony Konkurencji i Konsumentów w Warszawie;
- produkty dostarczone przez zakład przetwórstwa mięsnego (ubój i przetwórstwo bydła mięsnego) w ramach podpisanej umowy o współpracy;
- produkty zakupione w punktach sprzedaży detalicznej usytuowanych na terenie województw zachodniopomorskiego i lubuskiego.

W sumie analizie poddano 81 produktów mięsnych zaliczonych do 4 grup towarowych (tab. 1). Analizowane próbki były poddane różnym procesom obróbki technologicznej.

Tab. 1. Produkty mięsne poddane analizie

Tab. 1. Tested meat products

Lp	Grupa towarowa; Commodity group	Liczba przebadanych produktów; Number of tested products
1	Mięso mielone Minced meat	12
2	Wyroby wędliniarskie Meat products	33
3	Konserwy mięsne, pasteryzowane i sterylizowane Sterilized and pasteurized canned meat	19
4	Przetwory mięsne paczkowane, plasterkowane i porcjowane Pre-packaged, sliced and portioned meats	17
5	<b>Razem No. of tested products</b>	<b>81</b>

W przypadku badań molekularnych bardzo istotne jest zachowanie jak najwyższej ostrożności i staranności w wykonywaniu analiz. Mając na uwadze bardzo wysoką czułość stosowanej techniki, w celu zapobieżenia przypadkowym kontaminacjom, stosowano zalecenia zgodne z 'Quality Assurance/Quality Control Guidance for Laboratories Performing PCR Analyses on Environmental Samples' (EPA, 2004), oraz 'Good Laboratory Practice when Performing Molecular Amplification Assays' (PHE, 2013). Aby wyeliminować powstawanie kontaminacji podczas prowadzenia analiz molekularnych wprowadzono próby kontrolne wg PN-EN ISO 24276:2007 i wg zaleceń Laboratorium Referencyjnego Unii Europejskiej (EURL-AP) dla białek zwierzęcych w paszach.

## Izolacja materiału genetycznego

Jałowym, jednorazowym skalpelem pobrano materiał w ilości  $25 \pm 0,2$  g. Odważoną próbkę przeniesiono do jałowego moździerza i homogenizowano. Z tak przygotowanej próbki pobierano naważkę o masie  $0,2 \pm 0,05$  g i przenoszono do 2 mL probówki typu eppendorf. Następnie przeprowadzono izolację DNA używając zestawu Genomix Mini AX Food (A&A Biotechnology, Polska) zgodnie z załączonym do zestawu protokołem, modyfikując czas i temperaturę enzymatycznej lizy analizowanego materiału. Uzyskany osad DNA zawieszono w 50  $\mu$ L buforu Tris (10mM, pH 8,5). W ten sposób uwodnione DNA umieszczono w temperaturze 4°C na 24 godziny, a następnie przechowywano w temp - 32°C do czasu właściwych analiz.

## Określenie stężenia izolowanego DNA

W żywności, szczególnie wieloskładnikowej, mogą występować różnego pochodzenia związki organiczne, które mogą inhibować reakcje enzymatyczne, w tym reakcję PCR. Również podczas ekstrakcji kwasów nukleinowych używa się rozpuszczalników organicznych (alkohole) oraz soli (np. chlorek lub izotiocyanian guanidyny, efektywnie denaturujący białka), które także mogą wpływać ujemnie na uzyskane wyniki. Aby określić czystość i ilość wyizolowanego materiału genetycznego przy pomocy spektrofotometru NanoDrop 1000ND (Thermo Scientific, USA) wykonano pomiar stężenia DNA. Ustalając stosunek absorpcji  $A_{260}$  do  $A_{280}$  oceniono zanieczyszczenie uzyskanego materiału białkami. Do dalszych analiz przeznaczono próbki, w których ilość uzyskanego materiału genetycznego wynosiła od 100 - 250 ng/ $\mu$ L, przy współczynniku absorpcji ( $A_{260}/A_{280}$ ), w przedziale 1,8 - 1,95.

## Startery i warunki reakcji PCR

Startery do identyfikacji gatunkowej wołowiny zaprojektowano samodzielnie, wykorzystując opublikowane sekwencje nukleotydów w GenBanku (<http://ncbi.nlm.nih.gov>). Wykorzystano konserwatywną sekwencję kodującą cytochrom b w mtDNA (GenBank accession: GQ358783.1). Do projektowania starterów wykorzystano program Primer 3 ([http://biotools.umassmed.edu/bioapps/primer3\\_www.cgi](http://biotools.umassmed.edu/bioapps/primer3_www.cgi)) Po wstępnej analizie wybrano dwa startery (tab. 2), których podobieństwo do występujących w bazach danych, znanych sekwencji nukleotydowych, sprawdzono przy pomocy algorytmu BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Tab. 2. Sekwencje starterów wykorzystane w analizie molekularnej

Tab.2. Species-specific primers sequences used in PCR

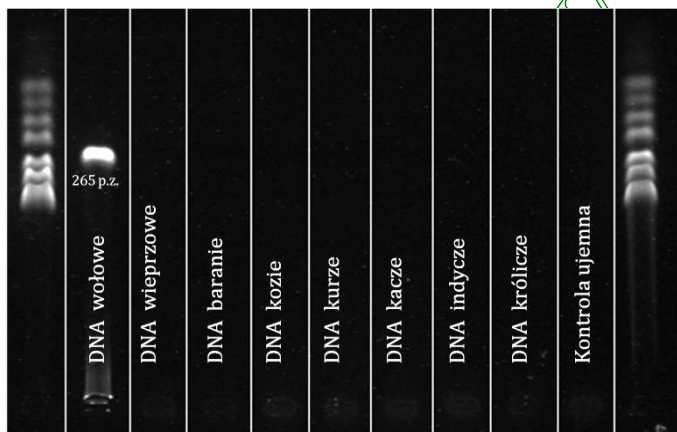
Lp	Gatunek; Species	Sekwencja starterów (5'-3'); Primer sequence (5'-3');	Miejsce identyfikacji; Place of identification	Amplikon (p.z.)
1	<i>Bos taurus</i> (forward)	agcaacccttaccggattct	cytb mt DNA	265
2	<i>Bos taurus</i> (reverse)	attggccgggtgtagtatt		

Ponadto, specyficzność starterów sprawdzono wykorzystując matryce DNA wołowego, wieprzowego, baraniego, koziego, drobiowego (kurzego, kaczego i indyczego) i króliczego (rys. 1).

Do każdej przeprowadzonej reakcji PCR, w celu weryfikacji wiarygodności analizy, wprowadzono:

- kontrolę dodatnią, którą stanowił wzorec wołowiny (DNA wołowy),
- kontrolę ujemną, którą stanowiło DNA świni (*Sus scrofa f. domestica*),
- kontrolę ujemną, w której zamiast DNA użyto wody wolnej od nukleaz.

Reakcję PCR prowadzono w objętości 25µL mieszaniny reakcyjnej zgodnie z metodyką opisaną przez Sawicki (2016). Wykorzystując gradient temperatur w termocyklerze Mastercycler Gradient (Eppendorf, Niemcy) ustalono optymalną temperaturę przyłączania starterów na 60°C. Profil termiczny składał się z następujących etapów: wstępna denaturacja 94°C/5 min, oraz 35 cykli obejmujących denaturację 94°C/30 s, annealing starterów – 60°C/40s i amplifikacja – 72°C/40s. Ustalony program kończył się 5 minutową amplifikacją w temperaturze 72°C.



Rys. 1. Specyficzność zaprojektowanej pary starterów

Fig. 1. Species-specific primers

### Rozdział uzyskanych produktów reakcji PCR

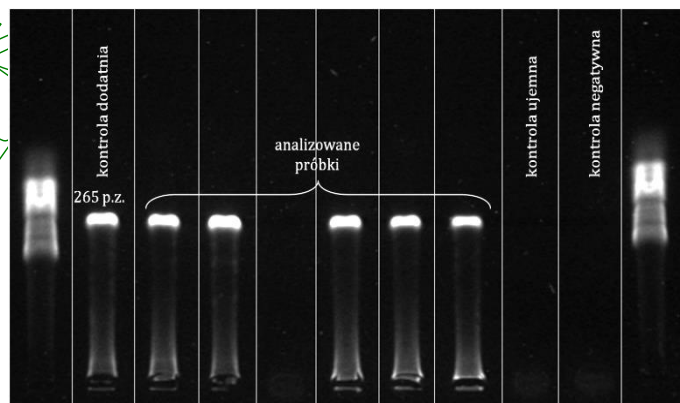
Uzyskane produkty reakcji – amplikony, rozdzielano elektroforetycznie w 1,5% żelu agarozowym (Prona, Belgia), barwionym wewnątrznie bromkiem etydyny (Bio-Rad, USA) (1µg/mL). Ostatnim etapem była wizualizacja żelu w świetle UV (GelDoc 2000 Bio-Rad, USA) i archiwizacja otrzymanych elektroforegramów.

## Wyniki i ich omówienie

W pierwszym etapie badania ukierunkowano na stworzenie procedury pozwalającej na uzyskanie materiału genetycznego z produktów spożywczych, które poddane były różnym procesom technologicznym. Ponieważ stosowane technologie przetwórstwa mięsnego mogą powodować, że w produktach wysoko przetworzonych dochodzi do istotnych zmian struktur tkankowych i molekularnej denaturacji oraz degradacji białek i DNA (Sawicki i in., 2004; Ballin, 2010), stąd też tak duży nacisk położono na część metodologiczną.

Jak pokazały uzyskane wyniki, przy zastosowaniu opracowanej procedury izolacji i przy zachowaniu opisanych środków ostrożności, udało się wyizolować z każdego badanego produktu DNA, które z powodzeniem posłużyło do analizy gatunkowej z wykorzystaniem techniki PCR. Jak pokazują dane literaturowe, dobicie odpowiedniej metodyki i poprawne jej przeprowadzenie jest kluczowym elementem analizy identyfikacji składników żywności (Ballin, 2009; Kitpipit i in., 2014).

Kolejnym etapem było stwierdzenie obecności mięsa wołowego w produktach poddanych analizie. Obecność wołowiny stwierdzona została w siedemdziesięciu dziewięciu przypadkach (97,5%). W przypadku jednej wędliny, w której deklarowany przez producenta udział mięsa wołowego był na poziomie 8% nie potwierdzono tego faktu. Podobnie nie udało się potwierdzić obecności DNA wołowego w przypadku jednej z analizowanych konserw mięsnych (rys. 2).



Rys. 2. Przykładowy wynik identyfikacji wołowiny w wybranych produktach

Fig. 2. Identification of beef in meat products

Przydatność-wykorzystania techniki PCR w procesie identyfikacji składników żywności pochodzenia zwierzęcego, potwierdzili Qin i in. (2016), którzy również, wykorzystując konserwatywny fragment cytb w mtDNA zidentyfikowali poprawnie obecność mięsa wołowego poddanego obróbce termicznej (gotowane, sterylizowane w autoklawie, oraz smażone). Podobnie postąpili Musto i Satriano (2010), którzy także przy użyciu starterów identyfikujących konserwatywną sekwencję mitochondrialnego DNA zidentyfikowali obecność wołowiny w przetworzonych produktach spożywczych. Na skuteczność stosowania technik molekularnych w potwierdzaniu obecności mięsa wołowego wskazuje również Sawicki (2016), który jednocześnie podaje możliwe kierunki identyfikacji wołowiny, tj.:



- wołowina, jako jedyny lub podstawowy składnik;
- wołowina, jako jeden ze składników (poniżej 10% w produkcie);
- niedeklarowany dodatek (np. łój wołowy).

Jednocześnie wielu autorów podkreśla istotność tego typu analiz ze względu na zgłaszane przypadki zafałszowań produktów wołowych lub zawierających wołowinę (Kumar i in., 2015; Rahmati i in., 2016). Kotowicz i in., (2005) wskazują, że jednym z powodów występowania przypadków obecności na rynku produktów niezgodnych z podanym składem jest to, że producenci nierzadko „zagospodarowują” w produkcie finalnym mięso innych gatunków, niż deklarowane na etykiecie.

Ponadto, wołowina ze względu na znacznie wyższą cenę niż wieprzowina czy mięso drobiowe, jest „podatna” na zafałszowania. Podaż mięsa wołowego na rynku krajowym jest ściśle związana z ceną żywca i dostępnością paszy. Przy niskiej podaży tego mięsa producenci zapewne próbują zastępować je surowcem pochodzącym z innych gatunków. Na ten problem uwagę zwracali wcześniej Sawicki i Żochowska-Kujawska (2016), którzy wskazywali na przypadki zafałszowań produktów z cielęciny mięsem wieprzowym.

Problem nieprawidłowości (zafałszowań) o podłożu ekonomicznym, ze względu na postępującą globalizację handlu, jest problemem ogólnoswiatowym. Dla opisanego tego procederu przyjęto roboczą definicję EMA (economically motivated adulteration), zgodnie z którą są to oszukańcze, zamierzone działania mające na celu zastąpienie lub dodanie substancji w produkcie w celu zwiększenia pozornej wartości produktu lub obniżenia kosztu jego produkcji „z korzyścią ekonomiczną” (Johnson, 2014; Sawicki, 2014). Również w Polsce oszukańcze praktyki nie są rzadkością (Kowalska, 2016).

W walidacji metodologii badań przesiewowych opartych na testach molekularnych należy wziąć pod uwagę, że pozytywne (lub ujemne) wyniki mogą spowodować konieczność ponownego zdefiniowania wzorca. Zazwyczaj w podejściu jednoczynnikowym pozytywna reakcja zawsze oznacza obecność danego składnika. Jednakże rozpatrując sytuację identyfikacji niedeklarowanego dodatku, pozytywny wynik oznacza „obecność zafałszowania”. Dlatego też stosując technikę wykorzystującą reakcje PCR należy zdefiniować już na początku co zamierzamy osiągnąć. Obecnie szybko rozwijająca się baza danych sekwencji genów cytochromu b zwierząt hodowlanych i użytkowanych gospodarczo umożliwi projektowanie alternatywnych starterów dla wielu gatunków. Jednocześnie identyfikacja gatunkowa próbek wysoce przetworzonych może być wykonywana z powodzeniem, nawet jeśli mają być analizowane mieszaniny więcej niż jednego gatunku.

## Wnioski

Jak wskazują uzyskane wyniki technika PCR może być przydatną metodą identyfikacji wołowiny w rutynowych analizach. Dzięki opisanej powyżej procedurze metoda ta umożliwia wykrywanie wołowiny w produktach zawierających różne tkanki (mięśnie i tłuszcze) oraz poddane różnym obróbkom cieplnym. Ponadto opisany tutaj sposób identyfikacji

wołowiny może stanowić alternatywę dla istniejących obecnie metod wykrywania surowców w produktach mięsnych.

## Bibliografia

- Ayaz, Y., Ayaz, N.D., Erol, I. (2006). Detection of species in meat and meat products using enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Muscle Foods*, 17(2), 214-220. [doi.org/10.1111/j.1745-4573.2006.00046.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2006.00046.x).
- Ballin, N.Z. (2010). Authentication of meat and meat products. *Meat Science*, 86(3), 577-587. [doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.001](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.001).
- Ballin, N.Z., Vogensen, F.K., Karlsson, A.H. (2009). Species determination – Can we detect and quantify meat adulteration?. *Meat Science*, 83(2), 165-174. [doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.003](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.003).
- BLAST. *Basic local alignment search tool* [on line]. Dostęp (30.05.2017): (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).
- EPA. (2004). *Quality assurance/quality control guidance for laboratories performing pcr analyses on environmental samples*. Cincinnati, U.S. Environmental Protection Agency (EPA).
- EURL-AP. *Method of reference for the detection of animal proteins in feed* [on line]. Dostęp (30.05.2017): <http://eur.era.eu/index.php?page=187>.
- GenBank. *Genetic sequence database* [on line]. Dostęp (30.05.2017): <http://ncbi.nlm.nih.gov>.
- Johnson, R. (2014). *Food fraud and economically motivated adulteration of food and food ingredients*. w Food fraud and adulterated ingredients: background, issues, and federal action. (red.) Braden, D.T. Nova Science Publishers, New York, ISBN: 978-1-63117-731-6.
- Kitpipit, T., Sittichan, K., Thanakiatkrai, P. (2014). Direct-multiplex PCR assay for meat species identification in food products, *Food Chemistry*, 163(15), 77-82. [doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.062](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.062).
- Kowalska, A. (2016). Problem fałszowania żywności w Polsce. *Problemy Jakości*, 48(9), 28-35. [doi.org/10.15199/47.2016.9.4](https://doi.org/10.15199/47.2016.9.4).
- Kumar, A., Kumar, R.R., Sharma, B.D., Gokulakrishnan, P., Mendiratta, S.K., Sharma, D. (2015). Identification of species origin of meat and meat products on the DNA basis: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(10), 1340-1351. [doi.org/10.1080/10408398.2012.693978](https://doi.org/10.1080/10408398.2012.693978).
- Musto, M., Satriano, M.L. (2010). A multiplex PCR for the simultaneous detection of bovine and porcine DNA in meat products. (Una multiplex PCR per l'individuazione simultanea di DNA bovino e suino in prodotti carni) *Industria Alimentari*, 49(500), 13-19.
- PHE. (2013). *Good Laboratory Practice when Performing Molecular Amplification Assays*. Quality Guidance Q4, Issue no: 4.4. Londyn, Public Health England.
- PN-EN ISO 24276:2007. *Artykuły żywnościowe - Metody wykrywania organizmów zmodyfikowanych genetycznie i produktów pochodnych - Wymagania ogólne i definicje*.
- Primer 3. *DNA sequence analysis* [on line]. Dostęp (30.05.2017): (<http://biotools.umassmed.edu/bioapps/primer3> [www.cgi](http://www.cgi))

- Qin, P., Hong, Y. and Kim, H.-Y. (2016). Multiplex-PCR assay for simultaneous identification of lamb, beef and duck in raw and heat-treated meat mixtures. *Journal of Food Safety*, 36, 367–374. [doi.org/10.1111/jfs.12252](https://doi.org/10.1111/jfs.12252).
- Rahmati, S., Julkapli, N.M., Yehye, W.A., Basirun, W.J. (2016). Identification of meat origin in food products-A review. *Food Control*, 68, 379-390. [doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.013](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.013).
- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności.
- Rozporządzenie (WE) nr 1760/2000 Parlamentu Europejskiego i Rady z 17 lipca 2000 r. ustanawiające system identyfikacji i rejestracji bydła i dotyczące etykietowania wołowiny i produktów z wołowiny oraz uchylające rozporządzenie Rady (WE) nr 820/97.
- Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) nr 1337/2013 z dnia 13 grudnia 2013 r. ustanawiające zasady stosowania rozporządzenia (UE) nr 1169/2011 Parlamentu Europejskiego i Rady w odniesieniu do wskazania kraju pochodzenia lub miejsca pochodzenia świeżego, schłodzonego i zamrożonego mięsa ze świń, z owiec, kóz i drobiu.
- Safdar, M., Junejo, Y., Arman, K., Abasiyanik, M.F. (2014). A highly sensitive and specific tetraplex PCR assay for soybean, poultry, horse and pork species identification in sausages: development and validation. *Meat Science*, 98(2), 296-300. [doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.006](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.006).
- Sawicki, W. (2014). Oszustwa i nadzór w łańcuchu dostaw żywności. *Przemysł Spożywczy*, 68(2), 2-4.
- Sawicki, W. (2016). *Techniki molekularne w analizie zafałszowań żywności*. Wydawnictwo Uczelniane ZUT w Szczecinie, ISBN 978-837663-205-6.
- Sawicki, W., Daczowska-Kozon, E., Dąbrowski, W. (2004). Detection of different kinds of meat in processed food using polymerase chain reaction (PCR). *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis*, 238(3), 101-106.
- Sawicki, W., Żochowska-Kujawska, J. (2016). Detection of meat adulteration in veal sausages using a multiplex PCR technique. *Biotechnology and Food Science*, 80(1), 19-27.
- Sentandreu, M.A., Sentandreu, E. (2014). Authenticity of meat products: Tools against fraud. *Food Research International*, 60, 19-29. [doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.030](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.030).

**Wojciech Sawicki**

Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii Stosowanej,  
Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa,

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin

tel. (91)44-96-544,

e-mail: [wojciech.sawicki@zut.edu.pl](mailto:wojciech.sawicki@zut.edu.pl)