

당근, 느타리버섯 및 솔잎 추출물이 첨가된 화장품의 할랄인증을 위한 PCR 분석

장찬송 · 김태현 · 김유송 · 이범주¹ · 홍광원*
동국대학교 식품생명공학과, ¹(주) 케미랜드

PCR Analysis for Halal Authentication of Cosmetics Containing Carrot, Oyster Mushroom, and Pine Needle Extracts

Chan Song Jang, Tae Hyeon Kim, Yu Song Kim, Beom Zoo Lee¹, and Kwang Won Hong*

Department of Food Science and Biotechnology, College of Life Science and Biotechnology, Dongguk University
¹Chemland Co. Ltd.

Abstract

In recent years, interest in halal authentication from the domestic food and cosmetics field has been growing for advances into the overseas halal market. For halal authentication, the product must not contain haram ingredients derived from pig, dog, human, GMO, etc. In this study, the presence of haram ingredients in plant extracts (carrot, oyster mushroom, and pine needle) treated with papain and bromelain and cosmetics (mask pack and cream) containing these extracts were analyzed by PCR to confirm whether these cosmetics were suitable for halal authentication. Detection limits of the PCR method that specifically detected template DNA of human, pig, dog, and GMO were 1.29×10^3 , 1.14×10^3 , 1.24×10^2 and 2.02×10^3 copies/tube, respectively. PCR was not inhibited by the plant extracts or cosmetic ingredients. Results of PCR for the plant extracts or cosmetics containing these extracts were all negative. This PCR method could be used to rapidly identify the presence of haram ingredients in raw materials or final products during the manufacturing process of food and cosmetics.

Key words: halal food, haram, PCR, plant extracts, rapid detection

서 론

전 세계적으로 무슬림 인구는 2010년에 약 16억명, 2030년에 22억명으로 증가 할 것으로 예상되며, 전체 할랄(Halal) 시장의 규모는 2조 달러에서 3조 1000억 달러까지 예측되고 있다(Mukherjee, 2014). 매년 꾸준한 성장률을 보이는 할랄시장은 이미 포화상태에 접어든 현 시장에 등장한 새로운 개척지로 식품, 의약품, 화장품 그리고 관광업 등의 다양한 분야에서 활발한 진출이 이루어지고 있다(Kong, 2012). 할랄의 의미는 ‘이슬람율법에서 허용된 것’이고, 하람(Haram)은 할랄과 반대되는 개념으로 ‘금지된’이라는 의미를 가지고 있다. 일반적으로 돼지, 인체 성분, 개, 동물의 피, 알코올 등은 haram으로 분류되며 식물은 대부

분 halal으로 인정되나 GMO 식물은 halal로 인정되지 않는다(Kim, 2015). 또한 효소나 소재를 이용할 때에도 유래를 따져야 하는데 미생물 유래일 때에는 사용된 배지에 하람 성분이 혼입된 것은 사용하면 안 된다.

할랄 시장에 진입하기 위해서는 제품에 대한 할랄인증을 받아야 하는데, 세계적으로 150-200여 개의 할랄인증 기구가 존재하며 각 기관의 승인을 받은 제품에 한해 인증서를 발행한다(Han & Lee, 2016). 말레이시아의 JAKIM, 인도네시아의 MUI 인증이 대표적이며 할랄제품으로 인증 받기 위해서는 제품제조에 사용되는 모든 재료, 제조시설, 공정, 작업자 교육 등에 대한 서류심사와 현지실사 등과 같은 엄격한 심사과정을 거쳐야 한다(Seo, 2014).

할랄 인증을 위해서 제품의 종류에 따라 물질 특성을 반영한 적절한 분석법이 필요하다. 현재 이용되고 있는 분석법은 DNA나 단백질 분석을 기반으로 한 것들로, 식품의 경우 이화학적 분석법이 주로 이용된다. 단백질에 기초한 방법에는 전자코를 이용한 돼지 휘발성화합물 검출(Chen et al., 2005a; Nurjuliana et al., 2011; Park et al., 2017), fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy를 이

*Corresponding author: Kwang Won Hong, Department of Food Science and Biotechnology, College of Life Science and Biotechnology, Dongguk University, Goyang-si, Ilsandong-gu, Gyeonggi-do 10326, Republic of Korea.
Tel: +82-31-961-5140
E-mail: hkwon@dongguk.edu
Received September 6, 2018; revised October 22, 2018; accepted October 24, 2018

용한 돼지기름 위화물검출(Che Man et al., 2005b), high performance liquid chromatography (HPLC)를 이용한 가공 식품에서의 돼지 성분검출(Bargen et al., 2014; Rashood et al., 1995), nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy를 이용한 식품에서의 돼지유래 지방산 정량 (Siciliano et al., 2013) 등의 방법이 이용되고 있다. 하지만 제품 내 다양한 성분이 혼합되어 있고 열처리, 물리적, 화학적 처리와 같은 다양한 가공공정을 거치기 때문에 그에 따라 검출한계가 달라 질 수 있다.

한편 DNA는 보다 안정적인 물질이며 어느 조직에서나 추출될 수 있기 때문에, 열처리된 가공 제품의 분석에서 더 낮은 검출한계를 보였다(Nakyinsig et al., 2012). 따라서 Species-specific DNA를 검출하는 Polymerase Chain Reaction (PCR)을 이용한 분석법은 제품 중 미량의 DNA를 증폭하여 해당 종에서 유래한 성분들의 존재를 확인할 수 있는 유용한 대안이 될 수 있다(Lockley & Bardsley, 2000). GMO 작물의 경우는 개발 과정에 외래 유전자 단편이 삽입되므로 이 과정에 흔히 쓰이는 35S promoter와 nopaline synthase (NOS) terminator의 존재 여부로 GMO를 판단할 수 있다(Barbau-Piednoir et al., 2010; Waiblinger et al., 2008). 식품공전에 GMO 콩과 옥수수의 정성시험법으로 35S promoter와 NOS terminator를 이용한 PCR법이 사용되고 있다.

최근 식품에서는 PCR을 이용한 할랄분석이 많이 보고되고 있으나(Che Man et al., 2007; Alaraidh, 2008), 화장품에서는 할랄분석이 거의 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 화장품으로 널리 사용되는 액상 마스크팩과 크림에 기능성 향상을 위한 식물 추출물(당근, 느타리버섯, 솔잎)을 첨가하고 이들을 대상으로 중간 단계인 추출물과 추출물이 첨가된 최종 제품이 할랄화장품으로 적합인지 확인하기 위하여, 주요 하람 성분(돼지, 개, 사람, GMO)들을 신속 검출할 수 있는 PCR 시스템을 구성하였다.

재료 및 방법

식물 추출물과 화장품

본 실험에 사용한 liquid-type mask pack 화장품, cream 제형의 화장품 그리고 식물추출물은 (주)Chemland에서 제조하였다. 추출물은 화장품에 기능성을 부가할 수 있는 유용 amino acid와 peptide의 함량을 증가시키기 위해 파파야의 단백질 분해효소 papain과 파인애플의 단백질 분해효소 bromaline을 사용하였고 추출물은 마지막 단계에서 효소활성화를 위해 열처리되었다.

각 식물의 추출물 샘플은 당근, 느타리버섯, 솔잎 각각의 효소 미처리군, papain 처리군 및 bromelain 처리군으로 총 9종을 사용하였다. 각 추출물은 당근, 느타리버섯, 솔잎 원물을 각각 1% (w/v) 함유하며, 화장품에는 50%의 추출물

이 사용되었다. 화장품은 액상 마스크팩 제형과 크림 제형 각각에 대해 추출물 무첨가군 1종, 효소 무처리 추출물 첨가군 3종, papain 처리 추출물 첨가군 3종 및 bromelain 처리 추출물 첨가군 3종으로 총 20종을 사용하였다.

샘플에서 chromosomal DNA 및 template DNA의 추출 돼지고기와 개고기는 시중 마트에서 구입하였고, GMO 대두(Roundup Ready Soya Bean Powder)는 Sigma 제품을 사용하였으며, 인체 구강상피세포는 실험자의 샘플을 직접 채취하여 사용하였다. 구강상피세포 채취는 먼저 생리식염수 20 mL을 입안에 넣고 약 2분간 행군 후 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 그 pellet을 샘플로 사용하였다.

각 샘플로부터 chromosomal DNA를 추출하기 위해 Power Prep™ DNA extraction kit (Kogenbiotech, Seoul, Korea)를 사용하였다. DNA 추출은 제조사의 방법을 따랐다. 또한 3종의 식물추출물, 2종의 마스크팩과 크림 그리고 추출물이 첨가된 화장품에서 DNA를 추출하는데 역시 Power Prep™ DNA extraction kit (Kogenbiotech.)를 사용하였다.

Oligonucleotide primers

돼지, 인체, 개 및 GMO DNA를 증폭시키기 위한 primer들의 염기서열을 Table 1에 제시하였다. PCR에 사용된 primers는 (주)코스모진텍(Seoul, Korea)에서 합성하여 사용하였다. 분석하려는 target DNA (인체, 186 bp (base pair); 돼지, 139 bp; 개, 209 bp; NOS terminator, 151 bp)의 검출한계를 copy number로 측정하기 위해 chromosomal DNA로부터 target DNA 영역을 포함하는 template DNA(인체, 575 bp; 돼지, 403 bp; 개, 422 bp; NOS terminator, 166 bp)를 PCR로 각각 증폭하여 사용하였다.

PCR

Thermocycler로 StepOnePlus real-time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 이용해 PCR을 진행하였다. 각 샘플의 chromosomal DNA로부터 template DNA 증폭과 template DNA로부터 최종 target DNA의 증폭에 사용한 PCR 조건은 다음과 같다. PCR 반응액의 조성은 chromosomal DNA 또는 template DNA 1 μ L (microliter)와 10 pmol (picomole)/ μ L의 primer set 1 μ L, 10x Taq reaction buffer 2.5 μ L, dNTP 0.5 μ L (containing 10 mM of each dNTP), DNA polymerase (Taq DNA polymerase, SolGent Co., Daejeon, Korea) 0.125 μ L를 첨가하고 멸균 증류수로 총량이 25 μ L가 되도록 하였다. Thermal cycle 조건은 95°C에서 5분간 가열 후 95°C 30초, 60°C 30초, 72°C 30초를 1 cycle로 하여 총 40 cycle을 수행 후 72°C에서 3분간 더 반응시켰다. PCR 산물은

Table 1. Oligonucleotide sequences of primers used in this study

Target gene	Oligo name	Sequence (5' → 3')	Amplicon (bp)	Reference
Human	human 1	F: CTG GGC AAA TAG GGG GCA A R: AGG GTT GTG GAA CAT GAA GGG	575	this study
	human 2	F: AGG GTA TCT GGG CTC TGG R: GGC TGA AAA GCT CCC GAT TAT	186	Kanthaswamy et al., 2012
Pig	pig 1	F: CCC ATT CGC CTC ACT CAC A R: GTT GTT GGC GGT TACGAG GA	403	Kim et al., 2018
	pig 2	F: GAC ATA GAC AAA ATT TCA TTT CAC C R: CAC CCC ATA TTA AAC CAG AAT GA	139	
Dog	dog 1	F: GCT CTC TCA ATG GCA CCT CC R: GTA TCG CAG CGC GTA GAA GA	422	This study
	dog 2	F: CGC CCA TGT ATT ACT TCA TCT GTT GCC R: CAC GGC GAT GGC GCC CAG GAA	209	Kanthaswamy et al., 2012
NOS terminator	nos 1	F: TGA ATC CTG TTG CCG GTC TT R: CGC TAT ATT TTG TTT TCT ATC GCG T	166	this study
	nos 2	F: GTC TTG CGA TGA TTA TCA TAT AAT TTC TG R: CGC TAT ATT TTG TTT TCT ATC GCG T	151	Korean Food Standards Codex

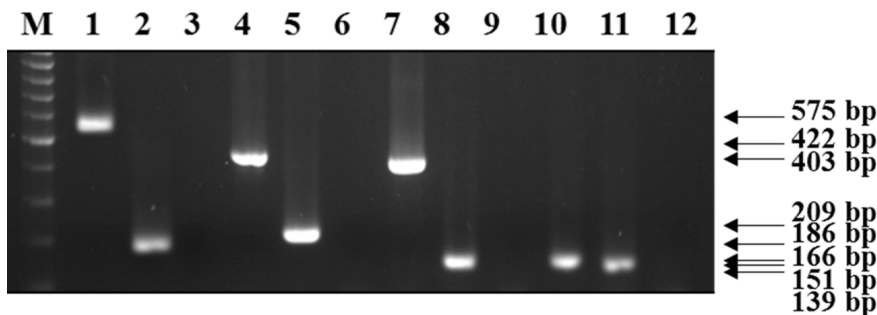


Fig. 1. PCR amplification of human, dog, pig, and NOS terminator DNAs with species-specific primer sets PCR products were analyzed by electrophoresis through a 1.5% agarose gel. Lane M, 100 bp ladder; lane 1, human 1 (575 bp); lane 2, human 2 (186 bp), lane 3, no template control; lane 4, dog 1 (422 bp); lane 5, dog 2 (209 bp); lane 6, no template control; lane 7, pig 1 (403 bp); lane 8, pig 2 (139 bp); lane 9, no template control; lane 10, nos 1 (166 bp); lane 11, nos 2 (151 bp); lane 12, no template control.

1.5% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다.

PCR 검출방법의 구성을 위해 사용한 primer set (Table 1)들에 의해 증폭되는 DNA 단편의 크기를 확인하기 위해 4 종의 chromosomal DNA로부터 각 primer set (human 1, pig 1, dog 1 and nos 1)을 이용하여 template DNA를 증폭하였다. 증폭된 인체, 돼지, 개 및 GMO 대두의 template DNA 크기는 각각 575, 403, 422 및 166 bp 이었다 (lane 1, 4, 7 and 10 in Fig. 1). 또한 각 template DNA를 정제하여 내측의 target DNA를 증폭시키는 primer set (human 2, pig 2, dog 2 and nos 2)로 증폭 시켜, 인체, 돼지, 개 및 GMO 대두의 target DNA 크기가 각각 186, 139, 209 및 151 bp임을 확인하였다(lane 2, 5, 8 and 11 in Fig. 1).

Template DNA의 copy number 결정

PCR로 증폭한 template DNA를 agarose gel에서 회수하

기 위해 PCR clean-up gel extraction kit (Macherey-Nagel, Durenm, Germany)를 사용하였다. Template DNA 농도 측정을 위해 Spectrophotometer (Model 6705 UV, Jenway Co, Staffordshire, UK)를 사용하여 DNA copy number를 계산하였다(Whelan et al., 2003).

결과 및 고찰

Template DNA의 copy number

PCR로 특정 생물 종의 DNA를 증폭시킬 때 template DNA로 chromosomal DNA 또는 target region이 포함된 작은 사이즈의 DNA 단편을 사용한다(Lampel et al., 2000; Whyte et al., 2002). 할랄제품 생산 시 유입될 수 있는 대표적인 하람 성분으로 사람, 돼지, 개, NOS terminator를 이용한 GMO를 설정하였다.

각각의 PCR 반응에서 정확한 크기의 DNA 단편 이외에

Table 4. Detection of non-halal ingredients for halal verification in plant extracts

DNA	Positive control	Carrot extract			Pine needle extract			Oyster mushroom extract		
		Enzyme untreated	Enzyme treated		Enzyme untreated	Enzyme treated		Enzyme untreated	Enzyme treated	
			Papain	Bromelain		Papain	Bromelain		Papain	Bromelain
Human	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pig	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dog	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NOS terminator	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 5. Detection of non-halal ingredients for halal verification in cosmetics containing plant extracts

DNA	Positive control	Liquid mask pack or cream type cosmetics										
		Liquid mask pack	Cream	Carrot Extracts			Pine Needle Extracts			Oyster Mushroom Extracts		
				Untreated	Enzyme Treated		Untreated	Enzyme Treated		Untreated	Enzyme Treated	
					Papain	Bromelain		Papain	Bromelain		Papain	Bromelain
Human	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Pig	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Dog	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
NOS terminator	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

라서 당근, 느타리버섯, 솔잎 추출물 3종과 이 추출물에 papain과 bromelain을 각각 처리한 6종의 추출물을 포함한 총 9종의 추출물 샘플 그리고 상기 추출물이 포함 또는 포함되지 않은 마스크 팩과 크림 화장품 총 20종을 대상으로 4종의 하람성분을 검출할 수 있는 PCR을 수행하였다.

먼저 추출물에 대한 PCR 결과, 양성 대조군을 제외한 9종의 추출물은 4가지 하람 성분에 대해 모두 음성반응을 나타내었다(Table 4). 효소를 처리하지 않은 당근, 느타리버섯 및 솔잎 추출물뿐만 아니라 이들에 papain과 bromelain을 각각 처리한 효소처리군도 모두 음성이어서 추출물 및 두 효소의 사용은 문제가 없는 것으로 보인다.

또한 추출물과 효소 처리한 추출물을 마스크팩과 크림에 각각 혼합한 제품들에 대해 PCR을 수행한 결과, 양성 대조군을 제외한 20종의 화장품은 4가지 하람성분에 대해 모두 음성반응을 나타내었다(Table 5). 마스크팩과 크림에 첨가한 추출물 및 효소 처리한 추출물에서 모두 음성 반응을 나타내 화장품 원료, 중간제품 및 최종제품에 이르기까지 모두 하람 성분은 없는 것으로 추정 가능하다.

비록 PCR 방법이 극미량의 DNA도 검출할 수 있는 매우 민감한 방법이지만 하나 PCR 검출한계 이하로 존재하는 성분들이 있을 가능성을 완전히 배제할 수는 없다. 또한 GMO의 경우, 외래유전자 도입에 35S promoter와 NOS terminator를 쓰지 않은 시스템은 본 연구에서 제안한 PCR 방법으로는 검출할 수 없다. 이러한 문제들은 모든 분석법들이 지닌 공통적인 문제이며 향후 더욱 다양하고 민감한 방법의 개발이 필요하다. 본 실험에서 개발한 PCR 방법은 할랄 제품의 제조과정 중 원부재료, 중간산물 및 최종제품에 이르기까지 하람 성분의 신속한 모니터링에 활용이 가능할 것으로 보인다.

요 약

최근 국내의 식품 및 화장품 분야에서 해외 할랄시장 진출을 위해 할랄 인증에 대한 관심이 높아지고 있다. 할랄 인증을 받으려면 해당 제품에 돼지, 개, 사람, GMO 등과 같은 haram 성분들이 포함되어서는 안 된다. 본 연구에서는 papain과 bromelain을 처리한 식물추출물(당근, 느타리버섯, 솔잎)이 첨가된 화장품(cream과 mask pack)이 할랄 인증에 적합한지를 확인하기 위해 이들 추출물과 최종제품에서 haram 성분의 존재 여부를 PCR을 이용하여 분석하였다. 사람, 돼지, 개 및 GMO 대두의 template DNA를 특이적으로 검출하는 PCR 방법의 검출한계는 각각 1.29×10^3 , 1.14×10^3 , 1.24×10^2 및 2.02×10^3 copies/tube 이었다. PCR은 식물 추출물이나 화장품 성분에 의해 저해 받지 않았다. 식물추출물과 이들이 첨가된 cream과 mask pack에 대해 PCR을 수행한 결과 모두 음성이었다. 본 PCR 방법은 식품이나 화장품의 제조과정 중 원재료나 최종제품에서 haram 성분의 존재를 신속하게 확인하는 데 활용이 가능할 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 수출전략기술개발사업의 지원으로 수행되었습니다(과제번호: 315052033HD030).

References

An SG. 2015. Halal Certification Manual In: HAS 23000.1.

- LPPOM MUI, Ini Halal Korea, Seoul, pp. 4-5.
- Alariaidh IA. 2008. Improved DNA extraction method for porcine contaminants, detection in imported meat to the Saudi market. *Saudi J Biol Sci.* 15: 225-229.
- Barbau-Piednoir E, Lievens A, Roosens N, Sneyers M, Mbongolo-Mbella G, Leunda-Casi A, Bulcke MVD. 2010. SYBR Green qPCR screening methods for the presence of “35S promoter” and “NOS terminator” elements in food and feed products. *Eur. Food Res Technol.* 230: 383-393.
- Bargen CV, Brockmeyer J, Humpf HU. 2014. Meat authentication: A new HPLC-MS/MS based method for the fast and sensitive detection of horse and pork in highly processed food. *J. Agric. Food Chem.* 62: 9428-9435.
- Che Man YB, Aida AA, Raha AR, Son R. 2007. Identification of pork derivatives in food products by species-specific polymerase chain reaction(PCR) for halal verification. *Food Control.* 18: 885-889.
- Che Man YB, Gan HL, Noraini I, Nazimah SAH and Tan CP. 2005a. Detection of lard adulteration in RBD palm olein using an electronic nose. *Food Chem.* 90: 829-835.
- Che Man YB, Syahariza ZA, Mirghani MES, Jinap S and Bakar J. 2005b. Analysis of potential lard adulteration in chocolate and chocolate products using fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chem.* 90: 815-819.
- Demeke T, Jenkins GR. 2010. Influence of DNA extraction methods, PCR inhibitors and quantification methods on real-time PCR assay of biotechnology-derived traits. *Anal. Bioanal. Chem.* 396: 1977-1990.
- Han AR, Lee KW. 2016. A study on the halal food market and halal certification for Korean firm's access to Halal market. *Food Sci. Ind.* 49: 87-93.
- Kanthaswamy S, Premasuthan A, Ng J, Satkoski J, Goyal V. 2012. Quantitative real-time PCR (qPCR) assay for human-dog-cat species identification and nuclear DNA quantification. *Forensic Sci. Int. Genet.* 6: 290-295.
- Kim EM. 2015. Domestic and international markets associated with halal food. *Food Sci. Ind.* 48: 12-24.
- Kim YS, Yu HK, Lee BZ, Hong KW. 2018. Effect of DNA extraction methods on the detection of porcine ingredients in halal cosmetics using real-time PCR. *Appl. Biol. Chem.* 61: 549-555
- Kong YC. 2012. An exploratory study of the value of halal industries in the international market and the advancement of Korean enterprises to the halal market: focused on Malaysia. Master thesis, Pusan National University., Busan, Korea.
- Ku JE, Han HS, Song JH. 2013. The recent trend of the natural preservation used in cosmetics. *Korean J. Aesthet. Cosmetol.* 11: 835-844.
- Lampel KA, Orlandi PA, Kornegay L. 2000. Improved Template Preparation for PCR-Based Assays for Detection of Food-Borne Bacterial Pathogens. *Appl Environ Microbiol.* 66: 4539-4542.
- Lockley AK, Bardsley RG. 2000. DNA-based methods for food authentication. *Trends Food Sci. Technol.* 11: 67-77.
- Lübeck PS, Wolffs P, On SLW, Ahrens P, Rådström P, Hoorfar J. 2003. Toward an international standard for PCR-based detection of food-borne thermotolerant campylobacters: assay development and analytical validation. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 5664-5669.
- Ministry of Food and Drug Administration. Korean Food Standards Codex. Available from: <http://www.foodsafetykorea.go.kr>. Accessed Jun. 27. 2018.
- Mukherjee SR. 2014. Global Halal: Meat, Money, and Religion. *Religions.* 5: 22-75.
- Nakyinsige K, Che Man YB, Sazili AQ. 2012. Halal authenticity issues in meat and meat products. *Meat Sci.* 91: 207-214.
- Nurjuliana M, Che Man YB, Hashim DM, Mohamed AKS. 2011. Rapid identification of pork for halal authentication using the electronic nose and gas chromatography mass spectrometer with headspace analyzer. *Meat Sci.* 88: 638-644.
- Park SW, Lee SJ, Sim YS, Choi JY, Park EY and Noh BS. 2017. Analysis of ethanol in soy sauce using electronic nose for halal food certification. *Food Sci. Biotechnol.* 26: 311-317.
- Rashood KAA, Abdel-Moety EM, Rauf A, Abou-Shaabab RR, Al-Khamis KI. 1995. Triacylglycerols-profiling by high performance liquid chromatography: A tool for detection of pork fat (Lard) in processed foods. *J. Liq. Chromatogr.* 18: 2661-2673.
- Rossen L, Norskov P, Holmstrom K, Rasmussen OF. 1992. Inhibition of PCR by components of food samples, microbial diagnostic assays and DNA-extraction solutions. *Int. J. Food Microbiol.* 17: 37-45.
- Schrader C, Schielke A, Ellerbroek L, Johne R. 2012. PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *J. Appl. Microbiol.* 113: 1014-1026.
- Seo MK. 2014. A Study on the Halal Certification Scheme for Korean Firms' Access to Islamic Market. *Int. Bus. Rev.* 12: 359-372.
- Siciliano C, Belsito E, Marco DR, Di Gioia ML, Leffio A, Liguori A. 2013. Quantitative determination of fatty acid chain composition in pork meat products by high resolution ¹H-NMR Spectroscopy. *Food Chem.* 2: 546-554.
- Waiblinger HU, Ernst B, Anderson A, Pietsch K. 2008. Validation and collaborative study of a P35S and T-nos duplex real-time PCR screening method to detect genetically modified organisms in food products. *Eur. Food Res. Technol.* 226: 1221-1228.
- Whelan JA, Russell NB, Whelan MA. 2003. A method for the absolute quantification of cDNA using real-time PCR. *J. Immunol. Methods.* 278: 261-269.
- Whyte P, Gill KM, Collins JD, Gormley E. 2002. The prevalence and PCR detection of *Salmonella* contamination in raw poultry. *Vet Microbiol.* 89: 53-60.