

**DETECTION OF PORCINE DNA IN
GELATINOUS CAPSULES USING
POLYMERASE CHAIN AMPLIFICATION OF
mtATP6 GENE**

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

NORZIANA BINTI JULMOHAMAD

**THESIS SUBMITTED IN FULFILLMENT FOR
THE MASTER OF SCIENCE**

**BIOTECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

2018

ABSTRACT

Gelatin is a yellowish granule, odourless and flavourless protein that is used in food processing industry and also pharmaceutical industry. However, the acceptability of gelatine products by consumers greatly depends on the animal sources of the gelatine. As such, porcine and bovine gelatine are the two primary sources used in the large industries but limited acceptance because of religious prohibitions and potential zoonotic threats. Although, identification of gelatine source used is important for gelatine products but it is very challenging due to the low content of DNA in the sample and strong interaction between extracted DNA and the non-lysed gelatine residue. Therefore, there is a need for a rapid method to detect the porcine DNA from the pharmaceutical capsule for the purpose of gelatine source identifications. In this research project, various pharmaceutical capsules were used as a source material to detect the presence of porcine (pork) DNA by using different types of DNA extraction methods. This way then confirm and verify by Polymerase Chain Reaction (PCR) analysis. DNA was successfully extracted from the capsule with high purity DNA using Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) compare three other methods, CTAB method, DNeasy Blood and Tissue Kit, and EasyPure® Food DNA kit. PPA6 primers which targets the *mtATP6* gene was then used to amplify porcine DNA using Conventional Polymerase Chain Reaction (PCR) assay. It successfully amplified the gene and this was observed on 83 bp DNA band upon agarose gel electrophoresis. This method of species identification particularly for porcine DNA detection is very useful to verify whether the gelatins from pharmaceutical capsules or gelatin-containing food products are adulterated with porcine ingredients.

ABSTRAK

PENGESANAN DNA BABI DALAM GELATIN KAPSUL MENGUNAKAN GEN *mtATP6* DENGAN TINDAKBALAS RANTAIAN POLIMERASE

Gelatin adalah sejenis protein berwarna kekuningan, tidak berbau dan tanpa perasa yang digunakan dalam industri pemprosesan makanan dan juga industri farmaseutikal. Walau bagaimanapun, penerimaan pengguna terhadap produk gelatin sangat bergantung kepada sumber haiwan yang digunakan untuk menghasilkan gelatin. Babi adalah bahan mentah utama dalam industri tetapi penerimaan terhadap penggunaan bahan ini adalah terhad kerana larangan keagamaan dan ancaman zoonotik yang berpotensi. Oleh itu, pengesanan sumber gelatin yang digunakan adalah penting untuk produk makanan gelatin walaupun sangat mencabar kerana kandungan DNA yang rendah dalam sampel dan interaksi kuat antara DNA yang diekstrak dan sisa gelatin yang tidak dapat dimusnahkan. Oleh itu, keperluan kaedah yang pantas untuk mengesan DNA babi dari kapsul farmaseutikal untuk tujuan pengenalan sumber gelatin. Dalam projek penyelidikan ini, kapsul farmaseutikal digunakan sebagai bahan sumber untuk mengesan kehadiran DNA babi dengan menggunakan pelbagai kaedah pengekstrakan DNA. Dengan cara ini kemudian sahkan dengan analisis Tindakbalas Rantai Polimerase (PCR). DNA berjaya diekstrak dari kapsul dengan DNA ketulenan tinggi menggunakan Sodium Dodecyl Sulfat (SDS) membandingkan tiga kaedah lain, kaedah CTAB, Dneasy Blood and Tissue kit, dan EasyPure® Food DNA kit. Primer PPA6 yang mensasarkan urutan gen *mtATP6* kemudian digunakan untuk mengenalpasti kewujudan DNA babi menggunakan kaedah Polymerase Chain Reaction (PCR). Ia berjaya dikenalpasti dan diperhatikan dengan 83 bp jalur DNA pada elektroforesis gel agarosa. Kaedah pengenalan spesies terutamanya untuk pengesanan DNA babi sangat berguna untuk mengesahkan sama ada gelatin dari kapsul farmaseutikal atau produk makanan yang mengandungi gelatin adalah tercemar dengan kandungan babi.