

301 cases. There were identified the following bacteria: *Brucella* in 222 cases, *Vibrio foetus* (one case), *S. dublin* (8 cases), *S. bovismorbificans* (one case), *C. pyogenes* (19 cases), *C. renale* (2 cases), *Ps. aeruginosa* (4 cases), *Streptococcus* (14 cases), *Diplococcus* (4 cases), *Staphylococcus* (3 cases), *E. coli* (11 cases),

*Klebsiella* (3 cases), *Enterobacter* (one case), *Past.* (*Yersinia*) *pseudotuberculosis* (one case), *Bac. cereus* (one case), *Cl. perfringens A* (one case), *Mycoplasma* (one case), *Nocardia* (2 cases), and *Aspergillus* (2 cases).

## PRAKTYKA LABORATORYJNA

ZYGMUNT MADEJSKI, TERESA SZPRENGIER

### Oznaczanie izotiocyjanianów (ITC) i 5-winylo-2-tiooksazolidonu (VTO)

Zakład Farmakologii i Toksykologii  
Instytutu Weterynarii w Puławach  
Kierownik: prof. dr T. JUSZKIEWICZ

Coraz szersze stosowanie poekstrakcyjnych śrut rzepekowych w żywieniu zwierząt w postaci dodatków do pasz treściwych, wylania potrzebę opracowania dostępnych rutynowych metod ilościowego oznaczania zawartych w śrutach związków toksycznych (wołowców) — izotiocyjanianów (ITC) i 5-winylo-2-tiooksazolidonu (VTO). Substancje te powodują zaburzenia w normalnym funkcjonowaniu tarczycy i są przyczyną niekorzystnych zmian w ustroju zwierząt, objawiających się między innymi nieprawidłowym rozwojem i przyrostem ciężaru ciała oraz zaburzeniami w reprodukcji. Związki te mogą również przechodzić do mleka i innych środków spożywczych zwierzęcego pochodzenia i tą drogą wywierać ujemny wpływ na organizm człowieka.

Dotychczas opisane metody oznaczania ITC i VTO w śrutach rzepekowych (2, 7, 9, 10) są zazwyczaj oparte na destylacji z parą wodną, co wymaga specjalnych zestawów aparaturowych, a poza tym stwarza pewne możliwości strat ITC i rozkładania się VTO w czasie destylacji. Na uwagę zasługuje opracowana ostatnio przez Szewczuka i wsp. (8) metoda oznaczania VTO w śrucie z zastosowaniem jodometrii. Pozwala ona jednak na oznaczanie tylko VTO i nie uwzględnia izotiocyjanianów.

Przedstawiona w tej pracy metoda jest modyfikacją procedury stosowanej przez Appelqvista i Josefszona (1) oraz cytowanej na wstępie metody destylacyjnej (2, 7). Dotyczy ona oznaczania VTO w śrucie z zastosowaniem spektrofotometrii w nadfiolecie lub chromatografii cienkowarstwowej oraz równocześnie izotiocyjanianów z zastosowaniem analizy miareczkowej (argentometrii), bez użycia destylacji.

#### Część doświadczalna

Odczynniki i roztwory oraz materiały

1. Izo-oktan cz.
2. Eter etylowy wolny od nadtlenu (w razie potrzeby oczyszczany z  $\text{FeSO}_4$ ).
3. Etanol 95%.
4. Etylu octan nasyc. wodą.
5. Cykloheksan cz.d.a.
6. Acetonitryl cz.d.a.
7. Żel krzemionkowy G do chromatografii cienkowarstwowej.
8. VTO in subst. — preparat wzorcowy uzyskany ze śrut rzepekowej wg procedury opisanej przez Rutkowskiego i Kozłowską (6) z częściowym zastosowaniem modyfikacji własnej.
9. Bufor fosforanowy o pH 7,0. Mieszano roztwór zawierający 17,9 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  w 1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$

z taką samą objętością roztworu zawierającego 6,8 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  w 1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . Mieszaninę w razie potrzeby doprowadzano do pH 7,0 za pomocą roztworu  $\text{N}_2\text{HPO}_4$ .

10. Roztwór wodny myrozynazy sporządzony z nasion gorczyicy białej (*Sinapis alba*) wg procedury podanej przez Grzybowską i Kozłowskiego (3).
11.  $\text{NH}_4\text{OH}$  — roztwór 0,9n w alkoholu absolutnym.
12.  $\text{AgNO}_3$  — roztwór 0,1n.
13.  $\text{Fe}(\text{NH}_4)\text{SO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  — roztwór wodny 8%.
14.  $\text{HNO}_3$  — roztwór 6n.
15.  $\text{NaN}_3$  (sodu azydek) — roztwór wodny 25%.
16. Skrobia — roztwór wodny 1%.
17. VTO — roztwór roboczy do procedury chromatograficznej. Rozpuszczano 10 mg krystalicznego VTO w kilku mililitrach octanu etylu nasyc. wodą i uzupełniano objętość do 100 ml. Z kolei 1 ml tego podstawowego wzorca rozcieńczano do obj. 10 ml octanem etylu. Tak przygotowany roztwór roboczy (zawierający 10  $\mu\text{g}$  VTO w 1 ml) наносono na płytki chromatograficzne.
18. VTO — roztwór podstawowy do procedury spektrofotometrycznej zawierający 50 mg krystalicznego VTO w 500 ml wody destyl.
19. Śruta rzepekowa nieodgorzona.

Aparatura

1. Spektrofotometr (Unicam SP 800 lub inny).
2. Urządzenie do chromatografii cienkowarstwowej (f-my Camag lub inne).

#### Przygotowanie próby

Odwagę śrutę wielkości 1 g umieszczano w 250 ml kolbie stożkowej z korkiem na szlif. Dodawano 48,5 ml wrzącego buforu fosforanowego o pH 7,0. Kolbę z zawartością ogrzewano na wrzącej łaźni wodnej przez 5 minut, a następnie ochładzano do temp. 40°C i dodawano około 20 mg kwasu 1-askorbinowego in subst. oraz 1,5 ml roztworu myrozynazy. Kolbę szczelnie zakrywano korkiem na szlif, umieszczano ponownie w łaźni wodnej o temp. 40°C, wstrząsając zawartość kolby od czasu do czasu. Po 30 minutach dodawano 25 ml 95% etanolu i ogrzewano (wstrząsając) przez dalszych 15 min. a następnie sączono. Przesącz w ilości 25 ml ekstrahowano 3-krotnie 25 ml porcjami izo-oktanu. Połączone ekstrakty izo-oktanowe przeznaczano do badania na zawartość izotiocyjanianów, a w pozostałym po ekstrakcji płynie oznaczano VTO.

#### Oznaczanie ITC

Celem przeprowadzenia izotiocyjanianów w pochodne tiomocznika, ekstrakty izo-oktanowe umieszczano

w kolbie stożkowej z korkiem na szlif, dodawano 30 ml 0,9n alkoholowego roztworu  $\text{NH}_4\text{OH}$ , kolbę szczelnie zamykano korkiem, zawartość dobrze wytrząsano i pozostawiono na 48 godz. w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodawano 2,5 ml 0,1n roztworu  $\text{AgNO}_3$ , wytrząsano przez 5 minut i pozostawiano na 1 godz. (wytrącał się brunatny osad siarczku srebra). Warstwę izo-oktanową zlewano do rozdzielacza, a pozostałą fazę wodną wraz z brunatnym osadem sączono i sączek przemywano 3-krotnie 2 ml porcjami 0,9 alkoholowego roztworu amoniaku. Płyn z przepłukania dołączano do poprzedniego przesączu. Do opalizującego przesączu dodawano 0,5 ml roztworu alunu żelazowo-amonowego jako wskaźnika i około 2 ml 6n  $\text{HNO}_3$  (w ilości wystarczającej do odbarwienia się roztworu zabarwionego lekko pod wpływem alunu). Następnie miareczkowano nadmiar nieprereagowanego z pochodnymi tiomocznika  $\text{AgNO}_3$ , roztworem 0,01n  $\text{NH}_4\text{CNS}$  do zabarwienia się płynu na kolor lekko czerwony. Notowano ilość zużytego przy miareczkowaniu 0,01n  $\text{NH}_4\text{CNS}$ .

Równocześnie przeprowadzano próbę ślepa z odczynnikami. W tym celu sporządzano mieszaninę składającą się z buforu fosforanowego, kwasu askorbinowego *in subst.* i 95% etanolu w proporcjach jak w przypadku próby badanej. Pobierano 25 ml mieszaniny i ekstrahowano je 3-krotnie 25 ml porcjami izo-oktanu i dalej postępowano jak z próbą badaną. Zawartość ITC obliczano wg wzoru:

$$\frac{(a-0,1 b) \times 3}{w} \times 100 \times 0,005659 = \% \text{ ITC}$$

a — ilość ml 0,1n  $\text{AgNO}_3$  dodanego do próby (2,5 ml)  
b — ilość ml 0,01n  $\text{NH}_4\text{CNS}$  zużytego do miareczkowania nadmiaru 0,1n  $\text{AgNO}_3$

0,005659 — współczynnik wynikający z przeliczeń stechiometrycznych — 1 ml 0,1n  $\text{AgNO}_3$  odpowiada 0,005659 g 3-butenyloizotiocyanianu, stanowiącego miernik ogólnej ilości izotiocyanianów w śrucie rzepakowej.  
w — wielkość odważki śruty wziętej do analizy (1 g).  
Uzyskaną wartość przypadającą na próbę ślepa odejmowano od wartości wyliczonej dla próby badanej. Różnicę stanowiła faktyczna zawartość ITC w badanej próbce wyrażona w procentach. Ostateczny wynik przeliczano na mg/g śruty.

#### Oznaczanie VTO

Procedura spektrofotometryczna.

Płyn po ekstrakcji izo-oktanem w ilości 1 ml ekstrahowano 4-krotnie 2 ml porcjami eteru etylowego wolnego od nadtlentków. Połączone ekstrakty eterowe uzupełniano eterem do 20 ml, mieszano dokładnie i oznaczano spektrofotometrycznie w zakresie długości fal 225—275 nm, wobec eteru etylowego.

Wartość absorpcji (A) odpowiadającą stężeniu VTO w ekstrakcie eterowym obliczano metodą linii podstawowej. Odpowiada ona różnicy pomiędzy absorpcją mierzoną od linii zerowej do maksimum ( $A_1$ ) i absorpcją tła ( $A_0$ ).

$$A = A_1 - A_0$$

Ostateczną zawartość VTO w próbce badanej obliczano w oparciu o krzywą wzorcową wykreśloną w układzie: oś rzędnych — absorpcja A, oś odciętych — stężenie VTO w  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ekstraktu eterowego. Oryginalny zapis widma absorpcyjnego roztworów wzorcowych VTO oraz krzywą wzorcową wykreśloną z uzyskanych wartości absorpcji przedstawia ryc. 1.

#### Przygotowanie roztworów wzorcowych

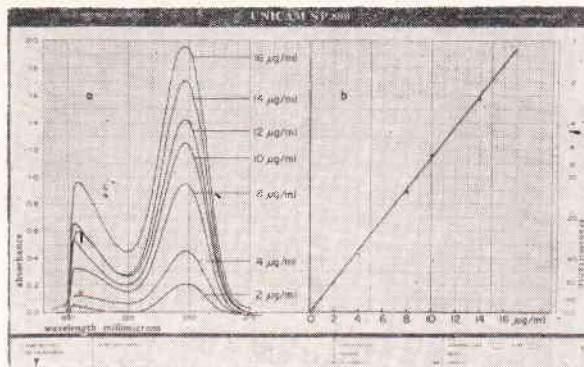
Z podstawowego roztworu zawierającego 50 mg VTO w 500 ml wody destylowanej pobierano kolejno: 0,5; 1,0; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,5 ml płynu i każdą z pobranych ilości ekstrahowano 4-krotnie podwójną objętością eteru etylowego wolnego od nadtlentków. Poszczególne ekstrakty eterowe z kolei doprowadzano do objętości 25 ml dodając lub odparowując odpowiednie ilości eteru. Tak przygotowane rozcieńczenia odpowiadały stężeniom VTO: 2,0; 4,0; 8,0; 10,0;

12,0; 13,0; 16,0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ekstraktu eterowego. Uzyskane ekstrakty eterowe poddawano dalej oznaczeniom jak próby badane. Przy ostatecznym obliczaniu zawartości VTO w badanej próbce posługiwano się wzorem:

$$a \times 20 \times 75 = \text{ilość mg VTO/g śruty rzepakowej czyli}$$

$$\frac{a \times 1500}{1000} = a \times 1,5 = \text{mg VTO/g śruty}$$

a — odczytane stężenie VTO z krzywej wzorcowej  
1,5 — współczynnik uwzględniający rozcieńczenia i wielkość odważki śruty. Najmniejsza zawartość VTO jaką można było oznaczyć spektrofotometrycznie wynosiła około 1,0 ppm.



Ryc. 1. Zapis widma absorpcyjnego i roztworów wzorcowych VTO w eterze etylowym w spektrofotometrze Unicama SP 800 (a) oraz krzywa wzorcową wykreśloną w oparciu o uzyskane wartości absorpcji i odpowiadające im stężenia VTO (b)

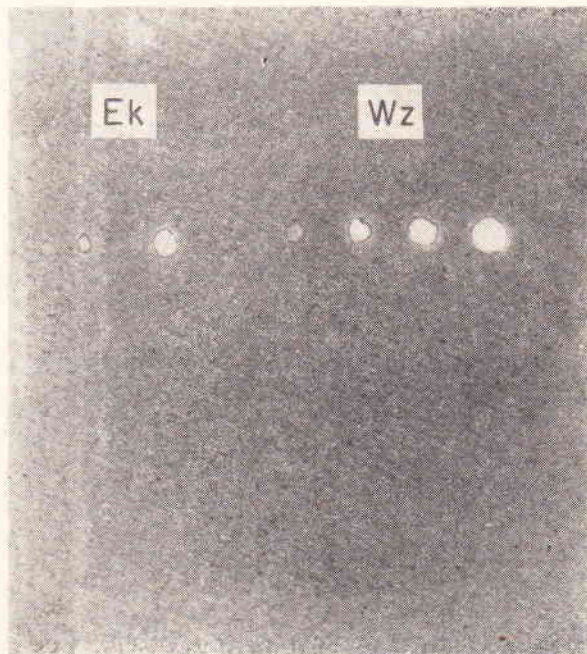
#### Procedura chromatograficzna Przygotowanie płytek chromatograficznych

Płytki szklane o wymiarach  $17 \times 20$  cm pokrywano warstwą żelu krzemionkowego G o grubości 0,4 mm i suszono najpierw przez kilka godzin na wolnym powietrzu, a następnie przez około 1 godzinę w suszarce w temperaturze 100—105°C. Wyszuszone płytki przetrzymywano do analizy w eksykatorze nad bezwodnym  $\text{CaCl}_2$  w temperaturze pokojowej.

#### Przebieg analizy

Z płynu pozostałego po ekstrakcji izo-oktanem, pobierano 1 ml próby i ekstrahowano je 4-krotnie 2 ml porcjami eteru etylowego wolnego od nadtlentków. Wyciąg eterowy z kolei odparowywano do sucha na łaźni wodnej w temperaturze około 45°C. Pozostałość po odparowaniu rozpuszczano w 5 ml octanu etylu nasyconego wodą. Tak przygotowany roztwór nanoszono na płytki chromatograficzne w ilościach 1  $\mu\text{l}$  i 2  $\mu\text{l}$ . Równocześnie obok próbek badanych nanoszono roztwór wzorcowy (roboczy) w ilościach: 2; 4; 6; 8  $\mu\text{l}$ , które odpowiadały: 0,02; 0,04; 0,06; 0,08  $\mu\text{g}$  VTO. Chromatogram rozwijano w układzie: octan etylu nasycony wodą — acetonitryl — cykloheksan (5:5:1). Rozwinięte chromatogramy suszono na wolnym powietrzu, a następnie spryskiwano 1% roztworem skrobi, a po wysuszeniu, świeżo sporządzoną mieszaniną roztworów azydru sodowego i jodu (10 ml 0,02n  $\text{J}_2$  w 0,1n KJ mieszaną z 0,5 ml 5% azydru sodu, a następnie mieszaninę taką rozcieńczano wodą w stosunku 4:20). Tło chromatogramu barwiło się na kolor niebiesko-fioletowy, a w miejscach występowania VTO pozostawały białe plamy, których wielkość porównywano z plamami wzorca i odczytywano ilość niesionego z ekstraktem VTO w  $\mu\text{g}$ . Wielkość plam była porównywalna w granicach 0,02—0,08  $\mu\text{g}$  VTO. Chromatogram taki przedstawia ryc. 2.

Z kolei po uwzględnieniu rozcieńczeń i wielkości naważki śruty, obliczano ostateczną zawartość VTO w mg/g. Dolna granica oznaczalności VTO w śrucie przy zastosowaniu procedury chromatograficznej wynosiła około 0,25 ppm.



Ryc. 2. Chromatogram VTO oznaczonego w śrucie rzepakowej. Ek — plamy ekstraktu VTO ze śruty (1 i 2 μl), Wz — plamy wzorca VTO (ilości kolejno od lewej: 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 μg)

Sprawdzenie dokładności metody

Celem sprawdzenia dokładności metody przeprowadzono równolegle porównawczo szereg oznaczeń VTO i ITC lub samego tylko VTO w tej samej próbie śruty rzepakowej stosując metodę opisaną oraz kilka innych metod wspomnianych na wstępie (1, 2, 7, 8). Wyniki tych oznaczeń przedstawiono w tab. 1.

Tab. 1. Zawartość VTO i ITC w próbie śruty rzepakowej w mg/g oznaczona różnymi metodami; przedstawione wartości stanowią średnie ± błąd standardowy

Substancja badana	Metoda			
	opisana	wg Grajewskiej i wsp.	wg Appelqvista i Josefssona	wg Szezwczuka i wsp.
VTO	(8) *) a) 12,9 ± 0,66	(10) 6,1 ± 0,16	(9) 12,3 ± 0,21	(6) 9,6 ± 0,16
	(7) b) 12,9 ± 0,15			
ITC	(10) 5,78 ± 0,14	(9) 5,74 ± 0,23	—	—

Objaśnienia: a) oznaczanie chromatograficzne; b) oznaczanie spektrofotometryczne.  
\*) Cyfry w nawiasach określają ilość oznaczeń.

Jak widać z podanych tutaj średnich (± błąd standardowy) najwyższe wartości liczbowe dotyczące poziomu VTO w badanej śrucie uzyskano w przypadku metody opisanej. Wartości te nie wykazywały istotnych różnic w zależności od stosowanej procedury (spektrofotometrycznej czy chromatograficznej). Stosunkowo niski poziom VTO stwierdzano w przypadku stosowania metody podanej przez Grajewską i wsp. Było to prawdopodobnie spowodowane dużymi stratami VTO w trakcie sączenia mieszaniny pozostałej po oddestylowaniu izotiocyanianów.

W przeprowadzonych oznaczeniach porównawczych nie notowano istotnych różnic w średnich wartościach liczbowych dotyczących poziomów izotiocyanianów.

Dyskusja i wnioski

Przedstawiona w niniejszej pracy metoda oznaczania ITC i VTO daje możliwości przeprowadzenia analizy z użyciem tej samej odważki śruty rzepakowej. W odróżnieniu od innych tego typu metod (2, 7, 9, 10) nie wymaga ona procedury destylacji z parą wodną, a tym samym konieczności montowania specjalnych zestawów destylacyjnych.

Przy wyosabnianiu izotiocyanianów z badanej próby, zamiast destylacji zastosowano zwykłą procedurę ekstrakcji ITC izo-oktanem. Upraszcza to w znacznym stopniu samą analizę, a ponadto zapobiega ewentualnym stratom ITC i VTO z jakimi można się spotkać w procesie destylacji i dalszych etapach analizy (np. sączenie pozostałości po oddestylowaniu ITC).

Niektóre metody (1, 5) przy oznaczaniu izotiocyanianów wymagają użycia odpowiednich wzorców (nie zawsze łatwo dostępnych), w opracowanej metodzie izotiocyaniany, po ich wyekstrahowaniu izo-oktanem i przeprowadzeniu w pochodzie tiomocznika (głównie w 3-butenylo-tiomocznik) za pomocą amoniaku, oznaczają się argentometrycznie. Procedura ta eliminuje potrzebę stosowania wzorców, a ostateczną zawartość ITC w próbce oblicza się w oparciu o zużyte w miareczkowaniu ilości AgNO<sub>3</sub> i NH<sub>4</sub>CNS, przy zastosowaniu odpowiedniego wzoru matematycznego.

Zastosowana w tej metodzie procedura chromatograficzna różni się od innych tego typu analiz (3), przede wszystkim prostszym sporządzaniem ekstraktów z badanego materiału do nanoszenia na płytki chromatograficzne oraz użyciem tylko jednego układu rozwijającego (octan etylu nasycony wodą + acetonitryl + cykloheksan).

Możliwość zastosowania chromatografii cienkowarstwowej przy oznaczaniu VTO zamiast spektrofotometrii pozwala na wykorzystanie metody w warunkach gdzie nie dysponujemy odpowiednim spektrofotometrem.

Uzyskiwane wartości dla VTO w śrucie są wyższe niż w innych dotychczas stosowanych metodach, co przemawiałoby za większą jej dokładnością.

Wydaje się, że opracowana metoda może być stosowana do rutynowego oznaczania ITC i VTO w śrutach rzepakowych.

Piśmiennictwo

1. Appelqvist L. A., Josefsson E.: J. Sci. Fd. Agric., 18, 510, 1967.
2. Grajewska Z., Kruszewska A.: Tłuszcze jadalne, 11, 70, 1967.
3. Grzybowska J., Karlowski K.: Roczniki PZH, 17, 379, 1966.
4. Modzelewska K.: Badania nad polepszeniem wartości paszowej śruty rzepakowej — cz. I, Instytut Przemysłu Tłuszczowego, 1963 (praca niepublikowana).
5. Modzelewska K.: Tłuszcze jadalne, 14, 127, 1970.
6. Rutkowska A., Kozłowska H.: Śruta rzepakowa. Wydawn. Przem. Lekkiego i Spożywczego, 1967.
7. Streckler L.: Tłuszcze jadalne, 11, 77, 1967.
8. Szezwczuk A., Mastalerz P., Nadwyzczawski W.: Chemia analityczna, 14, 129, 1969.
9. Wetter L. R.: Can. J. Biochem. and Physiol., 33, 980, 1955 — cyt. wg (2).
10. Wetter L. R.: Can. J. Biochem. and Physiol., 35, 293, 1957 — cyt. wg (4).

Praca była częściowo finansowana przez Komitet Nauk Zootechnicznych, Sekcję Żywnienia Zwierząt PAN.

Adres autora: dr Zygmunt Madejski, Puławy, Al. Partyzantów 57, Instytut Weterynarii.

Мадэйскі З., Шпрэнгер Т. — Определение изотиоцианатов (ITC) и 5-винил-2-тиооксазолидона (VTO) в бродленном рапсе.

Разработали метод одновременного определения в том же образце бродленного рапса ITC и VTO (гоитрина) после предварительного освобождения пробы от миоглюкозидов при помощи раствора мырозиназы. В отличие от употребляемых до сего времени методов, применяющих обычно дестилляцию с водными парами, новый метод экстрагируем эти соединения при помощи изооктана. После переработки их погом в производные мочевины определяем их аргентометрически. Для определения VTO остатки после экстракции изооктаном экстрагиру-

ется снова этиловым эфиром и экстракт подвергается спектрофотометрическому анализу в ультрафиолете или при помощи тонкослойной хроматографии. Нижняя граница определяемости VTO в бродленном рапсе при помощи спектрометрического метода равняется 1 ч. на миллион а при помощи хроматографии — 0,251 ч. на миллион.

Madejski Z., Szprengier T. — **Determination of isothiocyanides (ITC) and 5-vinyl-2-thioxasolidone (VTO) in grinding rape**

There was developed the method of simultaneous determination of ITC and VTO (goitrine) in the same

sample of grinding rape after prior delivery them from thioglucosides by the use of merosinase solution. The determined compounds were extracted with iso-octane and not by distillation in steam water. The compounds after former transformation into thiourea derivatives were determined argentometrically. For the determination VTO the residues following iso-octane extraction were reextracted with aethyl aether and the extract was analysed spectrophotometrically under UV or chromatographically acc. to thin layer chromatography method. The sensitivity of VTO determination by spectrophotometric method in grinding rape was 1.5 ppm, and by chromatography about 0.25 ppm.

## Z HISTORII WETERYNARII

JÓZEF JANISZEWSKI

Zgorzelec

### Badanie mięsa w Żywcu w woj. krakowskim w XVI-XVIII wieku, w świetle statutów cechu rzeźniczego

Statuty cechowe są zbiorem norm, uchwalanych przez członków organizacji, a następnie zatwierdzanych przez instancje wyższe w danym przypadku przez właścicieli miasta Żywca.

Obowiązywały one na terenie miasta i w najbliższej okolicy tj. w promieniu jednej mili. W roku 1607 Mikołaj z Komorowa, właściciel Żywca, nadał cechowi rzeźniczemu statut, który był następnie kilkakrotnie zatwierdzany: w roku 1647 przez Karola Ferdynanda Wazę, w r. 1740 przez Karola Myszkowskiego, w r. 1715 przez Franciszka Wielopolskiego i w r. 1776 przez Franciszka Myszkowskiego Gonzagę.

Statut w/w składa się ze wstępu, 21 artykułów normujących życie członków organizacji i zakończenia. Szczególnie wstęp jest napisany stylem napuszonym z powołaniem się na Tezeusza, bohatera Aten; spośród 21 artykułów 6 tj. od 2 do 7 zajmują się *sui generis* badaniem zwierząt rzeźnych i mięsa, 8 tj. 1, 8, 11, 12, 13, 19, 20, 2 dotyczą kupna, sprzedaży i ochrony zawodu, 4 tj. 14, 15, 16, 17 regulują sprawy psów, będących widocznie często przedmiotem targów, a pozostałe poruszają różne inne kwestie.

Artykuł 5 regulował badanie zwierząt rzeźnych przed ubojem: obowiązywało ono tylko w przypadkach ran i krwotoków. Organem, powołanym do przeprowadzenia oględzin i wydania decyzji byli „dwaj mistrzowie starsi”. Winni przekroczenia tego przepisu podlegali karze pieniężnej na rzecz miasta i cechu. Zwierzęta, ubijane w celach konsumpcyjnych, winny być bez zastrzeżeń zdrowe. Artykuły 2, 3 i 4 zawierają kategorię zakaz uboju zwierzęcia nie tylko chorego ale wychudzonego, zmęczonego, a nawet nie wykazującego apetytu, pod rygorem utraty prawa wykonywania zawodu. Tłumaczy się to nasileniem, występujących często w górach zakaźnych chorób odzwierzęcych jak szelestnicy, wąglika itd.

Z artykułu 6 statutu wynika, że rzeźnik sam orzekał po uboju czy tusza jest zdatna czy nie zdatna do spożycia. W przypadku wprowadzenia do obrotu mięsa ze zmianami anatomopatologicznymi majster tracił prawo wykonywania zawodu. Przepis ten stał się zrozumiały, jeśli uwzględnimy ówczesne stosunki: istniała opinia publiczna, wnikająca w najdrobniejsze szczegóły życia prywatnego i zawodowego. W

praktyce nie szafowano zbyt dużą karą pozbawienia wykonywania zawodu. Młodszy majster, zwany w nomenklaturze statutu bratem, kontrolował mięso przed sprzedażą i miał prawo kwestionować i tymczasowo podejrzane mięso, a następnie przekazywać starszym cechowi do dalszego postępowania. Gdyby jednak rzeźnik, mimo zakazu, rąbał mięso i sprzedawał, podlegał karze według uznania majstrów.

W myśl artykułu 7 dozwolona była sprzedaż mięsa solonego i wędzonego w jatkach (tj. kramach-jata oznaczająca pierwotnie namiot) i w domach. Kwestionujący zdatność takiego mięsa obowiązywał był udowodnić swój zarzut.

Według statutu cechu rzeźniczego m. Żywca organem urzędowego badania zwierząt rzeźnych (zwanych bydłem) i mięsa było kolegium, złożone z dwóch starszych mistrzów, pochodzących z wyboru ogółu mistrzów; kadencja starszego cechu wynosiła jeden rok; tytuł ten był dożywotni; mistrzowie, nie piastujący dotychczas stanowiska starszego cechu nazywali się mistrzami młodszymi; w nomenklaturze statutu wszyscy mistrzowie byli braćmi.

Do kompetencji kolegium należało badanie zwierząt rzeźnych z ranami oraz orzekanie o przydatności mięsa do spożycia w razie przywołania. Orzeczenia kolegium były ostateczne. Do kwestionowania przydatności mięsa do spożycia upoważnieni byli wszyscy mistrzowie jak to wynika z treści art. 6... „jeśliby ... który brat u kogo mięso podejrzane znalazł”.

Do orzekania kar powoływano sądy cechowe, złożone ze wszystkich mistrzów, rzecz prosta, z wyłączeniem oskarżonego i oskarżyciela. Przewód sądowy wymagał udowodnienia podsądnemu zarzutu, co ujęte jest w zdaniach: „a dowiedzione mu” albo „powinien mu tego dowieść wedle prawa”.

Karv były różnicowane:

1) pozbawienie prawa wykonywania zawodu stosowano w 3 przypadkach:

- sprzedaż mięsa ze zmianami anatomopatologicznymi.
- dokonanie uboju koniecznego w ścisłym tego słowa znaczeniu (obawa padnięcia).
- dokonanie uboju koniecznego ze względu gospodarczych (wychudzenie na tle chorobowym, niedożywiania, nadmiernej pracy itd.)