

УДК 636.09:614.31:63-027.3

ИЩЕНКО Л.М., канд. вет. наук. e-mail: ischenko_lm@ukr.net.

АНДРЕЄВ І.В., e-mail: vmdd1@ukr.net.

ПЛОТНИЦЬКА А.В., e-mail: plotnitskaya@ukr.net.

ШИНКАРЕНКО Л.М., e-mail: golanpex@gmail.com

КАЛАКАЙЛО Л.І., e-mail: kalakajlo92@ukr.net.

КОЛЕСНИКОВА Т.П., e-mail: Tkolestkoles@gmail.com.

УШКАЛОВ В.О., д-р вет. наук, член-кореспондент НААН України

e-mail: ushkalov63@gmail.com.

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК***ВИКОРИСТАННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ
ДЛЯ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ТА БЕЗПЕКИ ПРОДУКЦІЇ АГРОПРОМИСЛОВОГО
КОМПЛЕКСУ**

Проаналізовано та узагальнено результати дослідження щодо якісного та кількісного вмісту ГМО в продукції агропромислового комплексу та ідентифікації видового складу м'ясної сировини у сосисках різних виробників придбаних у торгівельні мережі.

Показано присутність в Україні таких генетично модифікованих культур як соя, кукурудза, ріпак та цукровий буряк. Проведено ідентифікацію ліній ГМ-рослин та встановлено що такі ГМ-лінії як соя GTS 40-3-2 та ріпак GT 73 є стабільно присутніми на агропромисловому ринку України, а окремі ГМ-лінії тільки з'являються (ГМ-лінія сої MON 89788).

Досліджено 12 зразків сосисок різних виробників щодо видового складу м'ясної сировини методом ПЛР в реальному часі та виявлено 5 зразків, що складає 42 %, які не відповідали за видовим складом м'ясної сировини, тій що заявлена виробником (4 види сосисок виготовлено за ТУ і 1 вид за ДСТУ).

***Ключові слова:** якість та безпека продукції АПК, молекулярно-генетичні методи дослідження, генетично-модифіковані рослини, фальсифікація видового складу м'ясних продуктів.*

Вступ. Молекулярно-генетичні методи – різноманітна група методів, які використовуються для аналізу певної ділянки геному. Одним із таких методів є полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Сьогодні даний метод використовують для вирішення найрізноманітніших завдань серед яких діагностика інфекційних та генетичних захворювань, криміналістичні дослідження, філогенетика, різноманітні фундаментальні дослідження у молекулярній біології тощо. У відділі молекулярно-біологічних досліджень УЛЯБП АПК метод полімеразної ланцюгової реакції використовують для визначення якісного та кількісного вмісту ГМО в продукції агропромислового комплексу та для ідентифікації видового складу м'ясної сировини в продуктах м'ясної промисловості.

Станом на 2016 рік близько 185 млн. га, що становить майже 10 % придатної орної землі в світі, використовується для вирощування ГМ-рослин. Хоча неофіційна статистика наводить набагато більші цифри. Лідером у галузі вирощування ГМ рослин є США, далі йдуть Аргентина, Бразилія, Індія, Канада та Китай. В основному вирощування ГМ-рослин зосереджене на таких чотирьох видах сільськогосподарських культур як соя, кукурудза, ріпак та бавовна [1]. Уряди багатьох країн займаються розробкою нормативно-правових

інструментів для попередження можливих ризиків, пов'язаних з поводженням з ГМО. Основною причиною такої необхідності є забезпечення споживачу права вибору споживання харчової продукції, яка містить ГМО. В зв'язку з чим обіг ГМО в більшості країн світу є контрольованим (наприклад – Регламенти ЄС 1829/2003, Регламент ЄС 1830/2003 Регламент ЄС 258/27) [2]. В Україні нормативно-правовим документом який регулює обігу ГМО є Закон України № 1103 «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів» від 31.05.2007 року, прийнятий з метою імплементації в законодавство України основних принципів Картахенського протоколу про біобезпеку [3].

Однак як показує практика дієвий механізм регулювання ГМО, особливо в аспекті його реєстрації фактично відсутній. Не зважаючи на існування чотирьох державних реєстрів на сьогоднішній день в Україні зареєстрованим та дозволеним у виробництві кормів для сільськогосподарських тварин є тільки один вид ГМО, а саме «шрот соєвий ГМО-лінії MON 40-3-2» реєстрація якого дійсна до 2018 року. Але як показують результати дослідження нашої та інших лабораторій в обігу присутні і інші ГМО, зокрема ГМ-лінії сої, кукурудзи та ріпаку.

Фальсифікація видового складу м'ясних продуктів, окрім економічного шахрайства, має цілий ряд інших проблем, серед яких можна виділити медичні, ветеринарно-санітарні та соціальні. З медичних і ветеринарних аспектів небезпеку становить можливість попадання в м'ясну сировину, готові м'ясні вироби, корми для тварин та дієтичні добавки кісткового чи м'ясо-кісткового борошна тварин, хворих губчастою енцефалопатією великої рогатої худоби (ГЕ ВРХ) [4, 5]. Також слід відмітити виникнення індивідуальних алергічних реакцій, на вживання певного виду м'яса [6], та збільшення випадків алергії у дітей на вживання яловичини [7]. Серед соціальних питань варто зазначити релігійні табу на деякі види м'яса, моральне несприйняття споживання м'яса окремих видів тварин.

Таким чином, потреба видової ідентифікації м'ясних компонентів в продуктах харчування та кормах для тварин не викликає сумнівів, у зв'язку з чим нами було розроблено діагностичні тести для ідентифікації яловичини, свинини і курятини, визначено їх специфічність та ефективність використання для продуктів, що зазнали термічної обробки [8].

Мета роботи. Проаналізувати та узагальнити результати дослідження щодо якісного та кількісного складу ГМО, ідентифікації ГМ-ліній, та ідентифікації видового складу м'ясної сировини у сосисках, отримані у 2018 році.

Матеріали і методи досліджень. Для дослідження якісного та кількісного складу ГМО, а також ідентифікації ГМ-ліній використовували зразки комерційного напрямку. Для ідентифікації видового складу м'ясної сировини у сосисках використовували придбані у торговельній мережі 12 видів сосисок різних виробників.

Дослідження якісного та кількісного вмісту ГМО проводили згідно ДСТУ ISO 21569:2008 [4], ДСТУ ISO 21571:2008 [5], ДСТУ ISO 21570:2008 [6]. Для ідентифікації видового складу м'ясної сировини у сосисках використовували розроблену нами методику на основі ПЛР у режимі реального часу.

Дослідження проводили на приладі *CFX96 Real-Time System (BioRad)*.

Результати досліджень та їх обговорення.

Якісне та кількісне визначення ГМО. Протягом 2018 року було проаналізовано 356 зразків дослідження продукції агропромислового комплексу щодо якісного та кількісного вмісту ГМО методом ПЛР в реальному часі. В результаті дослідження виявлено 70 позитивних зразків, що становить 19,7 % від загальної суми (рис.1).

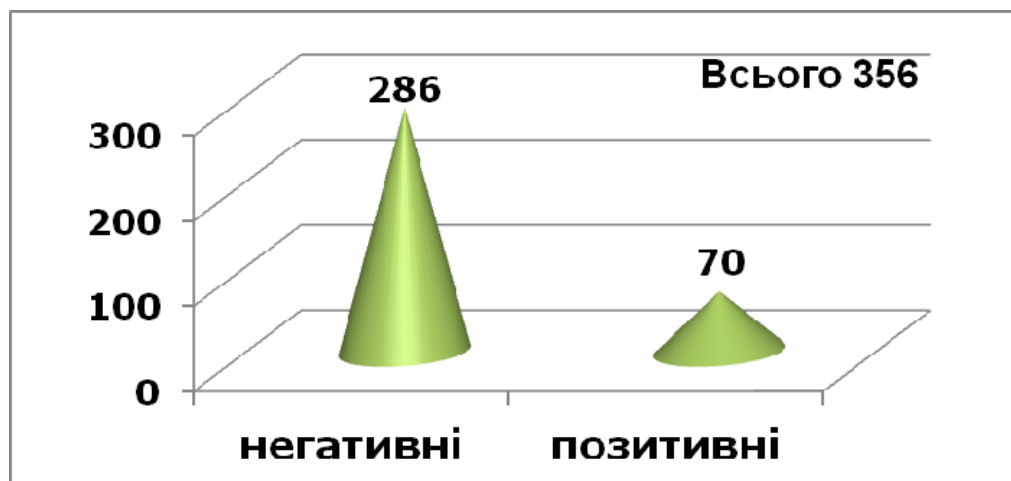


Рис. 1. Результати дослідження якісного аналізу на вміст ГМО.

Аналізуючи дані щодо кількості зразків в яких виявлено ГМО за останніх три роки, то варто зазначити, що в відсотковому відношенні їх кількість щорічно зростає. Так, якщо в 2015 році відсоток позитивних зразків складав приблизно 2,0 % в 2016 році 8,4 % ГМО то у 2017 році кількість позитивних зразків зросла до 19,7 % (рис.2), що свідчить про зростання частки біотехнологічних культур на сільськогосподарському ринку України.

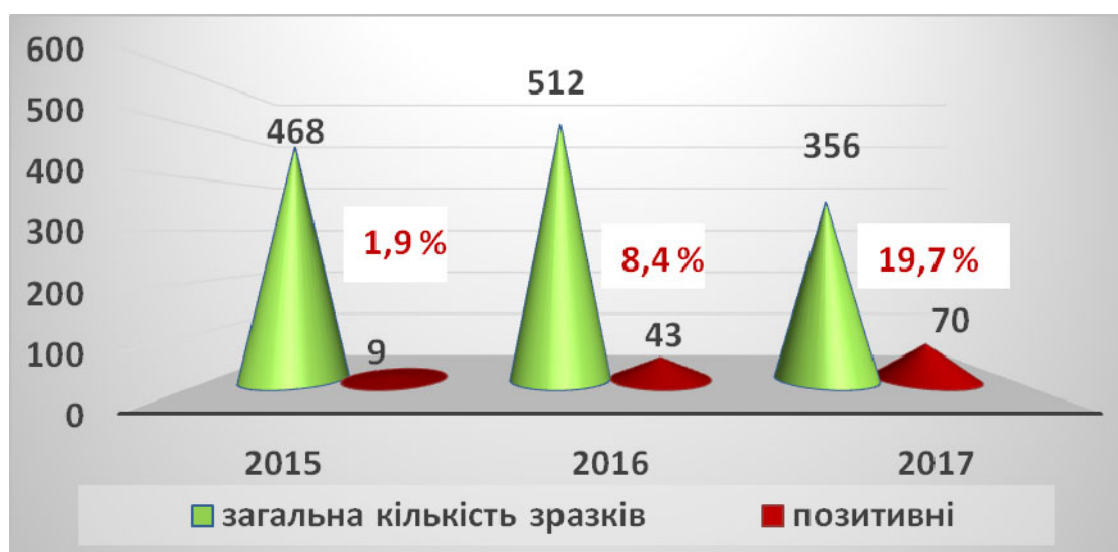


Рис. 2. Частка позитивних зразків щодо вмісту ГМО за останні 3 роки.

Ідентифікація ГМ-ліній. Важливою складовою дослідження вмісту ГМО є ідентифікація ГМ-ліній, оскільки вона дає можливість зрозуміти, які самі лінії тієї чи іншої ГМО-рослини присутні в обігу на агропромисловому ринку, а у випадку багатокомпонентних зразків, можливість прослідкувати які ГМ-лінії попадають у виробництво продуктів харчування чи кормів для тварин.

Завдяки багаторічному доробку сьогодні в УЛЯБП АПК є можливість ідентифікації 17 ліній ГМ-кукурудзи, 7 ліній ГМ-ріпаку та 5 ліній ГМ-сої. Усі зразки в яких виявлено ГМО обов'язково проходять ідентифікацію незалежно від потреб замовника.

У табл. 1 наведено результати ідентифікації ГМ-ліній в позитивних зразках за 2017 рік. Основними ГМ-лініями рослин, які присутні в обігу на ринку України є ГМ-лінія сої GTS 40-3-2 та ГМ-лінія ріпаку GT 73. ГМ-лінія сої GTS 40-3-2 ідентифікуються і у кормах для тварин, що говорить про те що біотехнологічна соя використовується для виробництва кормів для тварин.

Аналізуючи отримані результати ідентифікації позитивних зразків варто звернути увагу на кукурудзу, яка контамінована ГМ-соєю. Інтерпретація кількісного визначення такого зразка достатньо суперечлива, оскільки масова частка сої по відношенні до кукурудзи, як правило, знаходиться на межі контамінації, але якщо відібрати із такого зразка сою і зробити кількісний аналіз, то вміст ГМО складає більше 10,0.

Таблиця 1

Результати ідентифікації позитивних зразків

Зразок	ГМ-лінія	Кількість зразків
Соя	<i>GTS 40-3-2</i>	37
Соя	<i>Не ідентифіковано</i>	4
Ріпак	<i>GT 73</i>	19
Кукурудза	<i>ГМ-лінія сої GTS 40-3-2</i>	3
Цукровий буряк	<i>Ідентифікацію не проводили (виявлено ген CP4 EPSPs, який детермінує стійкість до гліфосату амонію)</i>	1
Макуха соєва	<i>ГМ-лінія сої GTS 40-3-2</i>	1
Премікс	<i>ГМ-лінія сої GTS 40-3-2</i>	1
Комбікорм	<i>ГМ-лінія сої GTS 40-3-2 Моп 89788</i>	4
<i>Всього</i>		70

Крім того у цьому році вперше було виявлено генетично модифікований цукровий буряк, стійкий до гліфосату амонію.

Ідентифікація видового складу м'ясної сировини у сосисках. У досліджених зразках сосисок проводили ДНК-ідентифікацію яловичини, свинини та курятини, а потім отримані результати порівнювали із зазначеним виробником видовим складом м'ясної сировини на етикетці. Результати дослідження представлено в табл. 2.

Аналізуючи представлені в таблиці 2 дані можна сказати що 5 із 12 видів сосисок, що складає 42 %, не відповідає по видовому складу м'ясної сировини, яка заявлена виробником (4 із них виготовлено за ТУ і 1 за ДСТУ). Так у № 3 зразку «Сосиски «Молочні» від Глобино заявлено свинину і яловичину, а виявлено свинину і курятину. У зразку № 4 Сосиски «Антошка» від Колбасков вказана виробником тільки курятину, а виявлено усі три види м'ясної сировини. У зразку № 6 заявлено свинину і яловичину, а виявлено усі три види м'ясної сировини. В зразках № 9 і № 10 виробником заявлено три види м'ясної сировини, але за допомогою ПЛР в реальному часі виявлено тільки курятину і свинину.

Результати дослідження ДНК-ідентифікації видового складу м'ясної сировини у сосисках

№	Виробник	Назва продукту	Ціна, грн	Результати дослідження					
				Куря-тина*	Ст*	Ялови-чина*	Ст*	Свини-на*	Ст*
1	М'ясна лавка	Сосиски «Тигрєня», ТУ	91	40%	21,5	10%	32,0	30%	21,2
2	М'ясна гільдія	Сосиски «П'ятачки з сиром», ТУ	83	8%	22,9	17%	33,7	46%	25,4
3	Глобіно	Сосиски «Молочні», ДСТУ	98	-	25,9	30%	-	65%	20,5
4	Колбасков	Сосиски «Антошка», ТУ	68	80%	23,5	-	35,3	-	29,0
5	М'ясна гільдія	Сосиски, ТУ	86	8%	23,9	17%	28,4	46%	25,8
6	Ятрань	Сосиски з сиром, ТУ	88	-	25,3	44%	29,4	44%	23,9
7	Обухівські ковбаси (ТОВ «Зернопром»)	Сосиски молочні, ТУ	74	+	24,0	+	27,4	+	22,4
8	Укрпромстач-95	Сосиски молочні, ДСТУ	114	-	-	35%	27,2 1	60%	22,5 1
9	М'ясна гільдія	Сосиски смачні, ТУ	83	+	23,2	+	-	+	27,2
10	Алан	Сосиски дитячі, ТУ	147	+	25,2	+	-	+	24,1
11	ТМ Бащинський	Сосиски філейні, ТУ	88	72%	23,3	-	-	-	-
12	Фарро Кременчукм'ясо	Сосиски лікарські, ДСТУ	109	+	24,4	+	31,2	+	24,5

Примітки: *видовий склад м'ясної сировини зазначений виробником на етикетці, **граничний цикл (St) отриманий у ПЛР в реальному часі.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Аналіз результатів дослідження наявності ГМО в продукції агропромислового комплексу свідчить про присутність в Україні таких генетично модифікованих культур як соя, кукурудза та ріпак. Окремі лінії ГМ-рослин такі як соя GTS 40-3-2, ріпак GT 73 є стабільно присутніми на агропромисловому ринку України, а окремі тільки з'являються (соя MON 89788).

В результаті дослідження 12 зразків сосисок щодо видового складу методом ПЛР в реальному часі виявлено 5 зразків, що складає 42 % які не відповідали по видовому складу м'ясної сировини, яка заявлена виробником. Отримані дані свідчать про порушення технології виробництва даного виду м'ясної продукції. Тому вважаємо, що запропонована методика для ідентифікації яловичини, свинини та курятини методом ПЛР в реальному часі може бути

використана для ідентифікації як сировини, так і готових продовольчих продуктів, що дозволить працівникам ветеринарно-санітарної служби краще здійснювати контроль за якістю м'ясної продукції, та попереджати факти фальсифікації останньої.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Wunderlich S., Gatto K. A. Consumer Perception of Genetically Modified Organisms and Sources of Information / S. Wunderlich, K. A. Gatto // Adv. Nutr. – 2015. – V6. – P. 842–851.
2. Aarts H. J. Traceability of genetically modified organisms / H. J Aarts, J. P van Rie, E. J Kok // Expert Rev Mol Diagn. – 2002 – Vol.2(1). – P. 69–76.
3. Закон України «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/1103-16>.
4. Вербицький, П. І. Статус України щодо губчастоподібної енцефалопатії великої рогатої худоби згідно з рекомендаціями кодексу МЕР [Текст] / П. І. Вербицький, В. В. Влізло, А. В. Абрамов, О. В. Ложкіна // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 1. – С. 7–10.
5. Назар, Б. І. Обмеження та контроль за використанням білків жуйних тварин в Україні [Текст] / Б. І. Назар // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 209–211.
6. Theler, B. Clinical presentation and diagnosis of meat allergy in Switzerland and Southern Germany [Text] / B. Theler, K. Brockow, B. Ballmer-Weber // Swiss Med Wkly. – 2009. – Vol. 139, Issue 17-18. – P. 264–270.
7. Fiocchi, A. Beef allergy in children [Text] / A. Fiocchi, P. Restani, E. Riva // Nutrition. – 2000. – Vol. 16, Issue 6. – P. 454–457.
8. Спиридонов, В. Г. Ідентифікація ДНК тваринного походження в м'ясних продуктах та кормах, що зазнали термічної обробки [Текст] / В. Г. Спиридонов, Л. М. Іщенко, С. Д. Мельничук // Продовольча індустрія АПК. – 2010. – № 3-4. – С. 39–43.
9. ДСТУ ISO 21569:2008 Продукти харчування. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їх вмістом. Якісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти (ISO 21569:2005, IDT).
10. ДСТУ ISO 21571:2008 Продукти харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їх вмістом. Екстрагування нуклеїнової кислоти (ISO 21571:2005, IDT).
11. ДСТУ ISO 21570:2008 Продукти харчування. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їх вмістом. Кількісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти (ISO 21570:2005, IDT).
12. CEN/TS 15568 Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Sampling strategies.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКЦИИ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА / Ищенко Л.М., Андреев И.В., Плотницкая А.В., Шинкаренко Л.Н., Калакайло Л.И., Колесникова Т.П., Ушкалов В.О.

Проанализированы результаты исследования качественного и количественного содержания ГМО в продукции агропромышленного комплекса и идентификации видового состава мясного сырья в сосисках различных производителей приобретенных в различных торговых сетях.

Показано присутствие в Украине таких генетически модифицированных культур как соя, кукуруза, рапс и сахарная свекла. Проведено идентификацию линий ГМ-растений и показано, что такие ГМ-линии как соя GTS 40-3-2 и рапс GT 73 стабильно присутствуют на агропромышленном рынке Украины, а отдельные ГМ-линии сои только появляются (ГМ-линия сои MON 89788).

Исследовано 12 образцов сосисок различных производителей относительно видового состава мясного сырья, методом ПЦР в реальном времени. Выявлено 5 образцов, что составляет 42% от общего количества, которые не соответствовали по видовому составу мясного сырья, тому который заявлен производителем на этикетке (4 вида сосисок изготовлено по ТУ и 1 вид по ГОСТу).

Ключевые слова: качество и безопасность продукции АПК, молекулярно-генетические методы исследования, генетически модифицированные растения, фальсификация видового состава мясных продуктов.

USE OF MOLECULAR GENETIC METHODS FOR QUALITY AND SAFETY OF PRODUCTION OF AGRO INDUSTRIAL COMPLEX / Ishchenko L.M., Andreev I.V., Shynkarenko L.M., Kalakaylo L.I., Kolesnikova T.P. Ushkalov V.O.

Introduction. In the Department of Molecular Biological Research, the Ukrainian Laboratory of Quality and Safety of Agricultural Products method of polymerase chain reaction is used to detection of genetically modified organisms in agricultural products and to DNA-identification of the species composition meat raw in products of the meat industry.

The goal of the work was to analyze and summarize the results of research detection of genetically modified organisms, identification of GM events, and DNA-identification of the species composition meat raw in sausages of the obtained in 2018.

Materials and methods. To detection of genetically modified organisms and identification of GM events were used samples of the commercial direction. To study DNA-identification of the species composition meat raw in sausages we used 12 different kinds of sausages which were purchased in the trading network.

Results of research and discussion. During 2018 were analyzed 356 samples of agricultural products for the detection of genetically modified organisms by the real-time PCR. We discovered 70 positive samples that representing 19,7 % of the total. It has been established that over the past three years, the number of positive samples in percentage terms increases yearly. The main GM events of plants that are present in Ukraine are the GM-soybean GTS 40-3-2 and the GM-rape GT 73. GM-event GTS 40-3-2 is also identified in feeds. It says that biotechnological soybean is used to produce feed.

There were examined 12 samples different kind of sausages regarding the species composition of meat raw by real time PCR and found 5 samples(42,0 %), which did not correspond to the species composition of meat raw as declared by the producer.

Conclusions and prospects for further research. We have shown that in agricultural market in Ukraine are present genetically modified crops such as soybean, corn and rape (GM event soybeen GTS 40-3-2 and event MON 89788, rape GT 73).

We have found that 5 samples from 12 (42,0 %) the species composition of meat raw did not correspond to the species composition of meat raw as declared by the producer. The obtained data testify to the violation of the technology of production of this kind of meat products.

Keywords: quality and safety of AIC products, molecular genetics methods of research, genetically modified plants, falsification of the species composition of meat products.

REFERENCES

1. Wunderlich S., Gatto K. A. (2015) *Consumer Perception of Genetically Modified Organisms and Sources of Information*. Vol.6. – P. 842–851 [in English].

2. H. J Aarts, J. P van Rie, E. J Kok (2002) Traceability of genetically modified organisms. *Expert Rev Mol Diagn.* Vol. 2(1). – P. 69–76 [in English].
3. Zakon Ukrainy «Pro derzhavnu systemu biobezpeky pry stvorenni, vyprobuvanni, transportuvannia vykorystanni genetychno modyfikovanyh organizmiv» [Law of Ukraine About the state system of biosafety at creation, testing, transportation and use of genetically modified organisms] *zakon1.rada.gov.ua Retrieved from: <http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1103-16>*. [in Ukrainian]
4. Verbyts'tsyy, P. I., Vlizlo, V. V., Abramov, A. V., Lozhkina, O. V. (2010). Ctatus Ukrayiny shchodo hubchastopodibnoyi entsefalopatiyi velykoyi rohatoyi khudoby zhihno z rekomendatsiyamy kodeksu MEB. *Veterynarna medytsyna Ukrayiny*, 1, 7–10 [in Ukrainian].
5. 2. Nazar, B. I. (2012). Obmezheniya ta kontrol' za vykorystanniam bilkiv zhuynykh tvaryn v Ukrayini. *Naukovyy visnyk L'vivs'koho natsional'noho universytetu veterynarnoyi medytsyny ta biotekhnolohiy imeni S. Z. Gzhyts'koho*, 14 (3), 209–211 [in Ukrainian].
6. Theler B., Brockow K., Ballmer-Weber B., (2009) Clinical presentation and diagnosis of meat allergy in Switzerland and Southern Germany. *Swiss Med Wkly.*, Vol. 139(17-18). – P. 264–270 [in English]
7. Fiocchi A., Restani P., Riva E., (2000) Beef allergy in children. *Nutrition.*, Vol. 16 (6). – P. 454–457 [in English].
8. Spyrydonov V.G., Ishchenko L. M., Melnychuk S.D. (2010) Identification of DNA of animal origin in meat products and fodders undergoing heat treatment *Food industry of agrarian and industrial complex*. Vol. 3-4. - P. 39-43 [in Ukrainian].
9. Produkty harchuvannja. Metody vyjavlennja genetychno modyfikovanyh organizmiv i produktiv z i'h vmistom. Jakisni metody na osnovi analizuvannja nuklei'novoi' kysloty [Foodstuffs. Methods of detecting genetically modified organisms and products with their content. Qualitative methods based on nucleic acid analysis] (2008). DSTU ISO 21569: 2008 (ISO 21569: 2005, IDT) [in Ukrainian].
10. DSTU ISO 21571: 2008 Produkty harchovi. Metody vyjavlennja genetychno modyfikovanyh organizmiv i produktiv z i'h vmistom. Ekstraguvannja nuklei'novoi' kysloty [Food products. Methods of detecting genetically modified organisms and products with their content. Extraction of the nucleic extract] (2008) DSTU ISO 21571: 2008, (ISO 21571: 2005, IDT) [in Ukrainian].
11. Produkty harchuvannja. Metody vyjavlennja genetychno modyfikovanyh organizmiv i produktiv z i'h vmistom. Kil'kisni metody na osnovi analizuvannja nuklei'novoi' kysloty [Foodstuffs. Methods of detecting genetically modified organisms and products with their content. Quantitative methods based on nucleic acid analysis] (2008) DSTU ISO 21570: 2008 (ISO 21570: 2005, IDT) [in Ukrainian].
12. CEN/TS 15568 Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Sampling strategies [in English].