

АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ



ВИЗНАЧЕННЯ ГМО ТА МАРКУВАННЯ ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ

М. Будьонний, генеральний директор,
О. Дуліна, начальник випробувальної харчової лабораторії,
Н. Моріна, хімік 1-ї категорії,
ДП «Харківстандартметрологія», м. Харків

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГМО И МАРКИРОВКИ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

М. Буденный, генеральный директор,
Е. Дулина, начальник испытательной пищевой лаборатории,
Н. Морина, химик 1-й категории,
ГП «Харьковстандартметрология», г. Харьков

CURRENT ISSUES CONCERNING DEFINITION OF GENETICALLY MODIFIED ORGANISM AND ON LABELING OF FOOD PRODUCTS

M. Budionnyi, General Director,
O. Dulina, Food Testing Laboratory Head,
N. Morina, Chemist of the 1st Category,
«Kharkivstandartmetrologia» State Enterprise, Kharkiv

Сьогодні проблеми отримання і використання ГМО, рослин і тварин привертають все більшу увагу наукових, екологічних та правозахисних організацій. Для оцінення усього різноманіття аспектів і потенційних ризиків цього питання насамперед доцільно дати визначення поняттю ГМО.

Генетично модифікований організм — це живий організм, генотип якого було змінено за допомогою методів генної інженерії з метою створення нових властивостей, необхідних людині. Через зміну спадкової інформації у рослин можна домогтися підвищення їх урожайності, стійкості до гербіцидів, вірусів, хвороб [1]. Такі рослини дають більш багаті й стабільні врожаї, ніж їхні природні аналоги, на їх ріст й урожайність не впливають можливі природні аномалії. Харчові продукти, отримані з таких генномодифікованих (ГМ) культур, можуть мати поліпшені смакові якості, краще виглядати й довше зберігатися.

У статті розглянуто проблеми отримання, використання та розповсюдження генетично модифікованих організмів (ГМО) в аспекті національної безпеки України. Позначено основні ризики, ймовірні при використанні генетично модифікованих мікроорганізмів, рослин і тварин. Обговорено нормативно-законодавчі основи розповсюдження і контролю ГМО в Україні та світі. Зроблено огляд основних методів визначення ГМО, детальніше розглянуто найсучаснішу методологію — полімеразну ланцюгову реакцію у реальному часі — ПЛР-РЧ.

Наприклад, щоб зробити помідори й полуницю стійкими до морозу, їм «вживляють» гени північних риб; для захистення кукурудзи від шкідників їй можуть «прищепити» дуже активний ген, отриманий з отрути змії. Тобто у живій природі за допомогою методів природньої селекції виникнення таких організмів неможливе.

Досліди із внесення чужих генів у ДНК рослин і тварин почали проводити в 1970-х роках. Перші трансгенні продукти розробила фірма «*Monsanto*» (США). Перші сіяння трансгенних злаків були здійснені в 1988 році, а в 1993 році продукти із ГМ компонентами з'явилися у продажу. Вважається, що на ринках країн СНД перші партії ГМ картоплі фірми «*Monsanto*» з'явилися наприкінці 90-х років.

Біотехнологічні компанії, що займаються виробництвом ГМ продуктів, розвивалися стрімкими темпами. Зупинити виробництво, до якого залучено величезні інвестиції, було практично неможливо. Основними країнами-виробниками ГМО стали США, Канада, Китай, Аргентина.

Немало вчених висловлюються стосовно переваг існування ГМ-технологій, доводячи, що їхнє запровадження дозволить вирішити глобальні проблеми людства: продовольчу, створення нових ліків і вакцин, використання трансгенних тварин у трансплантології, винайдення джерел нових видів палива [2].

Але необхідно пам'ятати, що сучасна генна інженерія ще не досягла такого рівня розвитку, щоб передбачити наперед, які наслідки може мати втручання у спадкоємну інформацію материнської клітини, які процеси може спровокувати це втручання. Існують труднощі у визначенні, куди конкретно потрапить вбудований ген, і відповідно, як саме ця пересадка може позначитися в майбутньому [3]. Таким чином, неконтрольоване виробництво й споживання ГМ продуктів може мати непередбачені наслідки. Щоб повністю зрозуміти всі ризики вживання в їжу трансгенних продуктів, має пройти кілька десятків років і змінитися кілька поколінь, що харчувалися ГМ продуктами.

Очевидно, що створення й розповсюдження трансгенних рослин, з одного боку, може розв'язати цілий комплекс проблем, таких як агротехнічні й продовольчі, технологічні й фармакологічні, а з іншого — може призвести до непоправних наслідків для здоров'я людини та екології в цілому.

Вчені виділяють три основні групи ризиків розповсюдження трансгенних рослин та ГМ продуктів: екологічні, агротехнічні та харчові [4].

До екологічних ризиків належать:

- зниження сортової різноманітності сільськогосподарських культур;
- зниження біорізноманітності дикорослих предкових форм культурних рослин і формування «супербур'янів»;
- ураження токсичними трансгенними білками нецільових комах, ґрунтової мікрофлори та порушення трофічних ланцюгів;
- поява у шкідників стійкості до використовуваних трансгенних токсинів.

Агротехнічні ризики можуть бути пов'язані з неефективністю трансгенної стійкості до шкідників че-

рез декілька років масового використання даного сорту, монополізацією виробництва насінневого матеріалу.

Вживання людиною ГМ продуктів може привести до:

- пригнічення імунітету, появи гострих порушень функціонування організму, таких як алергічні реакції та метаболічні розлади, внаслідок безпосередньої дії трансгенних білків;
- появи стійкості патогенної мікрофлори людини до антибіотиків у наслідок того, що у процесі отримання ГМО досі використовуються маркерні гени, стійкі до антибіотиків;
- порушення здоров'я, пов'язані із накопиченням в організмі людини гербіцидів у результаті споживання трансгенних рослин, які за умови масового використання сільськогосподарських хімікатів можуть їх акумулювати.

Отже, просування ГМ продуктів на ринки нашої країни має не лише урахувати переваги, які може принести їхнє промислове використання, але й гарантувати безпечність цих технологій для здоров'я людей. У кожній людини має бути свобода вибору, які продукти вживати в їжу — ГМ або звичайні.

Країни світу демонструють різні підходи до законодавчого регулювання щодо виробництва, поширення, використання та споживання ГМ продуктів. У насиченні світового ринку ГМ продуктами на перший план вийшли США, Канада, Аргентина. Тому не дивно, що законодавство цих країн дуже лояльне до вживання ГМ продуктів. У той же час, країни Європейського Союзу з настороженістю ставляться до розповсюдження й уживання ГМ продуктів та намагаються захистити своє населення від подібної продукції.

У рамках природоохоронної діяльності ООН стала ініціатором розроблення міжнародних правових актів, які регулюють питання у сфері поводження із ГМО. Необхідність у міжнародному масштабі регулювати діяльність, пов'язану із сучасною біотехнологією, члени ООН визнали на конференції в Ріо-де-Жанейро в 1992 році. На ній 193 держави (плюс Європейська Співдружність у цілому як окремий учасник конференції) підписали Конвенцію з біорізноманіття і створили комітет з розроблення відповідного Протоколу [5]. Він називається Картахенським, оскільки його майже прийняли в 1999 році на конференції в колумбійському місті Картахена-де-Індіас. Через розбіжності сторін та сильну протидію, яку продемонстрували США, остаточний варіант Протоколу з біобезпеки було прийнято у 2000 році в м. Монреалі (Канада) та підписано 130 країнами.

Завдання Протоколу — створення умов для безпечного транспортування, оброблення, використання ГМО, запобігання негативного впливу ГМО на живу природу. У 2002 році Україна ратифікувала

«Картахенський протокол» [6], тобто стала на шлях створення законодавчої бази з контролю над виробництвом і застосуванням ГМО. Закон [7] став нормативно-правовою базою, виконання якої дає змогу здійснювати контроль над ввезенням, застосуванням і використанням ГМО усередині країни, став гарантом безпеки ГМ-технологій для здоров'я своїх громадян.

У травні 2009 року Кабінет Міністрів України прийняв Постанову № 468 [8], а в грудні того ж року прийнято Закони [9,10]. Відповідно до цих документів виробники й реалізатори харчової продукції у тих випадках, якщо продукція містить ГМ-білок, зобов'язані інформувати покупця спеціальним позначенням на етикетці. Одночасно із прийняттям постанови [8] Кабінетом Міністрів України було ухвалено рішення стосовно створення мережі лабораторій для здійснення контролю над наявністю ГМО у харчовій продукції.

Для виявлення ГМ ДНК можна застосовувати декілька методів (рис. 1). Основою будь-якої технології виявлення ГМО є використання відмінностей між немодифікованими аналогами й трансгенними організмами. Це може бути здійснено шляхом детектування нової ДНК, яка була введена, або синтезованого нового білка, або використанням хімічного аналізу для виявлення нового метаболіту небілкової природи.

Імуноферментний аналіз (ІФА) дозволяє виявити наявність білка — продукту модифікації певного гена організму, шляхом зв'язування його специфічними до даного білка антитілами.

Високоєфективна рідинна хроматографія, газова хроматографія (ВЕРХ/ГХ), спектральні методи — визначення зміненого хімічного складу ГМ продукту (наприклад, жирнокислотного й триглі-

церидного складу жирів у ГМ сортів рапсу або сої, структура волокон у ГМ сої).

ПЛР-РЧ — найбільш точна й поширена сьогодні методологія виявлення ГМО. У системі ПЛР-РЧ моніторинг реакції іде тоді, коли вона в дійсності відбувається у реальному часі. Це можливо за умови використання особливого складу реакційної суміші й ампліфікатора з можливістю детектувати флуоресценцію.

Контролювання якісного та кількісного вмісту ГМО у харчових продуктах, сільськогосподарській сировині, насінневому матеріалі, кормах стало можливим завдяки чинним в Україні національним стандартам, гармонізованим із міжнародними [11—14].

Ураховуючи необхідність контролю ГМО й маркування харчових продуктів, що містять транс-генні джерела, а також зростаючий інтерес споживача до якості й безпечності харчових продуктів, керівництвом ДП «Харківстандартметрологія» було ухвалено рішення щодо організації в акредитованій відповідно до міжнародних вимог [15] випробувальній харчовій лабораторії нового напрямку — відділення молекулярно-генетичних випробувань (атестат № 2Н545). Відділення оснащено сучасними аналітичними приладами (ампліфікатор АНК-32) та іншим необхідним допоміжним устаткуванням (ПЦР-бокси, ламінарна шафа, високошвидкісні центрифуги), різними тест-системами імпортного виробництва. Наявність високоефективного устаткування дозволила здійснювати контроль наявності ГМО в продовольчій сировині, готових харчових продуктах та їх інгредієнтах методом ПЛР-РЧ, який є найбільш точним та сучасним.

Аналіз ПЛР-РЧ складається з трьох стадій, описаних далі.

1. Підготування проби біологічного матеріалу

Сутність пробопідготування полягає у готуванні максимально представницької проби, яка відбиває склад усього зразка, екстракції ДНК із біоматеріалу у достатній кількості та із чистотою, придатною для постановки реакції ампліфікації (рис. 2).

2. Ампліфікація й детектування

Отриманий екстракт аналізованого зразка змішують у одноразових поліпропіленових пробірках з реакційною сумішшю, до складу якої входять усі необхідні для реалізації умов ПЛР компоненти. Пробірки встановлюють у термоблок ампліфікатора, що працює в циклічному температурному режимі (рис. 3).

Якщо в аналізованому зразку присутня цільова ДНК, то в процесі реакції ампліфікації з нею

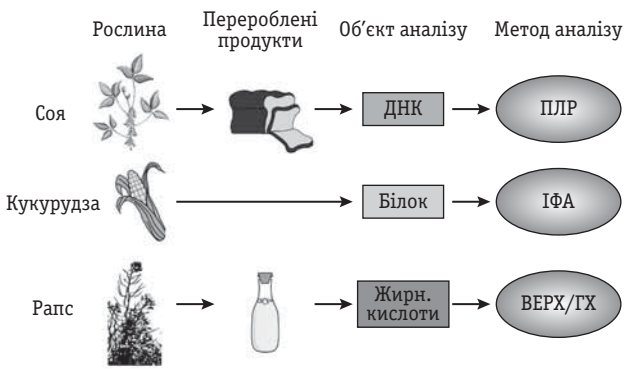


Рис. 1. Методи визначення ГМО

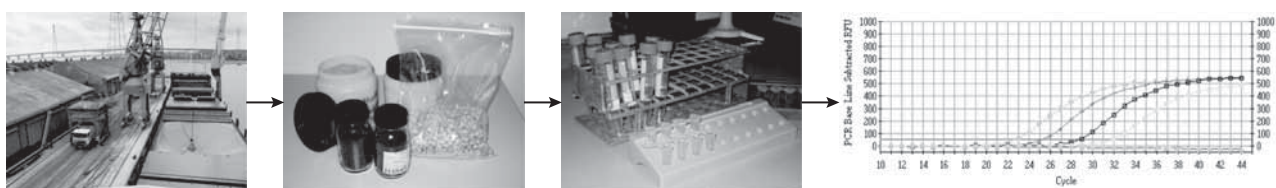


Рис. 2. Схема стадій готування проби біологічного матеріалу до аналізування методом ПЛР-РЧ

відбувається ряд подій, забезпечуваних певними температурними циклами. За малої концентрації аналізованих зразків температурний цикл ампліфікації повторюється до 35 разів. Реактиви забезпечують вибірковість полімеразної ланцюгової реакції й дозволяють виділити цільову ДНК на тлі інших. Під час кожного циклу ампліфікації, синтезовані раніше фрагменти знову копіюються ферментом Таq ДНК-полімеразою. При цьому відбувається експонентне збільшення кількості копій фрагмента вихідної ДНК. Концентрація вихідних специфічних фрагментів ДНК збільшується приблизно як 2^N , де N — кількість циклів (рис. 4).

У ході синтезу комплементарного ланцюга за умови накопичення продукту реакції відбувається зростання сигналу флуоресценції, спостереження чого в реальному часі і лежить в основі методу ПЛР-РЧ. Інтенсивність флуоресценції детектується оптичним блоком ампліфікатора, і результат реакції виноситься на екран монітора у вигляді графіка залежності флуоресценції від кількості циклів у реакції. Кінетична крива ПЦР у координатах «Рівень репортерної флуоресценції — цикл ампліфікації» має сигмовидну форму.

3. Інтерпретація результатів

Отримані дані використовують для розрахунків значення **порогового циклу** — величини, що дозволяє оцінювати вихідну кількість копій ДНК і порівнювати зразки між собою. Ампліфікатор АНК-32



Рис. 3. Пробірки для ПЦР з реакційною сумішшю та ампліфікатор АНК-32

дозволяє проводити вимірювання вихідної кількості специфічної ДНК у досліджуваному зразку в широкому динамічному діапазоні — від одиничних копій ДНК до 10^9 . Використання математичних методів аналізу дозволяє проводити автоматичну інтерпретацію отриманих результатів і знімає проблему суб'єктивного оцінювання. У сучасних приладах, що дозволяють проводити аналіз ПЛР-РЧ, використовуються чотири й більше каналів детектування, що дає змогу використовувати різні барвники для виявлення й порівняльного аналізу декількох специфічних фрагментів ДНК в одній пробірці одночасно (мультиплексний ПЛР-аналіз) (рис. 5).

Завдяки наявності сучасного устаткування, відділення молекулярно-генетичних випробувань випробувальної лабораторії ДП «Харківстандартметрологія» проводить визначення ГМО як якісно, так і кількісно.

Метою *якісного аналізу* (метод скрінінга) є підтвердження присутності в досліджуваних зразках специфічних фрагментів ДНК — промотору 35S та NOS-термінатора, які присутні у ГМ лініях рослин.

Щоб перевірити реактиви та виключити ймовірність контамінації, одночасно з досліджуваними зразками в термоблок устанавлюють позитивні й негативні контрольні зразки; окрім того, проводять реакцію внутрішнього позитивного контролю, що підтверджує можливість нормального проходження реакції ПЛР у кожній пробірці й відсутність інгібіторів. Результатом якісного випробування є підтвердження наявності або відсутності ГМ ДНК у харчовому продукті.

Кількісний аналіз виконується методом порівняння значень порогових циклів з використанням каліброваних зразків із відомою концентрацією специфічних фрагментів ДНК, що дозволяє визначити процентний вміст ГМ ДНК у загальній кількості ДНК.

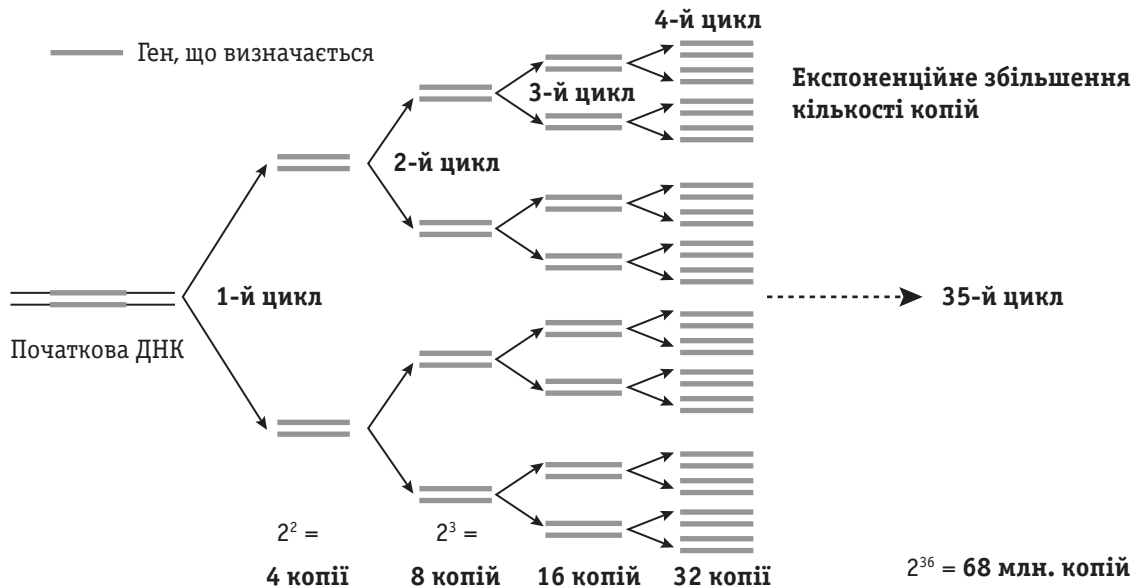


Рис. 4. Експонентне збільшення кількості копій фрагмента вихідної ДНК

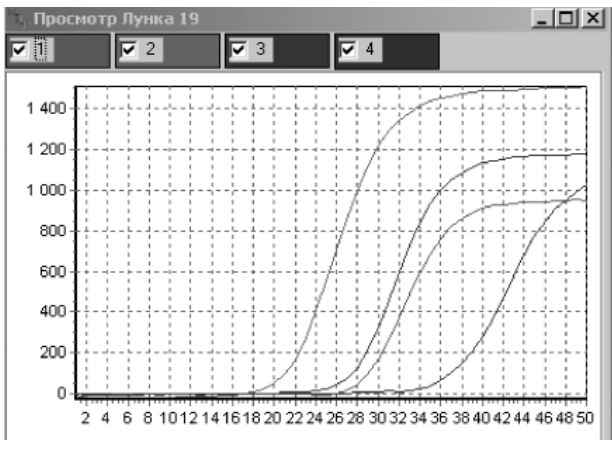


Рис. 5. Результати мультиплексного ПЛР-аналізу

Результати контролю харчової продукції на наявність ГМО в лабораторії ДП «Харківстандартметрологія» показали, що спектр застосування ГМО в харчових продуктах досить великий. Це можуть бути м'ясні й кондитерські вироби, деякі сорти хліба, шоколад, супи, харчосмакові суміші, до складу яких входять соєвий текстурат і соєвий лецитин, плодоовочева продукція, наприклад консервована кукурудза. ГМ-кукурудза також може входити до складу таких продуктів, як соуси, приправи, суміші для випічки, чіпси тощо. Основний потік ГМ-культур становлять увезені із-за кордону соя, кукурудза, рапс. Вони потрапляють до столу як у чистому вигляді, так і як добавки у м'ясних, рибних, хлібобулочних і кондитерських виробках, а також у продуктах дитячого харчування. Наприклад, якщо до складу продукту входить рослинний білок, то це, швидше за все, соя, і скоріше за все ГМ.

У загальному обсязі продукції, що надходить на випробування до харчової лабораторії ДП «Харківстандартметрологія», переважає готова харчова продукція — 88,7 % від усієї кількості випробуваних зразків на наявність ГМО. Продовольча й сільськогосподарська сировина становить 11,3 %. Основні групи готової продукції, що пройшли випробування на наявність ГМО:

Готова харчова продукція	% від загальної кількості
Кондитерські вироби	18,0
М'ясна	18,0
Харчосмакові добавки, пекарські суміші	7,6
Молочна	7,5
Жирова	4,8
Флодоовочева продукція	4,9
Крупи	3,9
Сухі сніданки, концентрати, м'ясні напівфабрикати	4,0

Основні види продовольчої й сільськогосподарської сировини, що проходили випробування на наявність ГМО: зерно, соняшник, соя, кукурудза, цукровий буряк, борошно.

Сільськогосподарська сировина	% від загальної кількості
Пшениця	3,0
Соняшник	1,1
Соя	0,4
Кукурудза	0,3

У результаті проведених випробувань ГМ-продукції виявлено 4,5 %, з них 0,6 % склали продукція, яка містила понад 0,9 % ГМ ДНК — це ковбаси, кондитерські вироби, харчові добавки, соя, кукурудза.

У 2010 році М03 України розробило й затвердило Перелік харчових продуктів та продовольчої сировини, у яких має здійснюватися контроль вмісту ГМО [16].

Незважаючи на усе сказане вище, необхідно відзначити, що питання маркування продуктів із ГМ компонентами для України усе ще залишаються проблемними. За півтора минулих роки після виходу законодавчих документів в Україні офіційно не зареєстровано жодного ГМ-продукту, хоча вже ясно, що такі продукти реально присутні на нашому продуктовому ринку. По суті, «не працює» механізм контролю над вірогідністю інформації, нанесеної на етикетку харчової продукції, хоча законодавчо передбачена відповідальність виробників і реалізаторів за зміст маркування на продукції.

Досі не відрегульовано порядок та періодичність перевірок продукції на наявність ГМО. Отримавши позитивний результат перевірки однієї партії продукції, не можна гарантувати якість наступної. Неприпустимо поширювати результати перевірки однієї партії продукції на всі наступні, навіть якщо це один і той же виробник або постачальник. Деякі несумлінні виробники, очевидно через страх того, що продукція із ГМ-компонентами може стати не конкурентоспроможною, воліють замовчувати достовірну інформацію. Напевно тому українські покупці дотепер на прилавках своїх магазинів бачать лише продукцію з маркуванням «Без ГМО».

Безпека для здоров'я людини багато в чому визначається якістю й безпечністю харчової продукції, яку він уживає. Сьогодні на нашому ринку одночасно існують натуральні харчові продукти й нові продукти, що містять ГМ-компонент, синтетичні харчові добавки тощо. Право кожної людини — вирішувати для себе, що для нього прийнятне, а що ні. Право споживача — зробити свій вибір. Наш обов'язок, як випробувальної лабораторії, гарантувати якість випробувань харчової продукції з метою отримання достовірної інформації стосовно її складу та якості. ▶

ЛІТЕРАТУРА

1. Красовский О. А. Генетически модифицированная пища: возможности и риски // Человек. — 2002. — № 5. — С. 158—164.
2. Чубенко А. Так ли страшны генетически модифицированные продукты, как их рисуют // www.combiotech.ru, «Коммерческая биотехнология».
3. Чечилова С. Трансгенная пища // Здоровье. — 2000. — № 6. — С. 20—23.
4. Тарасов М. Ю., Бондарев В. П., Максимов В. А., Поклонский Д. Л. Генетически модифицированные организмы: «ЗА» и «ПРОТИВ». Вирусологический центр Центрального научно-исследовательского института микробиологии Министерства обороны РФ. — ВИНТИ, 2004. Химическая и биологическая безопасность. — 2004. — № 3—4 (15—16).
5. Картаженський протокол про біобезпеку до Конвенції про біологічне різноманіття: Міжнародний документ від 29.01.2000. — Монреаль, Канада.
6. Закон України «Про приєднання України до Картаженського протоколу про біобезпеку до Конвенції про біологічне різноманіття» від 12.09.2002 № 152-IV.
7. Закон України «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів» від 31.05.2007 № 1103-V (зі змінами).
8. Постанова КМУ «Про затвердження Порядку етикетування харчових продуктів, які містять генетично модифіковані або вироблені з їх використанням та вводяться в обіг» від 13.05.2009 № 468 (зі змінами).
9. Закон України «Про внесення змін до Закону України «Про безпечність та якість харчових продуктів» щодо інформування громадян про наявність у харчових продуктах генетично модифікованих організмів (ГМО)» від 17.12.2009 № 1778-17.
10. Закон України «Про внесення змін до деяких законодавчих актів України щодо надання інформації про вміст у продукції генетично модифікованих компонентів» від 17.12.2009 № 1779-17.
11. ДСТУ ISO 21569:2008. Продукти харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Якісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти.
12. ДСТУ ISO 21570:2008. Продукти харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Кількісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти.
13. ДСТУ ISO 21571:2008. Продукти харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Екстрагування нуклеїнової кислоти.
14. ДСТУ-П CEN/TS 15568:2008. Продукти харчові. Методи виявлення генетичномодифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Відбирання проб.
15. ДСТУ ISO/IEC 17025:2006. Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій.
16. Наказ МОЗ України «Про затвердження Переліку харчових продуктів, щодо яких здійснюється контроль вмісту генетично модифікованих організмів» від 09.11.2010 № 971.

ГЛОСАРІЙ

Ген — (від грец. *genos* — рід, походження), одиниця спадковості, фрагмент ДНК (в деяких випадках РНК), в якому закодована інформація про біосинтез одного поліпептидного ланцюга (білка), відповідальний за яку-небудь ознаку.

Генотип — генетична (спадкова) конституція організму, сукупність всієї спадкової інформації даної клітини або організму.

ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) **та РНК** (рибонуклеїнова кислота) — біологічні макромолекули, що зберігають та передають генетичну інформацію у всіх живих організмах, а також що беруть участь в біосинтезі білків, складаються з блоків, що багато разів повторюються, — нуклеотидів.

Генна інженерія — сукупність методів і технологій отримання рекомбінантних РНК і ДНК, виділення генів з організму, здійснення маніпуляцій з ними і введення в інші організми.

Ампліфікація — процес збільшення кількості копій фрагмента цільової ДНК.

Промотор 35S (від лат. *promoveo* — просуваю) — послідовність нуклеотидів у молекулі ДНК, що відповідає за початок транскрипції.

NOS-Термінатор — послідовність нуклеотидів в молекулі ДНК, відповідальна за припинення транскрипції.

Транскрипція — синтез за допомогою ферменту молекули ДНК або РНК з матриці.

Флуоресценція — випромінювання світла при поглинанні фотона особливими молекулами — флуорофорами, які накопичуються при реакції ампліфікації і дозволяють простежити кінетику процесу.

Пороговий цикл — цикл ампліфікації, на якому сигнал флуоресценції стає доступним для визначення, розраховується за результатами реєстрації. Чим нижчий пороговий цикл, тим більша кількість вихідної ДНК у зразку.

Контамінація — потрапляння із зовнішнього середовища в реакційну суміш специфічних і неспецифічних молекул ДНК, здатних служити мішенями в реакції ампліфікації та давати хибнопозитивні або хибнонегативні результати. ■