

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет технологій виробництва продукції тваринництва
Кафедра харчових технологій

Пояснювальна записка
до кваліфікаційної роботи на здобуття вищої освіти
ступеня бакалавр
на тему: «Дослідження ГМО у сировині та готовій продукції рослинного і
тваринного походження»

Виконав: здобувач вищої освіти
за освітньо-професійною програмою
Харчові технології
спеціальності 181 Харчові технології
ступеня вищої освіти бакалавр
групи ХТ_2017_бз
Пека Микита Юрійович
Керівник: Кодак Т. С.
Рецензент: Усенко С.О.

Полтава – 2022 року

ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет технології і виробництва продукції тваринництва
Кафедра харчових технологій

Освітньо-професійна програма Харчові технології

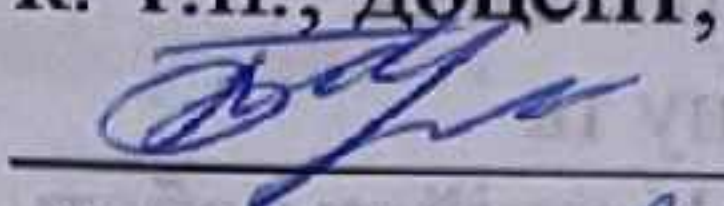
Спеціальність 181 «Харчові технології»

Ступінь вищої освіти бакалавр

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри харчових технологій

к. т. н., доцент,

 **БУДНИК Н.В.**

«21» вересня 2022 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Пека Микити Юрійовича

1. Тема роботи: «Дослідження ГМО у сировині та готовій продукції рослинного і тваринного походження»

керівник роботи к. с.-г. н., доцент кафедри Кодак Т.С.

затверджені наказом ПДАУ від «01» квітня 2022 року № «192-ст»

2. Строк подання здобувачем вищої освіти роботи «15» травня 2022 р.

3. Вихідні дані до роботи: протоколи випробувань на вміст ГМО у продуктах рослинного і тваринного походження.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):

ВСТУП

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Характеристика ГМО, методи їх створення та способи застосування

1.2. Динаміка світового виробництва ГМО продукції

1.3. Правове регулювання використання ГМО у світі та Україні

1.4. Проблемні питання безпеки ГМО

2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали досліджень

2.2. Методи досліджень

3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Динаміка проведення ГМО-аналізу за останні роки

3.2. Експериментальне дослідження вмісту ГМО у харчовій сировині
готовій продукції
ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

5. Перелік графічного матеріалу: схеми, рисунки, діаграми за темою дослідження.

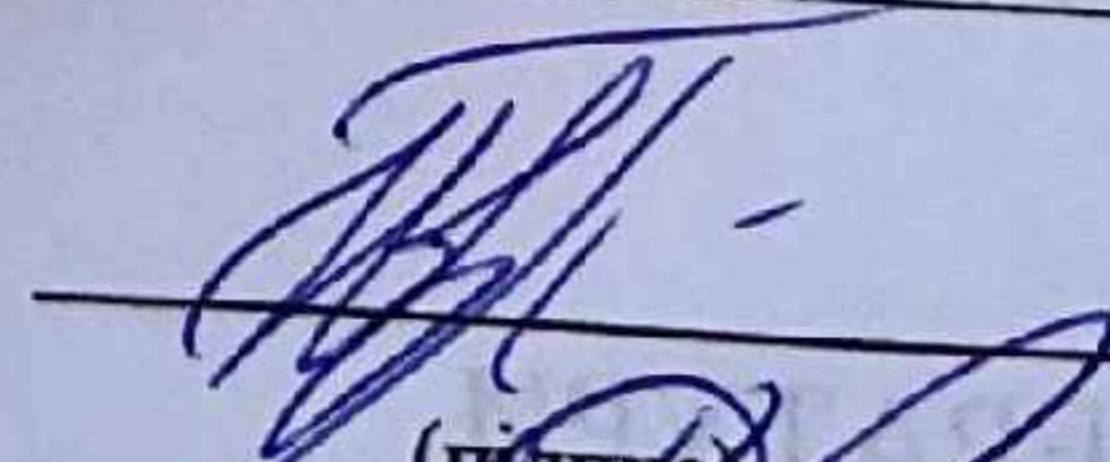
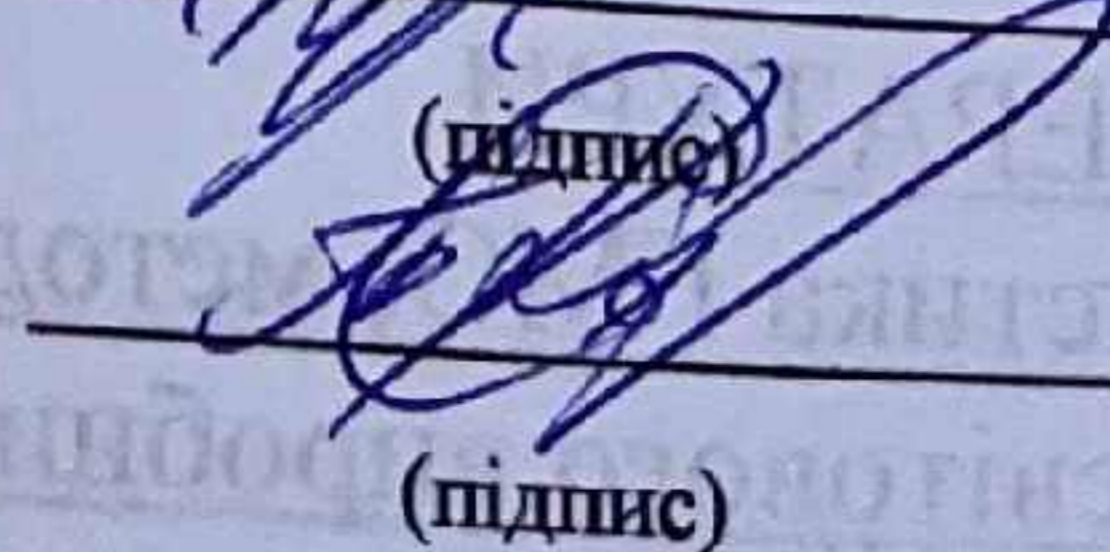
6. Дата видачі завдання: «9» березня 2022 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1	Вибір і затвердження теми роботи.	15-21 вересня 2021	Виконано
2	Складання і затвердження розгорнутого плану та завдання на кваліфікаційну роботу	22-24 вересня 2021	Виконано
3	Опрацювання літературних джерел	25 вересня – 25 жовтня 2021	Виконано
4	Збір, вивчення і обробка інформації, необхідної для виконання роботи	26 жовтня – 26 листопада 2021	Виконано
5	Виконання теоретичного розділу роботи	27 листопада – 27 грудня 2021	Виконано
6	Виконання аналітичних розділів роботи	28 грудня 2021 – 2 лютого 2022	Виконано
7	Виконання експериментальної частини	3 лютого – 3 березня 2022	Виконано
8	Оформлення тексту роботи та виконання креслень	3 березня – 15 травня 2022	Виконано
9	Попередній захист роботи на кафедрі	16 травня – 22 травня 2022	Виконано
10	Нормоконтроль	15 травня - 17 травня 2022	Виконано
11	Доопрацювання роботи з урахуванням зауважень і пропозицій	17 травня – 19 травня 2022	Виконано
12	Захист кваліфікаційної роботи	1-5 червня 2022	Виконано

Здобувач вищої освіти

Керівник роботи


 (підпис)

 (підпис)

Микита ПЕКАЛ

(Власне ім'я, ПРІЗВИЩО)
 Тетяна КОДА

(Власне ім'я, ПРІЗВИЩО)

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВКЗ — внутрішній контрольний зразок

ДНК — дезоксирибонуклеїнова(і) кислота(и)

ГМО — генетично-модифікований(і) організм(и)

НК — негативний контроль

НКЗ — негативний контрольний зразок

ПК — позитивний контроль

ПКЗ — позитивний контрольний зразок

ПЛР — полімеразна ланцюгова реакція

CaMV 35S — ген 35S РНК вірусу мозаїки цвітної капусти

NOS — ген нопалінсинтази (NOS) Ті-плазмиди бактерії *Agrobacterium tumefaciens*

АНОТАЦІЯ

Пека Микита Юрійович

Дослідження ГМО у сировині та готовій продукції рослинного і тваринного походження.

Кваліфікаційна робота за освітньо-професійною програмою Харчові технології спеціальності 181 Харчові технології.

Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, 2022 рік.

Метою кваліфікаційної роботи є ГМО-аналіз у сировині і готовій продукції рослинного і тваринного походження з використанням різних методів.

Кваліфікаційна робота складається з пояснювальної записки на 57 сторінках, яка містить 33 літературних джерела, 2 додатки.

В розділі Огляд літератури розглянуті питання практичного використання ГМО у світовому господарстві, нормативного регулювання діяльності, пов'язаної з ГМО та ризику, які становить використання ГМО для довкілля і здоров'я людини. В розділі Матеріали та методи надана схема проведення дослідження, описані методи підготовки проб, екстрагування ДНК та проведення ГМО-аналізу, заснованому на використанні ПЛР. В розділі Результати власних досліджень наведено результати експериментальних досліджень зразків сировини, кормів та готової харчової продукції на вміст ГМО, окремо проведено статистичний аналіз кількості досліджень, які проводились за останні десять років, визначено динаміку та тенденції у ГМО-аналізі по групам сировини, кормів, і готової продукції, а також кількість зразків, у яких було виявлено ГМО.

За результатами роботи було зроблено висновки, що ГМ-соя найчастіше є причиною виявлення ГМО як у сировині, так і в продуктах її переробки та запропоновано звернути увагу на ГМО аналіз сої у наступних роках для визначення тенденцій у поширенні ГМ-сої на ринку України.

Ключові слова: ГМО, ПЛР, харчова сировина та готова продукція.

ABSTRACT

Peka Mykyta Yurievich

Research of GMOs in raw materials and finished products of plant and animal origin.

Qualification work on the educational-professional program Food Technologies specialty 181 Food Technologies.

Poltava State Agrarian University, Poltava, 2022.

The purpose of the qualification work is GMO analysis in raw materials and finished products of plant and animal origin using different methods.

Qualification work consists of an explanatory note on 55 pages, which contains 33 literature sources, 2 appendixes.

The Literature Review section discusses the practical use of GMOs in the global economy, the regulation of GMO-related activities, and the risks posed by the use of GMOs to the environment and human health. The Materials and Methods section provides a study scheme, describes methods for sample preparation, DNA extraction, and GMO analysis based on PCR. The Results of Own Research section presents the results of experimental studies of samples of raw materials, feed and finished food products for GMO content, a separate statistical analysis of the number of studies conducted over the past ten years, identified dynamics and trends in GMO analysis by groups of raw materials, feed, and finished products, as well as the number of samples in which GMOs were detected.

Based on the results of the work, it was concluded that GM soybean is the most common cause of GMO detection in both raw materials and products and suggested paying attention to GMO soybean analysis in the coming years to determine trends in GM soybean distribution in Ukraine.

Key words: *GMO, PCR, food raw materials and finished products.*

ЗМІСТ

ВСТУП	8
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	10
1.1. Характеристика ГМО, методи їх створення та способи застосування	10
1.2. Динаміка світового виробництва ГМО продукції	12
1.3. Правове регулювання використання ГМО у світі та Україні	14
1.4. Проблемні питання безпеки ГМО	19
1.4.1. ГМО і навколишнє середовище	20
1.4.2. ГМО і здоров'я людини	21
2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	24
2.1. Матеріали досліджень	24
2.2. Методи досліджень	24
2.2.1. Підготовка аналітичних проб	26
2.2.2. Екстрагування ДНК	26
2.2.3. Дослідження ГМО з використанням ПЛР методів аналізу	28
3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	33
3.1. Динаміка проведення ГМО-аналізу за останні роки	33
3.2. Експериментальні дослідження на вміст ГМО у харчовій сировині та готовій продукції	43
ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ	50
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	51
ДОДАТКИ	56

ВСТУП

Розвиток науки в останні десятиліття дозволив вносити зміни в геном організмів у штучних умовах. Цей напрям став відомим у світі як генетична інженерія, а організми, створені шляхом редагування генів як генно-модифіковані організми або ГМО. Серед ГМО є представники різних систематичних груп, зокрема бактерії, рослини і тварини. Під час створення ГМО гени вихідних організмів спрямовано змінювалися для того, щоб ГМО володіли новими цінними властивостями. Створення ГМО значно прискорило селекційний процес, і сьогодні вони широко використовуються у фармацевтичній промисловості, сільському господарстві та наукових дослідженнях. Завдяки генетичній інженерії вдалося значно підвищити господарські якості сортів рослин і порід тварин, а з мікроорганізмів зробити суперпродуцентів лікарських речовин.

Для сільського господарства та харчової промисловості ГМО є потужним джерелом харчової сировини, оскільки ГМ-рослини є стійкими до шкідників та бур'янів і дозволяють збирати надзвичайно великі врожаї, а ГМ-тварини менш вразливі до хвороб і володіють значною продуктивністю. ГМО є перспективними для подолання дефіциту харчових продуктів у світі та вирішення голоду, що виникають у різних регіонах. В той же час, використання ГМО стало причиною дискусій, оскільки безпеку споживання продуктів для здоров'я людини залишається недоведеною. Ризики, пов'язані з ГМО, викликають занепокоєння у суспільстві, що стало причиною обмеження використання ГМО та продуктів з них у багатьох країнах.

Актуальність. Обіг ГМО регулюється на національному рівні в Україні та багатьох інших країнах. Дослідження харчової сировини та готової продукції тваринного і рослинного походження на вміст ГМО став необхідним у зв'язку з поширенням ГМ-рослин і тварин у світі, що особливо стосується не зареєстрованих відповідно до законодавства України ГМО.

Виробники сільського господарства і харчової промисловості проводять аналіз своєї продукції для підтвердження відсутності ГМО у її складі. Для багатьох видів продукції ГМО-аналіз є обов'язковим. У зв'язку з цим дослідження різних методів проведення, які використовуються для ГМО-аналізу харчової сировини та готової продукції, а також визначення динаміки виявлення ГМО у продуктах національного та іноземного виробництва є пріоритетним напрямком на сьогоднішній день.

Метою даної роботи є ГМО-аналіз у сировині і готовій продукції рослинного і тваринного походження з використанням різних методів.

Об'єктом дослідження є генетично-модифіковані організми. *Предметом дослідження* є визначення вмісту ГМО у сировині і готовій продукції рослинного і тваринного походження.

Для досягнення мети роботи було виконано ряд завдань, зокрема проведено експериментальне визначення ГМО у харчовій сировині і готовій продукції з використанням різних методів ПЛР-аналізу, визначено динаміку досліджень на вміст ГМО за останні десять років та встановлено частоту виявлення ГМО.

Під час проведення роботи були використані методи наукового пізнання, серед яких аналіз, синтез, порівняння, логіко-граматичний, історичний, експериментальний, статистичний та інші.

Проведене дослідження спрямоване на розширення наукових знань про сучасні методи ГМО-аналізу та визначення поширеності ГМО у харчовій сировині та готовій продукції.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Характеристика ГМО, методи їх створення та способи застосування

Генетично модифіковані організми – будь-які організми, у яких генетичний матеріал був змінений за допомогою штучних прийомів переносу генів, які не відбуваються у природних умовах.

Створення генетично модифікованих організмів є результатом «генної революції» [1], пов'язаної з розробкою методів виділення, розмноження, перенесення і експресії генів одного організму в клітинах іншого.

Основними етапами «генної революції», що призвела до появи генетично-модифікованих організмів були [1]:

1) у 1953 році вчені Дж. Уотсон (США) і Ф. Крік (Англія) запропонували модель будови ДНК, що дозволяє дати хімічне пояснення біологічними властивостями цієї речовини як носія генетичної інформації;

2) у 1970 році Г. Корану (США) вперше синтезував повну дволанцюгову молекулу ДНК, що включала послідовність з 77 нуклеотидів і довів, що вона може служити матрицею для побудови транспортної РНК;

3) У 1970 році Г. Сміт (США) виділив з клітин ферменти-рестриктази, здатні вибірково розрізати молекули ДНК і РНК на окремі фрагменти. Відкриття рестриктаз було важливим практичним кроком до створення рекомбінантних молекул ДНК;

4) У 1972 році в лабораторії П. Берга (США) була отримана перша рекомбінантна молекула ДНК, в якій були з'єднані фрагменти фага лямбда, галактозний оперон бактерії *Escherichia coli* з кільцевою ДНК мавпячого вірусу SV 40;

5) У 1973 році в лабораторії Г. Бойера і С. Коена (США) була отримана перша функціонально активна молекула рекомбінантної ДНК, шляхом з'єднання плазміди *E. coli* і фрагмента ДНК плазміди іншої бактерії.

Отримана гібридна плазміда могла успішно функціонувати в клітинах *E. coli*, розмножуватися і передаватися іншим клітинам як природним шляхом, так і за допомогою людини.

З появою методів створення рекомбінантних (хімерних) ДНК з'явилася можливість змінювати живі організми з практичною метою, впроваджуючи в них гени інших організмів. Для створення таких химер розроблена ціла система методичних прийомів. Як інструменти для створення ГМО широко використовуються білки-ферменти (рестриктази, лігази; полімерази), за допомогою яких молекули ДНК розрізають, зшивають або отримують їх копії. Іншим знаряддям генно-інженерних робіт є ДНК-вектори, здатної переносити, розмножувати і зберігати генетичну інформацію в реципієнтні клітини.

Загалом процедура отримання генетично-модифікованих організмів включає в себе декілька етапів [1]:

- виділення та ідентифікація окремих генів, які збираються перенести іншим організмам;
- введення генів в вектор для перенесення та його клонування;
- перенесення вектору всередину клітини організму-реципієнту;
- модифікація генному організму;
- відбір генетично модифікованих організмів і усунення тих, що не були успішно модифіковані.

Серед основних напрямків практичного використання генетично модифікованих організмів можна назвати наступні:

- створення нових сортів рослин, що відзначаються високою продуктивністю, стійкістю до шкідників та хімічних речовин;
- створення порід тварин, які мають цінні господарські характеристики, покращення якості продуктів (шерсть, молоко), що отримують з цих тварин, зменшення чутливості тварин до хвороб;
- використання трансгенних мікробних, рослинних та тваринних клітин у якості продуцентів біологічно-активних речовин, а саме: вакцини,

гормони (інсулін, гормон росту), фактори згортання крові, індустриальні ензими, людські антитіла, контрацептивні білки, пригнічуючі імунітет цитокіни тощо.

Застосування ГМО має великі економічні переваги для сільського господарства і медицини у порівнянні з традиційними технологіями, але породжує ряд труднощів, пов'язаних із біологічними та соціальними небезпеками.

1.2. Динаміка світового виробництва ГМО продукції

Перші трансгенні організми були отримані у 1972 році, через два роки після цього було здійснено синтез трансгенного інсуліну за допомогою генно-модифікованого штаму *E. coli*, але тільки в 1994 році почалося масштабне промислове вирощування генетично модифікованих продуктів харчування.

Таким чином, до 1994 року посіви ГМО в промислових масштабах були відсутні, а в 1996 році становили лише 1,7 млн га. Потім сталося вибухове зростання; вже за перші 10 років культивування, до 2006 року, посіви зросли в 60 разів, досягнувши 102 млн га. За період 2007-2019 рр. загальна площа полів, зайнятих ГМО, зросла на 89,7 млн га, тобто на 87,9 % [2].

Серед всіх ГМ-культур найбільшого поширення набула соя. На її частку припадає понад 40 % світових посівів всіх ГМО.

У числі 5 найбільших генно-модифікованих агрокультур також значаться кукурудза, рапс, бавовна і рис. Менше поширення отримали картопля, цукровий буряк, томати, пшениця, диня, кабачки, льон і цикорій.

До 2019 року сільськогосподарські угіддя під ГМО склали 191,7 млн га. Абсолютний і відносний приріст починаючи з 2013 року сповільнився і склав 18 млн га, або 23,9 % відповідно за період 2013-2019 рр. Тим не менше, в даний час посіви під ГМО займають близько 1 % всіх земель, які використовуються для ріллі [2].

Зараз на частку ГМ-сої припадає понад 48,7 % світових посівів ГМ-культур, при цьому за період з 2013 по 2019 рік вона зросла на 4,4 % за питомою вагою [3, 4, 5]. Зростання посівів ГМ-сої становив 23,9 % за вказаний період, їх площа зросла з 75,4 млн га в 2013 році до 93,4 млн га до 2019 року і продовжує зростати темпами 1-3% на рік, як і загальна площа трансгенних культур [2]. Загальна посівна площа відведена під ГМ-культури склала понад 190 млн га у 2019 році [3, 4, 5].

За повідомленням Міжнародної служби з придбання агробіотехнологічних програм (International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications, ISAAA) у 2020 році 5 ГМ-культур, висаджених у всіх країнах, займають 99 % світових посівних площ з ГМО культурами. Серед цих культур (посівна площа яких складає на понад 1 мільйон гектарів): соя (95,9 млн гектарів), кукурудза (58,9 млн гектарів), бавовна (24,9 млн га), рапс (10,1 млн га), люцерна (1,2 млн га) [6].

Найбільше поширення вирощування продовольчих генетично-модифікованих культур знаходить в Північній (США і Канада) та Південній (Бразилія, Аргентина, Парагвай, Уругвай) Америці. В Азії (Китай, Індія, Пакистан) вирощуються непродовольчі культури, такі як бавовна.

До інших країн, в яких вирощуються ГМ-культури, належать Іспанія, Португалія, Румунія, Чехія та Словаччина, які в промислових масштабах вирощують ГМ-кукурудзу, фактично йдучи наперекір переважній думці інших учасників Євросоюзу, а також Австралії, площа посівів ГМ-ліній в якій наближається до 1 млн га [2].

Тим не менше, в більшості країн світу в тій чи іншій мірі проявляються загороджувальні бар'єри на шляху використання ГМО, що пов'язані з потенційними ризиками для біологічної безпеки.

Загалом всі регіони світу можна розділити на 3 умовні категорії [2]:

1. Країни, де повністю заборонено використання і вирощування ГМО. Переважно це країни ЄС: в Австрії, Угорщині, Греції, Польщі, Болгарії, Люксембурзі та Італії ГМО знаходяться поза законом. Також з недовірою до

ГМО ставляться в найбільш бідних країнах Африканського континенту.

2. Країни, де заборонено вирощування, але дозволено ввезення і використання ГМО в якості продуктів харчування, корми для тварин і посадка в науково-дослідних цілях. Всього таких країн налічується більше 38. Наприклад, в переважній більшості країн ЄС заборонено використання ГМО в якості виробництва продуктів харчування для дітей, а в багатьох країнах діє повна або часткова заборона на окремі види ГМО, які використовуються в харчовому виробництві. До таких країн належить і Україна.

3. Країни, де дозволено вирощування і використання ГМО. Таких країн більшість, але в промислових масштабах агровиробництво ГМ-культур здійснюється всього в 29 країнах, лідером серед яких є США. Останнім часом ряд країн, що розвиваються, дозволили вирощувати ГМО, часто лише в окремих випадках. Ці країни включають Кенію (залежно від конкретного випадку), Зімбабве (кукурудза), Індію (бавовна), Буркіна-Фасо (бавовна), Свазіленд (бавовна), Замбію (усі культури) та Кубу (кукурудза та соя). Загалом у 19 країнах, що розвиваються дозволено вирощування ГМО.

Інфографіка, що відображає вирощування ГМ-культур у світі наведена у Додатку А.

Таким чином, на сьогоднішній день із 41 країн світу, які мали досвід вирощування ГМ-культур (серед яких і Україна), лише 29 країн продовжують їх сільськогосподарське виробництво [4].

1.3. Правове регулювання використання ГМО у світі та Україні

Необхідність в міжнародному масштабі регулювати діяльність, пов'язану із сучасною біотехнологією і її потенційним впливом на навколишнє середовище і здоров'я людини, держави члени ООН визнали на конференції в Ріо-де-Жанейро в 1992 році. На ній 193 держави підписали Конвенцію про біорізноманіття [7]. Пізніше у 1999 році для регулювання безпечного переміщення, переробки та застосування продуктів сучасної

біотехнології, у тому числі ГМО, був прийнятий Картахенський Протокол про біобезпеку [8] на конференції в колумбійському місті Картахена-де-Індіас (остаточний варіант Протоколу про біобезпеку був прийнятий в 2000 році в Монреалі [8]). Протокол набрав чинності 11 вересня 2000 року [9].

Мета Картахенського протоколу – допомогти урядам держав у забезпеченні належного рівня захисту в галузі безпечної передачі, обробки та використання живих (генетично) змінених організмів, отриманих в результаті використання сучасної біотехнології (в тому числі генетичної модифікації), які можуть мати несприятливий вплив на збереження і стале використання біологічного різноманіття, з урахуванням ризиків для здоров'я людини і виявлення особливої уваги до їх транскордонного переміщення.

Станом на 2020 рік Картахенський протокол про біобезпеку набрав чинності у 173 країнах світу [9]. У 2002 році до Картахенського протоколу приєдналася й Україна (Закон України «Про приєднання України до Картахенського протоколу про біобезпеку до Конвенції про біологічне різноманіття» від 12.09.2002 р. № 152-IV, [10]) та цим засвідчила свою позицію щодо підтримки необхідності прийняття скоординованих заходів для забезпечення належного рівня захисту у сфері безпечної передачі, звернення, обробки, транскордонних переміщень і використання ГМО, здатних негативно впливати на збереження і раціональне використання біорізноманіття, з урахуванням ризиків для здоров'я людини, і, особливо, непередбачуваних наслідків для майбутніх поколінь [11].

Крім Картахенського протоколу кожна держава розробляє свої законодавчі акти, що регулюються поведження з ГМ організмами на своїй території відповідно до внутрішньої політики держави.

Серед усіх країн у світі, використання ГМО найбільш суворо регулюється в країнах ЄС. З метою захисту навколишнього середовища та людського здоров'я і надання максимальної інформації щодо ГМО в ЄС розроблено цілий ряд нормативних документів, за допомогою яких детально регулюється кожний аспект їх використання, починаючи з отримання

дозволу на ввезення, де передбачена процедура оцінки безпечності та ризиків, до маркування та відстеження на території ЄС.

Основні нормативні документи, які стосуються всіх умов використання ГМО в ЄС були розроблені і прийняті у період з 2000 по 2003 роки. Серед них основними є [11, с. 249]:

1. Директива ЄС 2001/18, яка описує принципи і регулює навмисний випуск ГМО в навколишнє середовище в ЄС. Метою директиви є захист людського здоров'я і навколишнього середовища на етапі навмисного випуску ГМО в навколишнє середовище.

2. Інструкція ЄС 1829/2003 окреслює принципи і регулює постачання продуктів харчування на ринок ЄС, які містять або вироблені з ГМО, а також забезпечує загальні принципи регулювання продуктів харчування і кормів в ЄС. Основними цілями даної інструкції є:

- захист здоров'я людей і тварин шляхом введення оцінки ризиків, згідно найвищих стандартів до постачання на ринок продуктів харчування і кормів;

- забезпечення гармонізованою, ефективною, прозорою процедурою оцінки ризику і отримання дозволу для ГМ-продуктів харчування і кормів;

- гарантування чіткого маркування ГМ-продуктів і кормів, для можливості споживачам зробити інформований вибір.

3. Інструкція ЄС 1830/2003 передбачає простеження ГМО, тобто здатність відслідковувати ГМО і продукти виготовлені з них на всіх стадіях їх постачання на ринок.

Відповідно до угоди про асоціацію між Україною та Європейським Союзом, яка містить низку директив і регламентів у сфері ГМО, Україна також зобов'язалася наблизити своє законодавство до законодавства ЄС.

В Україні 31 травня 2007 р. Верховною Радою був прийнятий Закон № 1103-V «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів», що регулює відносини між фізичними та юридичними особами щодо

поводження з ГМО для забезпечення біологічної та генетичної безпеки» [13]. У цьому законі було визначено основні принципи державної політики в галузі генетично-інженерної діяльності та поведження з ГМО:

- пріоритетність збереження здоров'я людини і охорони навколишнього природного середовища у порівнянні з отриманням економічних переваг від застосування ГМО;

- забезпечення заходів щодо дотримання біологічної і генетичної безпеки при створенні, дослідженні та практичному використанні ГМО в господарських цілях;

- контроль за ввезенням на митну територію України ГМО та продукції, отриманої з їх використанням, їх реєстрацією та обігом;

- загальнодоступність інформації про потенційні ризики від застосування ГМО, які передбачається використовувати у відкритій системі, та заходи щодо

- дотримання біологічної і генетичної безпеки;

- державна підтримка генетично-інженерних досліджень та наукових і практичних розробок у галузі біологічної і генетичної безпеки при створенні, дослідженні та практичному використанні ГМО в господарських цілях.

У Законі «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів», що регулює відносини між фізичними та юридичними особами щодо поведження з ГМО для забезпечення біологічної та генетичної безпеки» вказано повноваження Кабінету міністрів України та центральних органів виконавчої влади у сфері поведження з ГМО. Також було окреслено питання державної реєстрації продукції, що містить ГМО у Державному реєстрі ГМО і порядок використання, транспортування, зберігання і утилізації ГМО [13], а саме:

- у Державних реєстрах ГМО реєструються сорти сільськогосподарських рослин та породи тварин, створені на основі ГМО;

ГМО джерела харчових продуктів; ГМО джерела кормів;

- в Україні забороняється промислове виробництво та введення в обіг ГМО, а також продукції, виробленої із застосуванням ГМО, до їх державної реєстрації;

- з метою здійснення державного контролю за обігом ГМО та продукції, що отримана з використанням ГМО, створюється мережа випробувальних лабораторій з визначення вмісту ГМО у продукції;

- забороняється ввезення на митну територію України ГМО, а також продукції, виробленої із застосуванням ГМО, до їх державної реєстрації, за винятком таких, що призначені для науково-дослідних цілей або державних апробацій (випробовувань);

- транспортування та зберігання ГМО повинно передбачати здійснення комплексу заходів, що попереджують неконтрольоване вивільнення ГМО у навколишнє природне середовище.

На виконання приписів цього Закону було прийнято низку нормативно-правових актів та внесені зміни в існуючі, для забезпечення регуляції державної апробації та реєстрації ГМО, маркування продукції, що містить ГМО. Найважливішими з них є Закон України «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів» [14], Закон України «Про інформацію для споживачів щодо харчових продуктів» [15], Постанова Кабінету міністрів України «Про затвердження Порядку етикетування харчових продуктів, які містять генетично модифіковані організми або вироблені з їх використанням та вводяться в обіг» [16], Наказ МОЗ України «Про затвердження Переліку харчових продуктів, щодо яких здійснюється контроль вмісту генетично модифікованих організмів» [17]. Зокрема, в Україні передбачено, що етикетування харчових продуктів, які містять генетично модифіковані організми обсягом понад 0,9 % або вироблені із сільськогосподарської продукції, вміст генетично модифікованих організмів у якій становить понад 0,9 %, повинне проводитися їх виробником (постачальником) із зазначенням відповідної інформації [15, 16].

На сьогоднішній день в Україні не зареєстровано жодного ГМО, тому їх ввезення та розведення є незаконним [18, 19]. Тим не менше, значна частина сільськогосподарської та харчової продукції в Україні не є вільною від ГМО [18, 19]. Так згідно масштабного дослідження, проведеного у 2018 році асоціацією Donau Soja та Agent Green, близько 48% сої, що вирощується на українських полях, є генетично модифікованою [19]. Тому особливо гостро стоїть проблема перевірки продуктів на вміст ГМО. З цією метою в Україні продовжує розроблюватись мережа випробувальних лабораторій, які проводять відповідні тести.

Основними завданнями у сфері генетично модифікованих організмів та продуктів з них, що стоять перед Україною є [18]:

- запровадження ефективної системи державного контролю за вирощуванням та поширенням ГМ-рослин у відкритих ґрунтах, а також за неухильним дотриманням міжнародних норм щодо транскордонного потоку ГМО;

- створення незалежну від виробника, державної системи контролю за наявністю ГМО та продуктів їх переробки у сільськогосподарській сировині, продуктах харчування та кормах, як вітчизняного так й імпортного походження.

- продовження гармонізації національного законодавства із відповідним законодавством ЄС.

На сьогоднішній день Україна не розглядає генетично модифіковані організми та продукти з них такими ж безпечними як і немодифіковані [18] і прагне до вдосконалення існуючої системи біологічної безпеки.

1.4. Проблемні питання безпечності ГМО

Вивчення ГМО є важливою частиною програми дослідних і технологічних розробок в прикладній молекулярній біології [20]. Проте безпека їх використання викликає палкі суперечки світової спільноти.

Тому при оцінці можливостей генетичної інженерії важливо

враховувати ті обмеження і небезпеки, які випливають із законів генетичної та екологічної мінливості живих організмів [1].

Питання безпечності широкомасштабного використання генетично-модифікованих організмів пов'язане, насамперед, із можливими ризиками для навколишнього середовища та здоров'я людини.

1.4.1. ГМО і навколишнє середовище

Проблема біобезпеки ГМО особливо стосується генетично модифікованих рослин, неконтрольоване широкомасштабне використання яких може загрожувати несприятливими наслідками, серед яких можна виділити наступні [1]:

1) ГМО-технології сприяють переважанню монокультури та негативно позначаються на біорізноманітності і видовому складі супутніх агроценозу біологічних видів. Крім цього, існує загроза поширення ГМ рослин в країнах, що розвиваються, які є центрами походження цих культур.

2) Неконтрольоване перенесення генів, що визначають різні типи стійкості до пестицидів, шкідників і хвороб рослин, внаслідок перезапилення з дикорослими спорідненими і предковими видами.

У зв'язку з цим можливе перетворення дикорослих форм рослин на «супербур'яни». Так, в США були знайдені види бур'янів, стійких до раундапу, серед яких: *Lolium spp.*, *Coryza spp.*, *Amaranthus spp.*, *Chenopodium alba*, *Ambrosia spp.*, *Echinochloa colona*, *Euphorbia spp.*, *Sorghum halepense*, *Eleusine indica* і *Plantago lanceolata*.

Не можна також залишати поза увагою проблему так званих волонтерних рослин. Наприклад, ріпак олійний стійкий до всіх існуючих типів гербіцидів, і тому боротьба з ним при висіві наступних культур становить велику складність.

3) Хімічне забруднення навколишнього середовища внаслідок масового вирощуванні стійких до гербіцидів сортів рослин. Наприклад, практичні рекомендації вчених з університету Пердью (Purdue University,

Indiana, USA) фермерам для боротьби з новими «супербур'янами» містять такі позиції, як повторна обробка полів тим же раундапом, але в концентрації в тисячу разів вищою порівняно з вихідною або підвищеними дозами інших гербіцидів.

4) Поява стійкості до трансгенних токсинів у комах-фітофагів, бактерій, грибів і інших шкідників під дією відбору на ознаку стійкості, високоефективну для цих організмів.

5) Виникнення нових патогенних бактерій шляхом перенесення генів в ризосферну мікрофлору. Також існують ризики появи більш патогенних штамів фітовірусів в результаті їх взаємодії з трансгенними конструкціями.

6) Поширення використання гербіцидів широкого спектру (наприклад, гліфосату) призведе до збіднення видового складу корисної ентомо- і орнітофауни і руйнування агробіоценозів.

7) Виснаження і порушення природної родючості ґрунтів ГМ культурами з генами, які прискорюють ріст і розвиток рослин, виснажують ґрунт і порушують його структуру. В результаті придушення токсинами ГМ-рослин життєдіяльності ґрунтових безхребетних, ґрунтової мікрофлори і мікрофауни відбувається порушення природної родючості ґрунтів.

Таким чином, простежується чіткий взаємозв'язок між аграрними та екологічними ризиками від використання генно-модифікованих організмів. Цілком очевидним є негативний вплив вирощування ГМ рослин для навколишнього середовища. Але не меншу небезпеку становить застосування ГМО організмів та продуктів їх переробки у якості харчування для людини та її здоров'я.

1.4.2. ГМО і здоров'я людини

Однією з найбільш обговорюваних і спірних питань, пов'язаних з використанням і поширенням ГМО, стала проблема потенційного впливу ГМ-продуктів (продукти, отримані з ГМО або такі, що містять їх інгредієнти) на здоров'я людини.

Ситуація ускладнюється тим, що повний комплекс досліджень про вплив ГМО на організм людини і тварин ще не проведено. Оцінка харчових ризиків від споживання ГМ-продуктів зараз можлива тільки на підставі уривчастих даних і розрізнених наукових фактів. Саме тому багато вчених побоюються, що використання в їжу ГМ-продуктів збільшує ризик виникнення харчових алергій, отруєнь, мутацій, сприяє утворенню пухлин, а також викликає несприйнятливність до антибіотиків [1].

До числа найбільш ймовірних потенційних ризиків, пов'язаних з ГМ-продуктами, можна віднести [1]:

1) Безпосередня дія токсичних або алергенних трансгенних ГМ-білків на людину та інших тварин.

Алергія на продукти харчування – явище досить поширене. Як правило, алергенним або токсичною дією володіють трансгенні білки, що забезпечують стійкість рослин-реципієнтів до різних видів комах, грибкових або бактеріальних захворювань, серед яких хітинази та лектини.

2) Ризики, опосередковані плейотропною дією трансгенних білків на метаболізм рослин.

Трансгенні білки здатні впливати на роботу інших генів. Наслідком такого ефекту може бути зміна метаболізму рослинної клітини і накопичення в ній небезпечних для здоров'я людини речовин.

3) Небезпека, опосередкована накопиченням гербіцидів та їх метаболітів в стійких сортах і видах сільськогосподарських рослин.

Так, встановлено, що стійкі до гліофосфату сорти цукрового буряку та бавовнику, здатні накопичувати отруйні продукти його метаболізму.

4) Існує небезпека горизонтального перенесення генів стійкості до антибіотиків в клітини патогенних або симбіотичних мікроорганізмів, що мешкають в шлунково-кишковому тракті людини і сільськогосподарських тварин.

В цьому випадку, використання антибіотиків при захворюванні призведе до відбору бактерій стійких до нього, і антибіотик почне

засвоюватися мікрофлорою безпосередньо в кишечнику, не досягаючи цільових патогенних бактерій, або не буде впливати на стійкі до нього патогенні мікроорганізми.

Таким чином, існує багато факторів ризику використання ГМО, пов'язаних із здоров'ям людини. Це породжує необхідність контролювати наявність ГМО у сировині і готовій продукції рослинного і тваринного походження з метою попередити потенційні негативні наслідки, до яких може призвести споживання харчових продуктів з ГМО.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали досліджень

Об'єктом дослідження є генетично-модифіковані організми. Предметом дослідження є визначення вмісту ГМО у сировині і готовій продукції рослинного і тваринного походження. У роботі проводилось експериментальне визначення ГМО із використанням різних методів, а також статистичний аналіз динаміки виявлення ГМО у Полтавській області за останні 10 років. У ході експериментальних досліджень та статистичного аналізу розглядалась:

- харчова сировина (рослинного походження: кукурудза, соя, пшениця, пшениця озима, соняшник, льон, люпин, горох, гірчиця, ячмінь, жито, ріпак, гречка, картопля, борошно, крохмаль; тваринного походження: молоко сухе, яєчний порошок, сироватка молочна, м'ясо свинини, м'ясо яловичини, субпродукти)
- корми (кукурудза кормова, суміш концентратів кормових, люцерна, макуха соєва кормова)
- готова харчова продукція (хліб, сухарики, булочні та булочні здобні вироби, пряники, крупи, арахіс обсмажений, насіння гарбузове обсмажене, насіння соняшникове обсмажене, олія соняшникова, олія кукурудзяна, цукор білий кристалічний, шоколад, цукерки, ірис, драже, печиво, вафлі, кондитерська глазур, торти, молоко питне пастеризоване, молоко пряжене, вершки, масло солодковершкове, сир твердий, сир напівтвердий, сир плавлений, сир кисломолочний, сметана, ряжанка, кефір, йогурт, ковбаси варені, ковбаси копчені, м'ясні напівфабрикати, напої сокові, квас, вода питна, яйця, майонез, макарони, повидло, консерви м'ясні, консерви молочні, консерви овочеві).

2.2. Методи досліджень

Дослідження проводилось за схемою наведеною на рис. 2.1.



Рис. 2.1. Схема дослідження

Проведення експериментальних досліджень передбачало підготовку аналітичних проб сировини, кормів та готової продукції, екстрагування ДНК із аналітичних проб (за допомогою смоли «Chelex-100» та за допомогою набору ДНК-сорб-В); проведення ПЛР з оцінкою наявності ГМО (ПЛР з електрофоретичним розділенням ДНК, ПЛР в режимі реального часу – Real-time ПЛР). Всі дослідження проводились відповідно до стандартів ДСТУ ISO 21569:2008 [21], ДСТУ ISO 21570:2008 [22], ДСТУ ISO 21571:2008 [23].

2.2.1. Підготовка аналітичних проб

Аналітичні проби виготовлялися з лабораторних проб, які надходили на аналіз. Враховувалось, що проба для аналізу має бути достатньої маси (об'єму) і містити достатню кількість молекул ДНК. Відповідно до норм масу проби для аналізу встановлювалась від 200 до 500 мг для продукції з високим вмістом ДНК (меле зерно, борошно) та до 2 г для продукції з низьким вмістом ДНК. Проводилось подрібнення та гомогенізації проб з використанням відповідного обладнання (подрібнюючі пристрої, лабораторні млини, міксери) та процедур (нагрівання до максимальної температури 40°C, у відповідній рідині (наприклад у воді); заморожування при температурі мінус 20°C або нижче, сублімаційне сушіння) [23].

2.2.2. Екстрагування ДНК

Екстрагування ДНК із зразків за допомогою смоли «Chelex-100».

Для виділення ДНК із біопроб за допомогою реагенту «Chelex-100» готували 5% робочий розчин «Chelex-100». В мірну колбу ємністю 100 млз вносили 5 г «Chelex-100» і додавали дистильовану воду до об'єму 100 млз. В одноразові поліпропіленові пробірки типу «Eppendorf» ємністю 1,5 млз вносили 1000 мкл стерильної дистильованої води. Також у пробірки додавали біопробу, об'ємом не більше 200 мкл. Суміш інкубували 15 хв при кімнатній температурі. Пробірки центрифугували 1 хв при швидкості 8 тис. об/хв. Потім обережно видаляли над осадову рідину залишаючи близько

20 мкл рідини над осадом. Це повторювали декілька разів до повного знебарвлення осаду. В пробірки додавали 180 мкл 5% стерильного водяного розчину «Chelex-100» та інкубували 30 хв при 56 °С на термостаті. Вміст пробірки перемішували на Vortex та витримували 8 хв на термостаті при 95 °С. Вміст пробірки перемішували на Vortex та центрифугували 1 хв при швидкості 8 тис. об/хв. Для ампліфікації використовували 5 мкл над осадової рідини, яка містить ДНК [24].

Екстрагування ДНК за допомогою набору реагентів «ДНК-сорб-В»

У кожен пробірку вносили по 300 мкл лізуючого розчину, після чого у пробірки з лізуючим розчином вносили 100 мкл досліджуваного матеріалу, використовуючи наконечники з аерозольним бар'єром. У пробірку негативного контролю (НК) вносили 100 мкл негативного контрольного зразка (НКЗ). У пробірку позитивного контролю (ПК) вносили 90 мкл НКЗ та 10 мкл позитивного контрольного зразка (ПКЗ), проби ретельно перемішували на вортексі та прогрівали 5 хв при температурі 65 °С.

Пробірки центрифугувати при 5 тис об/хв на мікроцентрифузі. Якщо проба розчинялася не повністю, центрифугували пробірку на мікроцентрифузі 5 хв при 12 тис об/хв, використовуючи для виділення ДНК надосадову рідину, перенісши її в нову пробірку.

Ретельно ресуспендували сорбент універсальний на вортексі. У кожен пробірку окремим наконечником додавали по 6/мкл ресуспендованого сорбенту універсального. Перемішували на вортексі, поставили в штатив на 2 хв, ще раз перемішували і залишали в штативі на 5 хв.

Осаджували універсальний сорбент у пробірках центрифугуванням при 5 тис об/хв. протягом 30 с. Видаляли надосадову рідину, використовуючи вакуумний відсмоктувач та окремий наконечник для кожної проби.

Додавали в проби по 300 мкл розчину для відмивання 1, перемішували на вортексі до повного ресуспендування універсального сорбенту. Осаджували сорбент універсальний центрифугуванням при 5 тис об/хв на мікроцентрифузі протягом 30 с, видаляли надосадову рідину

використовуючи вакуумний відсмоктувач та окремий наконечник для кожної проби.

Додавали в проби по 500 мкл розчину для відмивання 2, перемішували на вортексі, центрифугували при 10 тис об/хв на мікроцентрифузі протягом 30 с, видаляли надосадову рідину використовуючи вакуумний відсмоктувач та окремий наконечник для кожної проби. Після чого повторювали процедуру відмивання розчином 2, повністю видаляючи надосадову рідину.

Пробірки поміщали у термостат при температурі 65 °С на 5-10 хв для підсушування. При цьому кришки пробірок залишали відкритими.

В пробірки додавали по 50 мкл TE-буфера для елюції ДНК. Перемішували на вортексі. Пробірки поміщали у термостат при температурі 65 °С на 5 хв періодично перемішуючи на вортексі.

Пробірки центрифугували на мікроцентрифузі при 12 тис. обертів/хв. Надосадову рідину, яка містила ДНК далі використовували для ПЛР [25].

2.2.3. Дослідження ГМО з використанням ПЛР методів аналізу

ПЛР з подальшим електрофоретичним розділенням ДНК

Для ампліфікації у ПЛР з метою подальшого електрофоретичного аналізу у пробірках Eppendorf ємністю 0,5-мл готували реакційну суміш (25 мкл.) наступного складу [26]:

- 2,5 мкл універсального 10x PCR буфер,
- 1 мкл прямого F (5 мкМ) і 1 мкл зворотного R (5мкМ) праймерів на ДНК промотору 35S;
- 1 мкл прямого F (5 мкМ) і 1 мкл зворотного R (5мкМ) праймерів на ДНК термінатора NOS;
- 0,1 мкл (5 од.акт.) Taq – ДНК-полімерази (*Thermus aquaticus*) («ДержНДІ генетика»);
- 17,4 мкл деіонізованої води;
- 1 мкл виділеного із зразка препарату ДНК (крім пробірок НК та ПК в які вносили по 1 мкл ПКЗ та НКЗ відповідно).

На реакційну суміш нашаровували 25 мкл мінерального масла.

Встановлювали всі пробірки в блок ампліфікатора «Терцик-2» («НПФ ДНК-Технологія»). Режим ампліфікації встановлювали відповідно до наведеного у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Режим ампліфікації на ампліфікаторі «Терцик-2»

№ п/п	Температура	Час	Кількість циклів
1	94 °С	1 хв 30 с	1
2	94 °С 64 °С 67 °С	20 с 5 с 5 с	5
3	94 °С 64 °С 67 °С	1 с 5 с 5 с	40
4	10 °С	Зберігання	

По завершенню ампліфікації проводили електрофорез ДНК в агарозному гелі. Для аналізу використовували концентрації агарози від 8 до 10 г/л. Для цього зважували відповідну кількість агарози та додавали її до буферного розчину для електрофорезу. Кип'ятили розчин у мікрохвильовій печі або водяній бані до повного розчинення агарози. Доповнювали об'єм, втрачений в результаті випарювання, еквівалентною кількістю води, перемішували при збовтуванні (уникаючи захоплення бульбашок повітря), охолоджували розчин до температури приблизно 60 °С і витримували його при цій температурі до використання. Готували гелеву підкладку (лоток для гелю) з відповідним гребінцем для проби, розташованого у правильному положенні. Наливали розчин агарози на гелевий лоток і давали можливість гелю загустіти при кімнатній температурі протягом 1 години [23].

Змішували розчини 10 мкл проби ДНК приблизно з 2,5 мкл буферного розчину для завантаження проби, перемішували та вносили суміш у лунки (гнізда) для проби за допомогою мікропіпетки.

Для визначення розміру екстрагованих фрагментів ДНК додавали

буферний розчин для завантаження проби (у співвідношенні 20 % щодо обсягу проби) до відповідної кількості стандартного зразка молекулярної маси ДНК (маркеру) та проводили електрофорез паралельно.

Обережно виймали гребінець для проб із гелю. Переносили гель (разом з лотком) в комірку для електрофорезу таким чином, щоб лунки знаходилися якомога ближче до катода (негативного електроду). Заповнювали комірку буферним розчином TBE (трис/боратний буферний розчин) для електрофорезу. Покривали гель шаром того ж буферного розчину товщиною 2 мм і завантажували проби за допомогою мікропіпетки.

Виконували електрофорез за кімнатної температури при відповідній напрузі та енергоємності (рекомендовано максимальна незмінна напруга 5 В/см). У зазначених умовах ДНК має негативний заряд, тому мігрує від катода до анода. Час електрофорезу залежить від необхідної відстані міграції, струму, електроендоосмосу та концентрації агарози в гелі.

Після завершення електрофорезу витримати гель протягом 15-50 хв у розчині етидій броміду (EtBr) при кімнатній температурі, якщо можливо, у темряві (і/або в посудині з нержавіючої сталі з кришкою), обережно струшуючи.

Переносили гель на поверхню транспроміювача, включали УФ-світло та реєстрували флуоресценцію ДНК за допомогою фото- або відеозапису.

Наявність ДНК у пробі, що відповідає промотору 35S та/або термінатору NOS, проводили, порівнюючи досліджувані проби, проби НК та ПК з пробою стандартного зразка кількості ДНК, які зазнають електрофорезу паралельно. У разі відсутності смуги ДНК на тому ж рівні, що і в пробі з ПК робили висновок про відсутність ГМО, у разі наявності одієї або двох смуг на рівні відповідних смуг у ПК — про наявність ГМО. У разі відсутності смуг ДНК у пробі ПК, що відповідають промотору 35S та/або термінатору NOS, робили висновок про недостовірність результатів (з необхідністю повторного аналізу), а у разі наявності смуг ДНК у НК — про контамінацію

зразків (з необхідністю проведення заходів для її усунення та повторним аналізом) [23].

Real-time ПЛР

Необхідну для аналізу кількість пробірок із запакованою парафіном сумішшю для ампліфікації (склад сумішші: ПЛР-буфер, дезоксирибонуклеотидтрифосфати, праймери, флуоресцентні ДНК-зонди, ВКЗ ДНК) з урахуванням пробірок для НК та ПК. У всі промарковані пробірки, не пошкоджуючи шар парафіну, додавали по 10 мкл розчину *Taq*-полімерази. В кожену пробірку додавали по 1 краплі мінеральної олії (приблизно 20 мкл) [26].

Після цього в промарковані пробірки, не ушкоджуючи шар парафіну, вносили 5,0 мкл виділеного із зразка препарату ДНК (крім пробірок ПК, НК). У пробірку, промарковану НК вносили 5,0 мкл НКЗ, що пройшов етап виділення ДНК, а в пробірку, промарковану ПК, вносили 5,0 мкл ПКЗ. Всі пробірки центрифугували при 1000 об/хв (або мікроцентрифузі/вортексі) протягом 3-5 сек.

Далі встановлювали всі пробірки блок Real-time ампліфікатора «ДТ-322» («НПФ ДНК-Технологія») і проводили ПЛР в режимі, наведеному в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Режим ампліфікації на ампліфікаторі «ДТ-322»

№ п/п	Температура	Час	Кількість циклів
1	80 °C 94 °C	30 с 1 хв 30 с	1
2	94 °C 64 °C*	30 с 15 с	5
3	94 °C 64 °C*	10 с 15 с	45
4	10 °C	Зберігання	

Примітка. Знаком * позначено період реєстрації результатів

Облік та інтерпретація результатів Real-time ПЛР здійснювався автоматично за допомогою програмного забезпечення для ампліфікатора «ДТ-32. При цьому інтерпретація результатів проводилась за наступним принципом [26]:

- у зразках, що містять ДНК промотора 35S та/або термінатора NOS, програма фіксує позитивний результат. Результат ампліфікації ВКЗ в цьому разі до уваги не приймається;

- у зразках, які не містять ДНК промотора 35S і не містять ДНК термінатора NOS, в яких отримано позитивний результат ампліфікації ВКЗ, програма фіксує негативний результат;

- у разі негативного результату на наявність ДНК промотора 35S, термінатора NOS та негативного результату ампліфікації ВКЗ програма фіксує результат як недостовірний. Це може бути спричинене присутністю інгібіторів у препараті ДНК, отриманому з досліджуваного матеріалу; У цьому випадку потрібна або повторна постановка ампліфікації препарату ДНК, або повторне виділення препарату ДНК, або повторне взяття біологічного матеріалу;

- при врахуванні результатів за допомогою ПЛР-детектора програма фіксує сумнівний результат у випадку, якщо значення специфіки (наявність ДНК промотора 35S та/або термінатора NOS) потрапляє в зону невизначеності результатів (результат ампліфікації ВКЗ до уваги не приймається). В цьому разі необхідно повторити дослідження даного зразка;

- при отриманні позитивного результату наявність ДНК промотора 35S і/або термінатора NOS для НК, результати всієї постановочної серії бракують. У цьому випадку потрібне проведення спеціальних заходів для усунення контамінації.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Динаміка проведення ГМО-аналізу за останні роки

Методи дослідження засновані на ПЛР, що використовувався під час проведення даного дослідження, є найбільш загальноприйнятими для методів ГМО-аналізу. Багато в чому це пов'язано із здатністю ампліфікувати специфічні фрагменти ДНК з високо оброблених матеріалів, таких як харчові продукти [27].

При створенні ГМО на сьогоднішній день використовуються різні генетично-інженерні конструкції, такі як промотори, термінатори та гени (інсектицидних білків *Bacillus thuringiensis*, толерантності до гербіцидів або антибіотиків тощо) [28]. Загалом, провести ПЛР-тести для всіх таких генетично-інженерних під час виявлення ГМО неможливо. Тому звичайною практикою є загальний скринінг невеликої кількості мішеней, спільних для багатьох ГМО [29]. Під час аналізу на ГМО у даному дослідженні проводилось виявлення двох найбільш поширених генетичних послідовностей нуклеотидів:

- промотор гена 35S РНК вірусу мозаїки цвітної капусти (CaMV 35S), що використовується у генетичній інженерії разом з цільовими трансформаційними генами для їх конститутивної експресії у багатьох видах рослин (включно, еволюційно далеких від тих, що є ареалом вірусу цвітної капусти) [30];

- термінатор гена нопалінсинтази (NOS) Ті-плазмиди бактерії *Agrobacterium tumefaciens* — у природних середовищах дана бактерія інфікує рослини та переносить ген нопалінсинтази до клітин рослин, що дозволило широко використовувати NOS у складі трансформаційних конструкцій під час створення ГМО [31].

Існуючі дані статистичного аналізу вказують на те, що CaMV 35S промотор і термінатор NOS є найбільш широко використовуваними

мішенями для ГМО-аналізу [27]: 65,7% (67/102) схвалених комерційних ГМ-рослин містять CaMV 35S промотор, 53,49% термінатор NOS і 81,4% будь-який або обидва з них у своїх трансгенних конструкціях. Таким чином, використання цих двох мішеней дозволяє проводити ГМО-аналіз у харчовій, сировині, кормах та готовій продукції рослинного походження з високою достовірністю. Що стосується сировини і продукції тваринного походження, то для них використання CaMV 35S промотор і термінатор NOS у якості мішеней під час досліджень, дозволяє виявити генно-інженерні конструкції, які гіпотетично можуть передаватися з рослинною їжею, яку споживають ці тварини.

Враховуючи, що даний підхід дозволяє виявити переважну більшість, але не абсолютно всі ГМО, у протоколах випробувань на кожний вид продукції зазначаються наступні результати:

- не виявлено послідовність ДНК промотору 35S та/або термінатору NOS;
- виявлена послідовність ДНК промотору 35S та/або термінатору NOS.

У разі проведення кількісного аналізу на виявлення послідовностей ДНК промотору 35S та/або термінатору NOS наводиться дані про їх вміст у відсотках (%).

Даний підхід у проведенні досліджень ГМО у сировині та готовій продукції тваринного і рослинного походження задовільняє вимоги, щодо контролю вмісту ГМО, встановлені законодавством України. Так, у Наказі МОЗ України «Про затвердження Переліку харчових продуктів, щодо яких здійснюється контроль вмісту генетично модифікованих організмів» від 09.11.10 № 971 визначено коло продуктів харчування для яких обов'язково мають проводитися відповідні дослідження [17]. Даний перелік включає наступні групи основних продуктів (та продуктів їх переробки):

- I. Соя (та продукти її переробки).
- II. Кукурудза (та продукти її переробки).
- III. Картопля (та продукти її переробки).

- IV. Томати (та продукти їх переробки).
- V. Кабачки (та продукти їх переробки).
- VI. Диня (та продукти її переробки).
- VII. Папая (та продукти її переробки).
- VIII. Цикорій (та продукти його переробки).
- IX. Цукровий буряк (та продукти його переробки).
- X. Ріпак (та продукти його переробки).
- XI. Льон (та продукти її переробки).
- XII. Бавовна (та продукти її переробки).
- XIII. Пшениця (та продукти її переробки).
- XIV. Рис (та продукти його переробки).
- XV. Продукти дитячого харчування та сировина для їх виготовлення.
- XVI. Харчові продукти для спеціального дієтичного споживання, функціональні харчові продукти, дієтичні добавки, виготовлені з використанням харчових продуктів інших груп зазначених у Переліку.
- XVII. Харчові добавки, виготовлені з використанням харчових продуктів, інших груп, зазначених у Переліку.
- XVIII. Закваски, дріжджові культури та продукти, що їх містять.

При цьому на сьогоднішній день, для всіх інших харчових продуктів, які не внесені до цього Переліку, відсутні чіткі законодавчі вимоги щодо необхідності їх контролю на вміст ГМО.

Законодавством України передбачено лише обов'язковість маркування харчових продуктів позначкою «З ГМО», у разі частки ГМО у продукті понад 0,9% [16]. В іншому разі маркування позначкою «Без ГМО» є добровільним, а відсутність даних від постачальників про наявність в інгредієнтах харчового продукту ГМО є достатнім підтвердженням для нанесення такої позначки на харчовий продукт.

Статистичний аналіз кількості зразків по групах основної харчової сировини і готової продукції, для яких проводились дослідження у лабораторії за десятирічний період з 2011 по 2020 рік (табл. 3.1, 3.2, 3.3)

показав, що на вміст ГМО перевірялося значно ширше коло сировини і продуктів, ніж це вимагається відповідно до Переліку МОЗ України, затвердженого Наказом від 09.11.10 № 971 [17]. Це засвідчує бажання вітчизняних виробників сільського господарства і харчової промисловості підтвердити безпечність сировини і готової продукції, яку вони виробляють, а також її відповідність вимогам тих країн, де використання ГМО є забороненим (або маркування відсутності ГМО є обов'язковим).

Проведений статистичний аналіз показав, що за період з 2011 по 2020 роки лабораторією було досліджено 5187 зразків, серед яких 3463 зразки харчової сировини тваринного і рослинного походження), 147 зразків кормів та 1635 зразків готової харчової продукції. Найбільшу частку складають зразки харчової сировини (табл. 3.1), серед яких більше всього досліджено 2212 зразків кукурудзи (2212 зразків). Варто зазначити, що ГМ-кукурудза у світовому господарстві ГМ-рослин займає лише друге місце, поступаючись за обсягом виробництва ГМ-сої. В той же час, в Україні обсяг вирощування кукурудзи за визначений період значно перевищував вирощування сої [32], чим частково пояснюється потребу досліджень зразків кукурудзи. Серед інших культур рослин значну частку у складі досліджуваних зразків склали пшениця, ріпак, соняшник та гірчиця.

За результатами статистичного аналізу виявлено, що зразки сировини тваринного походження досліджувались на вміст ГМО у значно меншій кількості, ніж сировини рослинного походження, що пояснюється відсутністю прямих вказівок у законодавстві щодо необхідності проведення контролю вмісту ГМО у сировині тваринного походження. Загалом за визначений період було досліджено 12 зразків свинини, 10 яловичини, 28 зразків м'ясних субпродуктів, 11 сироватки молочної, 14 зразків молока сухого та 1 зразок яєчного порошку.

Статистичний аналіз динаміки досліджень кормів на вміст ГМО (табл. 3.2) виявив абсолютну перевагу досліджень зразків кукурудзи кормової (136 із 147) зразків, у порівнянні з іншими групами продуктів.

Динаміка дослідження харчової сировини на вміст ГМО у 2011-2020 рр.

Найменування	Досліджено зразків										2011-2020
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Кукурудза	25	226	100	488	128	265	659	236	56	29	2212
Соя	12	122	44	83	76	44	23	6	9	5	424
Пшениця	107	85	32	27	21	7	2	8	4	6	299
Пшениця озима			10		1						11
Соняшник	20	12	7	8	6	3	8	6	6	5	81
Льон	2		1	1	1	1	1			1	8
Люпин									1		1
Горох	2	2									4
Гірчиця	7	9	4	10	3	4	1		1	4	43
Ячмінь	4	5	2	2	2	2			1		18
Жито		1		1	1						3
Ріпак	15	15	12	9	14	22			26	102	215
Гречка			1								1
Картопля	2	1	3	1	1		2				10
Борошно	12	20		3	3	6	1	3	5	3	56
Крохмаль				1							1
Молоко сухе	2	3		3	1	1	1	3			14
Яечний порошок	1										1
Сироватка молочна	4	2					3	2			11
Свинина	2	1	2	2	2	2	1				12
Яловичина	2	1	2	2	1	1	1				10
Субпродукти	21		4	1	1	1					28
Всього	240	505	224	642	262	359	703	264	109	155	3463

Таблиця 3.2

Динаміка дослідження кормів на вміст ГМО у 2011-2020 рр.

Найменування	Досліджено зразків										2011-2020
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Кукурудза кормова	3	40	39	39	6	6	3				136
Суміш концентратів кормових	1										1
Комбікорми						38	38	37	35	40	188
Люцерна	1										1
Макуха соєва			1	4	3	1	1				10
Всього	5	40	40	43	9	45	42	37	35	40	336

Таблиця 3.3

Динаміка дослідження готової харчової продукції на вміст ГМО у 2011-2020 рр.

Найменування	Досліджено зразків										2011-2020
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Хліб	49	35	15	31	28	16	11	11	19	15	230
Сухарики	1	2	3	2	2	2	1	1			14
Булочні та булочні здобні вироби	13	12	5	8	7	3	2	1	18	10	79
Пряники			1		1					2	4
Крупи	3	5	1	2	3		3				17
Арахіс обсмажений	2	2	1	1		1	1	1	2	1	12
Насіння				1	1	1		3	2	1	9

Найменування	Досліджено зразків										2011-2020	
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29		30
гарбузове обсмажене												
Насіння соняшникове обсмажене	0	1	2	2	2	2	1	2	2			14
Олія соняшникова	20	11	5	5	7	7		3	4			62
Олія кукурудзяна			4		2	2		1	15			24
Олія соєва	12	5	3	11	7	4	11	2	3			58
Цукор білий кристалічний	5	7	4	5	4	6	1	1	2	2		37
Шоколад	1	1	1		1	2	3	1	1	1		12
Цукерки	1	10	1	2	3	2	2	2	2	4		29
Ірис	3	3	2	2	3	1	2	3	1	2		22
Драже	1	1	1	1	16	1	1	1	1	1		25
Печиво	10	8	3	2	3	2	2	2	8	3		43
Вафлі	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1		11
Кондитерська глазур	2	11	1		1	1	1	1	5	9		32
Торти	7	2	2	1	1	2	2	1	2	1		21
Молоко питне пастеризоване	25	2		2	5	6		1	1	2		44
Молоко пряжене						1				2		3
Вершки	2	1		2		1	1	1				8
Масло солдковершкове	18	30	10	7	5	3		5				78
Сир твердий	25	43	2	11	0	1						82
Сир напівтвердий	22	3	5	1	0	1		6				38
Сир плавлений	18	8	6	8	8	1	14	37	21			121
Сир	156	1	3	53	32	2		1	32	13		293

Найменування	Досліджено зразків										2011-2020
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
кисломолочний											
Сметана	4	6	2	1		4	3	1	1	1	23
Ряжанка						1			1	1	3
Кефір						1	3		1	1	6
Йогурт	1	1		2	1	2	2	1	2	2	14
Ковбаси варені	14	12	3	6	2	4					41
Ковбаси копчені	5	13	4	2	1						25
Мясні напівфабрикати	2		6	4	1	1					14
Напої сокові						1				15	16
Квас						1					1
Вода питна	2	1		1							4
Яйця	1	1	1								3
Майонез	3	2	1		2		3				11
Макарони	1			1						1	3
Повидло, варення, джем	5	3	1	4	4					1	18
Консерви м'ясні	2	1									3
Консерви молочні	10	11			1						22
Консерви овочеві	2			3	1						6
Всього	449	256	101	185	156	87	71	91	147	92	1635

Статистичний аналіз готової харчової продукції за період 2011-2020 років наведений в таблиці 3.3. Найбільшу кількість було перевірено зразків хлібу та хлібобулочних виробів, молочних продуктів, кондитерських виробів, олії соняшникової, кукурудзяної та соєвої, а також смаженого гарбузового і соняшникового насіння. Варто зазначити, що розподіл кількості

досліджуваних зразків по групах харчової сировини, кормів та готової продукції на вміст ГМО є наближеним, оскільки у ньому враховані лише зразки, які досліджувались в лабораторії, що знаходиться у Полтавській області, а, отже, даний статистичний аналіз носить більше регіональний характер відповідно до спеціалізації сільського господарства та харчової промисловості в регіоні.

Динаміка кількості проведених досліджень зразків готової харчової продукції вказує на те, що після 2011 року істотно зменшилася частка досліджень продуктів харчування у загальній структурі досліджень (рис. 3.1). Таке явище можна пояснити тим, що перша редакція Постанови КМУ № 468 від 13.05.2009 року [16] потребувала обов'язкового маркування «Без ГМО», а відповідно і дослідження усіх продуктів харчування на вміст ГМО. Відповідно на цей час припадає період, коли на дослідження надходили продукти тваринного походження, які мало ймовірно можуть містити послідовності CaMV 35S промотору та термінатору NOS. Така вимога призвела до масового невдоволення серед виробників та дистриб'юторів харчової продукції, оскільки передбачала значні і часто необґрунтовані витрати. Тому 1 липня 2009 року у зазначену вище Постанову внесено зміну про те, що напис «Без ГМО» може бути нанесено на етикетку продукту у добровільному порядку [33]. З огляду на це, зрозумілим стає скорочення кількості готової харчової продукції за останні роки при відносно стабільній кількості досліджень харчової сировини рослинного походження. Загалом на графіку динаміки кількості проведених досліджень форма кривої загальної кількості зразків відповідає формі кривої кількості зразків харчової сировини, що додатково підтверджує висновки про те, що найбільшу частку у структурі досліджень займає саме харчова сировина.

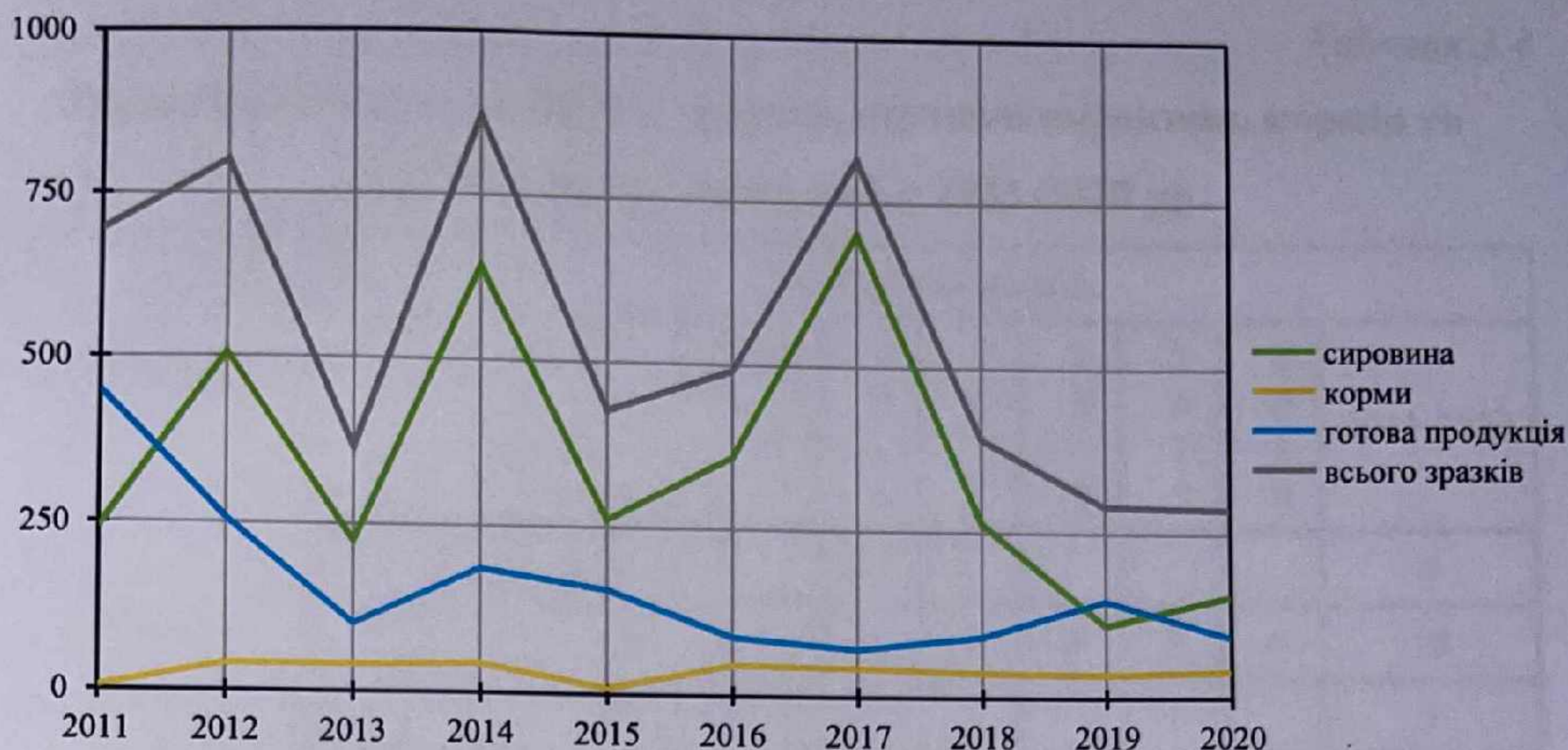


Рис. 3.1. Динаміка кількості проведених досліджень харчової сировини, кормів та готової харчової продукції за 2011-2020 рр.

Результати статистичного аналізу динаміки виявлення ГМО у харчовій сировині, кормах та готовій продукції за 2011-2020 рр. вказують на те, що кожного року ГМО виявляється у незначній кількості зразків (табл. 3.4, рис. 3.2). За десятилітній період ГМО виявлено у 39 зразках, що становить лише 0,72 % загальної кількості проведених досліджень. При цьому ГМО було виявлено тільки у сої та продуктах її переробки, зокрема комбікормах із вмістом сої, соєвій макусі, борошні, олії та маргарині, виготовленому з її додаванням. Ці дані засвідчують, що абсолютна більшість виробників сільськогосподарської та харчової продукції дотримуються вимог України щодо обігу генетично-модифікованих організмів.

Варто звернути увагу на те, що кількість зразків у яких було виявлено ГМО за 2011-2020 рр. варіювалося від 0 до 9 і не мало чітко вираженої тенденції (рис. 3.2). Це дозволяє зробити додатковий висновок, про те виявлення ГМО у харчовій сировині, кормах та готовій продукції носить скоріше випадковий, ніж закономірний характер.

**Динаміка виявлення ГМО у зразках харчової сировини, кормів та
готової харчової продукції у 2011-2020 рр.**

Найменування	Досліджено зразків										2011-2020
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
Соя	3		2	1		1	2				9
Комбікорми						3	4	4	3	4	18
Борошно соєве									1		1
Олія соєва	2						2	2	2		8
Маргарин столовий						2					2
Макуха соєва							1				1
Всього	5	0	2	1	0	6	9	6	6	4	39

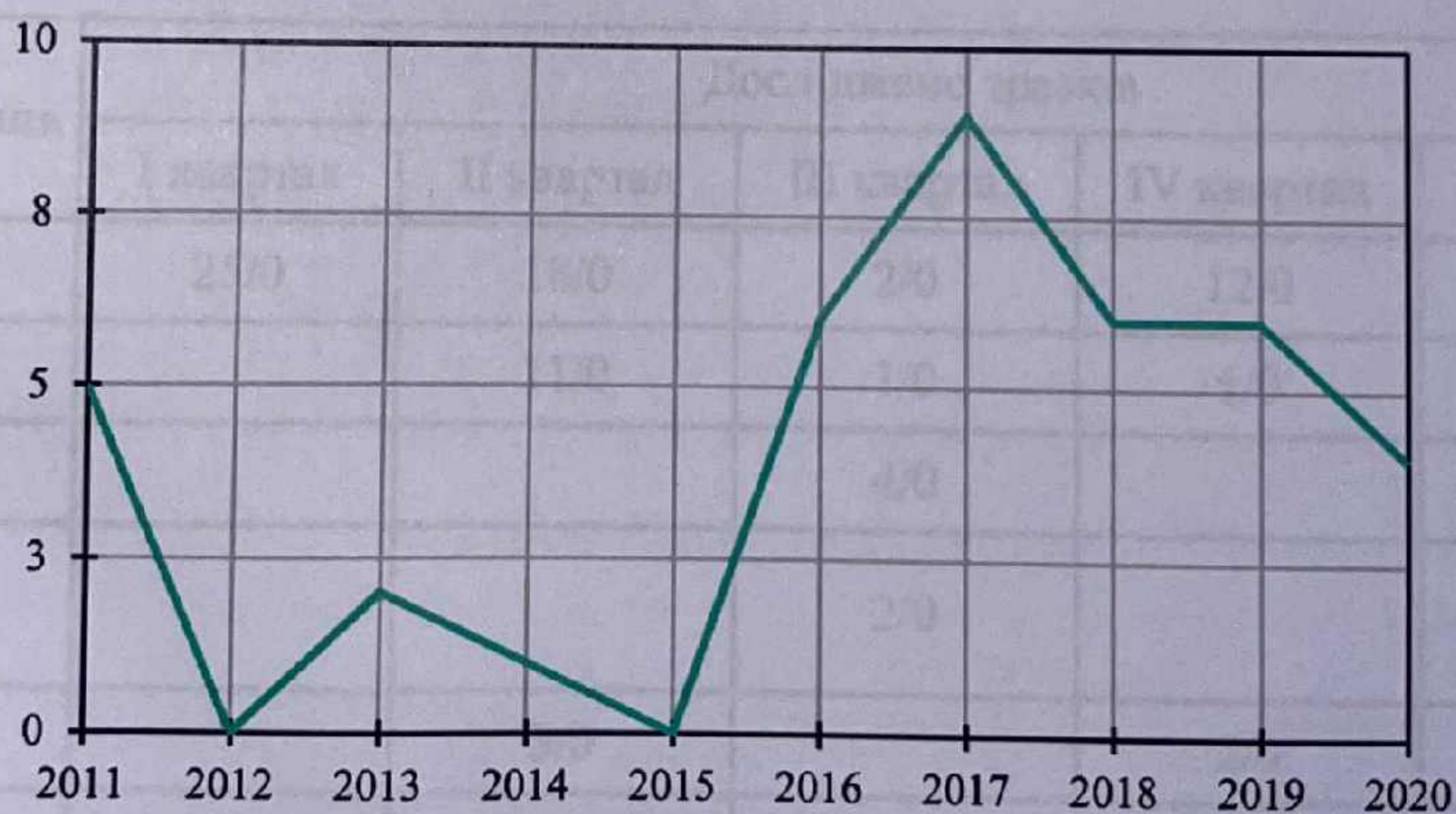


Рис. 3.2. Динаміка кількості зразків, у яких було виявлено ГМО за період 2011-2020 рр.

3.2. Експериментальні дослідження на вміст ГМО у харчовій сировині та готовій продукції

У ході експериментальної частини роботи було проведено дослідження зразків харчової сировини, кормів та готової продукції на вміст ГМО

протягом 2021 року. За результатами кожного випробування були складені протоколи, у яких зазначалася наступна інформація:

- вид продукції;
- підприємство-виробник;
- дата відбору проб та дата проведення випробування;
- кількість проби продукту, яка надійшла на випробування;
- висновки за результатами дослідження (виявлено/не виявлено послідовність ДНК промотору 35S та/або термінонатору NOS)
- у разі кількісного аналізу також зазначався вміст ГМО у відсотках %.

Для даних, отриманих у такий спосіб, було проведено окремий статистичний аналіз та систематизовано результати всіх експериментальних досліджень у вигляді таблиць 3.5, 3.6, 3.7.

Таблиця 3.5

**Експериментальні дослідження харчової сировини
на вміст ГМО за 2021 рік**

Найменування	Досліджено зразків				
	I квартал	II квартал	III квартал	IV квартал	Всього
Кукурудза	25/0	18/0	2/0	12/0	57/0
Соя		11/0	1/0	1/0	13/0
Пшениця			4/0		4
Пшениця озима			2/0		2/0
Соняшник		3/0		2/0	5/0
Льон		2/0			2/0
Овес		1/0			1/0
Квасоля		1/0			1/0
Конопля		2/0			2/0
Гірчиця		1/0			1/0
Ячмінь	1/0		2/0		3/0
Борошно				1/0	1/0

Найменування	Досліджено зразків				
	I квартал	II квартал	III квартал	IV квартал	Всього
Соевий лецитин				1/0	1/0
Сироватка молочна				2/0	2/0
М'ясо свинини		2/0	2/0		4/0
Всього	26/0	41/0	13/0	19/0	99/0

Примітка. кількість досліджених зразків/число виявлених зразків

Таблиця 3.6

Експериментальні дослідження кормів на вміст ГМО за 2021 рік

Найменування	Досліджено зразків				
	I квартал	II квартал	III квартал	IV квартал	Всього
Вика		1/0			1/0
Комбікорми		12/9	18/12		30
Всього	0/0	13/9	18/12	0/0	31/21

Примітка. кількість досліджених зразків/число виявлених зразків

Таблиця 3.7

Експериментальні дослідження готової продукції на вміст ГМО за 2021 рік

Найменування	Досліджено зразків				
	I квартал	II квартал	III квартал	IV квартал	Всього
Хліб	6/0	1	1	1	9
Сухарики	2/0				2/0
Пряники	5/0				10/0
Насіння гарбузове обсмажене	1/0				1/0
Арахіс обсмажений	1/0				1/0
Насіння соняшникове	2/0				2/0

Найменування	Досліджено зразків				
	I квартал	II квартал	III квартал	IV квартал	Всього
обсмажене					
Олія соняшникова	5/0				5/0
Цукор білий				2/0	2/0
Шоколад				2/0	2/0
Цукерки				3/0	3/0
Ірис				1/0	1/0
Драже				2/0	2/0
Печиво				4/0	4/0
Вафлі				2/0	2/0
Кондитерська глазур				1/0	1/0
Торти				1/0	1/0
Молоко питне пастеризоване	6/0	5/0	7/0	5/0	23/0
Молоко пряжене	1/0				1/0
Сир твердий	2/0				2/0
Сир плавлений			4/0		4/0
Крем сир		2/0			2/0
Масло солодковершкове	1/0/0	1/0	1/0		3/0
Сметана			1/0		1/0
Ряжанка	1/0				1/0
Кефір	2/0		1/0		3/0
Йогурт	2/0				2/0
Яйця	1/0	1/0	2/0		4/0
Ковбаси сирокочені та сиров'ялені			3/0		3/0
Мясні напівфабрикати			2/0		2/0
Напої сокові безалкогольні	11/0	8/0			19/0

Найменування	Досліджено зразків				
	I квартал	II квартал	III квартал	IV квартал	Всього
Вода питна	1/0	1/0	1/0		3/0
Всього	55/0	19/0	23/0	24/0	121/0

Примітка. кількість досліджених зразків/число виявлених зразків

Таким чином під час проведення експериментальних досліджень у 2021 році було перевірено на вміст ГМО 251 зразок, серед яких 99 зразків харчової сировини, 31 зразок кормів, 121 зразок готової харчової продукції. Ці результати відрізняються від статистики досліджень ГМО за попередні десять років, зокрема у ході виконання даної роботи у 2021 році було досліджено більше зразків готової харчової продукції, ніж харчової сировини. Відмінності від попередніх років пов'язані із змінами у попиті на проведення ГМО-аналізу окремих видів продукції, збільшення числа лабораторій, які проводять дослідження на вміст ГМО, змінами у структурі виробництва харчової сировини, кормів та готової продукції, а також пандемією COVID-19, яка значно вплинула на економічну активність суб'єктів господарювання у 2020-2021 роках.

Аналіз співвідношення між кількістю зразків різних груп харчової сировини показав, що найбільше було досліджено зразків кукурудзи (57), сої (13), пшениці (6, включно 2 зразки – озима), соняшнику (5). Крім того було проведено дослідження сировини тваринного походження – 4 зразки м'яса свинини та 2 зразки молочної сироватки. Серед кормів було проведено 30 досліджень комбікормів та 1 зразок вики.

Серед досліджених зразків готової харчової продукції найбільшу частку займають зразки молока питного пастеризованого (23) та напоїв сокових безалкогольних (19). Порівняно велику частку у складі досліджень готової продукції складають інші види молочної продукції, а також хлібобулочні вироби.

Істотні відмінності були відзначені і у кількості зразків, де було

виявлено ГМО за 2021 рік. У 2021 році було виявлено ГМО у 21 зразку, причому всі зразки відносяться до групи комбікормів (для порівняння за період 2011-2020 рр. кількість зразків, де було виявлено ГМО не перевищувала 9 зразків на рік). В той же час, у сировині та, що особливо важливо, у готовій харчовій продукції не було виявлено ГМО у жодному досліджуваному зразку.

Було зроблено аналіз причин, через які у 2021 році у складі комбікормів для тварин різних вікових груп частіше виявлялися ГМО. Найбільш, ймовірно, причиною є склад комбікормів, що поступали на перевірку з господарств у 2021 році. Кількісний аналіз з використанням специфічних до окремих видів ГМ-рослин генетичних конструкцій-мішеней було встановлено, що комбікорми містять у своєму складі ГМ-сою. В той же час, досліджувані корми у попередні роки містили сою або її екструдат вироблений із сортів сої не генно-модифікованого походження.

Качественный анализ

Номер лунки	Идентификатор пробирки	Ср, Fam	Ср, Hex	Результат
C2	Образец_1_Дек (Flank-Gen)	32,5		+
C3	Образец_2_Дек (Flank-Gen)	27,9		+
C4	Образец_3_Дек (Flank-Gen)	30,5		+
D1	Образец_4_Дек (Flank-Gen)	28,6		+
D2	Образец_5_Дек (Flank-Gen)	28,5		+
D3	K+ (Flank-Gen)	30,0		+

Зависимость флуоресценции канала FAM от номера цикла

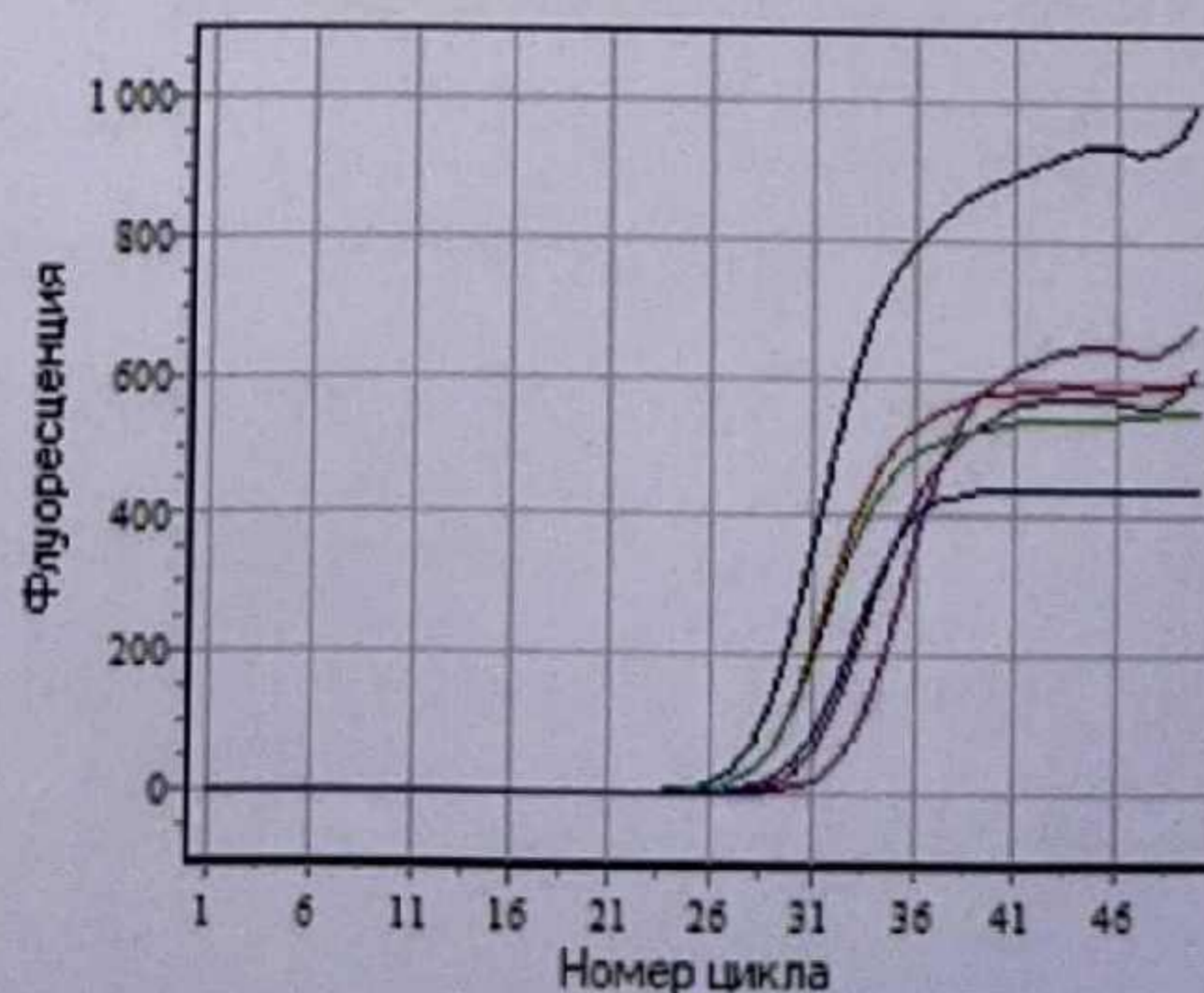


Рис. 3.3. Протокол результатів досліджень зразків комбікормів із ГМО

За результатами проведених експериментальних досліджень встановлено збільшення кількості зразків із вмістом ГМО серед комбікормів за 2021 рік у порівнянні з періодом 2011-2020 рр. Подібно до попередніх років ГМО виявлено лише у складі тих дослідних зразків, які містять сою або продукти її переробки. Важливим є і те, що у всіх інших досліджуваних зразках сировинної сої, яка не входила до складу комбікормів, ГМО виявлено не було. Так само, ГМО не було виявлено у жодному із зразків готової харчової продукції. Таким чином, саме соя, яка використовується для виробництва кормів є основним джерелом ГМО на вітчизняному ринку продукції агропромислового комплексу.

Було проведено статистичний аналіз виконаних досліджень за період 2011-2020 років. Найбільшу частку у структурі досліджень за вказаний період становили зразки харчової сировини, серед яких зустрідалися та виявляли ГМО. Кількість зразків, де було виявлено ГМО за період 2011-2020 років, становить 0,13% від загальної кількості досліджуваних зразків. У всіх виявлених ГМО виявлено у сої, або продуктах її переробки зразками в корми.

За час проведення експериментальних досліджень у 2021 році було перевірено 21 зразок, серед яких 19 зразків харчової сировини, 31 зразок кормів, 12 зразків готової харчової продукції. ГМО виявлено у 21 зразку досліджуваних харчової сировини та її складі ГМО-сої. Також виявлено ГМО у зразках харчової сировини та її складі ГМО-сої. ГМО не було виявлено в жодному зразку харчової продукції.

Протягом досліджень на наявність ГМО у харчовій сировині та її складі ГМО-сої, харчовій продукції та кормів за період 2011-2020 років було перевірено 1000 зразків харчової сировини та її складі ГМО-сої, харчової продукції та кормів.

ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ

Питання контролю ГМО, є одним із найбільш важливих для безпеки харчової сировини і готової продукції. З високою ефективністю для проведення ГМО-аналізу використовують методи дослідження, засновані на ПЛР.

Для того, щоб контролювати наявність ГМО у харчовій сировині, кормах і готовій продукції рослинного і тваринного походження проводиться скринінг на наявність найбільш поширених генно-інженерних конструкцій, що використовуються під час створення ГМО: CaMV 35S промотор та термінатор NOS. Експериментальні дослідження включали підготовку проб, екстрагування ДНК, визначення наявності ГМО за допомогою ПЛР з наступним електрофоретичним розділенням або за допомогою ПЛР у режимі реального часу.

Було проведено статистичний аналіз виконаних досліджень на вміст ГМО за 2011-2020 роки. Найбільшу частку у структурі досліджень за вказаний період займали зразки харчової сировини, серед яких кукурудза, соя та пшениця. Кількість зразків, де було виявлено ГМО за період 2011-2020 рівна 39, що становить 0,72% від загальної кількості досліджених зразків. В усіх випадках ГМО виявлялося у сої, або продуктах її переробки, зокрема у кормах.

Під час проведення експериментальних досліджень у 2021 році було перевірено 251 зразок, серед яких 99 зразків харчової сировини, 31 зразок кормів, 121 зразок готової харчової продукції. ГМО виявлено у 21 зразку комбікормів, що пов'язано з наявністю у їх складі ГМ-сої. Таким чином, у ході досліджень, проведених за останній рік, ГМО було виявлено порівняно більшу кількість разів.

Пропозиції.

1. Продовжити дослідження на вміст ГМО у переліку харчових продуктів, щодо яких такий контроль є обов'язковим, оскільки контроль

ГМО у харчовій сировині і готовій продукції спрямований на попередження ризиків, які пов'язані із обігом ГМО.

2. Протягом наступних років під час досліджень на вміст ГМО звернути увагу на сою та продукти її переробки.

3. Продовжувати збір інформації щодо виявлених ГМ-продуктів на ринку України. Особливо важливим це є з огляду на те, що в Україні на сьогоднішній день не зареєстровано жодного сорту ГМ-рослин, обіг яких був би дозволений.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

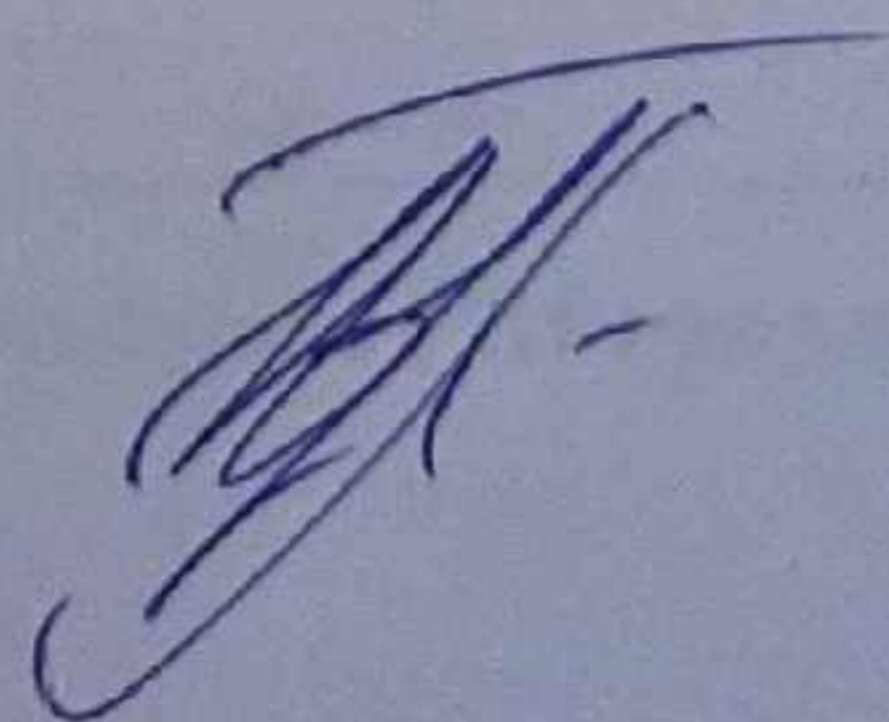
1. Игнатъев И., Тромбицкий И., Лозан А. Генетически модифицированные организмы и обеспечение биологической безопасности. Кишинев: Экоспектр-Бендеры, 2007. 60 с.
2. Дудин М. Н. Трансгенные организмы (ГМО) в сельском хозяйстве: объективная необходимость в целях обеспечения глобальной продовольственной безопасности или способ увеличения прибыли ТНК АПК. *Продовольственная политика и безопасность*. 2020. Т. 7, № 2. С. 107-120.
3. Инфографика: в каких странах мира выращиваются ГМО-культуры? *Агробизнес* : веб-сайт. URL: <https://agbz.ru/news/infografika-v-kakikh-stranakh-mira-vyrashchivayutsya-gmo-kultury/>.
4. Where are GMO crops and animals approved and banned? *Genetic Literacy Project*: веб-сайт. URL: <https://geneticliteracyproject.org/gmo-faq/where-are-gmo-crops-and-animals-approved-and-banned/>.
5. GMO farming grows to record 457 million acres in 26 countries worldwide. *Genetic Literacy Project*: веб-сайт. URL: <https://geneticliteracyproject.org/2018/02/09/gmo-farming-grows-record-457-million-acres-26-countries-worldwide/>.
6. Africa Leads Progress in Biotech Crop Adoption with Doubled Number of Planting Countries in 2019, *ISAAA Reports. Science speaks: a blog by ISAAA* : веб-сайт. URL: <https://www.isaaa.org/blog/entry/default.asp?BlogDate=11/30/2020>.
7. Конвенція про охорону біологічного різноманіття від 1992 року. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/995_030#Text.
8. Картахенський протокол про біобезпеку до Конвенції про біологічне різноманіття від 29.01.2000. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/995_935#Text.
9. The Cartagena Protocol on Biosafety. *Convention on biological diversity* : веб-

сайт. URL: <https://bch.cbd.int/protocol/>.

10. Про приєднання України до Картахенського протоколу про біобезпеку до Конвенції про біологічне різноманіття : Закон України від 12.09.2000 № 152-IV. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/152-15#Text>.
11. Богатко Н. М., Салата В. З., Семанюк В. І., Голуб О. Ю. Державний контроль за ГМО в харчовій промисловості України. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*. 2010. Т. 12, № 44(12), ч. 4. С. 160-165.
12. Усаченко Н. В., Гайдей О. С. Аналіз законодавства ЄС з питань ГМО. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. Вип. 29, ч. 2. С. 249-253.
13. Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів: Закон України від 31.05.2007 № 1103-V. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1103-16#Text?>
14. Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів: Закон України від 23.12.1997 № 771/97-ВР. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/771/97-вр/page#Text>.
15. Про інформацію для споживачів щодо харчових продуктів: Закон України від 06.12.2018 № 2639-VIII. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2639-VIII#Text>.
16. Про затвердження Порядку етикетування харчових продуктів, які містять генетично модифіковані організми або вироблені з їх використанням та вводяться в обіг : Постанова Кабінету Міністрів України від 13.05.2009 № 468. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/468-2009-п#Text>.
17. Про затвердження Переліку харчових продуктів, щодо яких здійснюється контроль вмісту генетично модифікованих організмів: Наказ МОЗ України від 09.11.10 № 971. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1248-10#Text>.
18. Баласинович Б. Ярошевська Ю. ГМО: виклики сьогодення та досвід правового регулювання. К.: Видавничий дім «АДЕФ–Україна», 2010.

19. ГМО в Україні: чи потрібно і як краще перевірити сировину. *AgroPortal* : веб-сайт. URL: <https://agroportal.ua/ua/publishing/lichnyi-vzglyad/gmo-v-ukraine-nuzhno-li-i-kak-luchshe-proverit-syre/>.
20. Генетически модифицированные организмы и проблемы биобезопасности : учеб.-метод. пособие / С. Е. Дромашко и др. Минск : Ин-т подгот. науч. кадров Нац. акад. наук Беларуси, 2011. 70 с.
21. ДСТУ ISO 21569:2008 Продукти харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Якісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти (ISO 21569:2005, IDT). К: Держспоживстандарт України, 2009. 54 с.
22. ДСТУ ISO 21570:2008 Продукти харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Кількісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти (ISO 21570:2005, IDT). К: Держспоживстандарт України, 2009. 90 с.
23. ДСТУ ISO 21571:2008 Харчові продукти. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Екстрагування нуклеїнової кислоти (ISO21571: 2005, IDT). К: Держспоживстандарт України, 2009. 36 с.
24. Walsh P.S., Metzger D. A., Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*. 1991 Vol. 10. № 4. P. 506-513.
25. Инструкция по применению комплекта реагентов для экстракции ДНК из клинического материала «ДНК-сорб-В». URL: https://www.interlabservice.ru/upload/iblock/ff0/Инструкция%20ДНК-сорб-В_30.10.2012.pdf
26. Качественное и количественное определение генетически модифицированных организмов (ГМО) растительного происхождения в пищевых продуктах и продовольственном сырье с использованием тест-систем и оборудования производства ЗАО «НПФ ДНК-Технология» :

- методические рекомендации / ЗАО «НПФ ДНК-Технология». М., 2008. 22 с.
27. Development of a general method for detection and quantification of the P35S promoter based on assessment of existing methods / Y. Wu et al. *Sci Rep* 2014. Vol. 4. 7358. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep07358>.
28. Development and Validation of a P-35S, T-nos, T-35S and P-FMV Tetraplex Real-time PCR Screening Method to Detect Regulatory Genes of Genetically Modified Organisms in Food. / Eugster A., Murmann P., Kaenzig A., Breitenmoser A. *Chimia (Aarau)*. 2014. Vol 68, no 10. P. 701-704. DOI: <https://doi.org/10.2533/chimia.2014.701>.
29. A plant 35S CaMV promoter induces long-term expression of luciferase in Atlantic salmon / Seternes T., Tonheim T. C., Myhr A. I., Dalmo R. A. *Sci Rep*. 2016. Vol. 6. 25096. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep25096>.
30. Transcription of Cauliflower mosaic virus DNA: detection of promoter sequences, and characterization of transcripts /H. Guilley et al. *Cell*. 1982. Vol. 30, no 3. P. 763–773. DOI: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(82\)90281-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90281-1).
31. Bevan M., Barnes W. M., Chilton M.-D. Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T-DNA. *Nucleic acids research*. 1983. Vol. 11, no 2. P. 369–385. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/11.2.369>.
32. Рослинництво України 2019 : статистичний збірник / за ред. О. Прокопенка; Державна служба статистики України. К: 2020. 183 с.
33. Про внесення змін до постанови Кабінету Міністрів України від 13 травня 2009 р. № 468 : Постанова Кабінету Міністрів України від 1 липня 2009 року № 661. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/661-2009-п#Text>.



ДОДАТОК А

ІНФОГРАФІКА ВИРОЩУВАННЯ ГМ-КУЛЬТУР РОСЛИН У СВІТІ

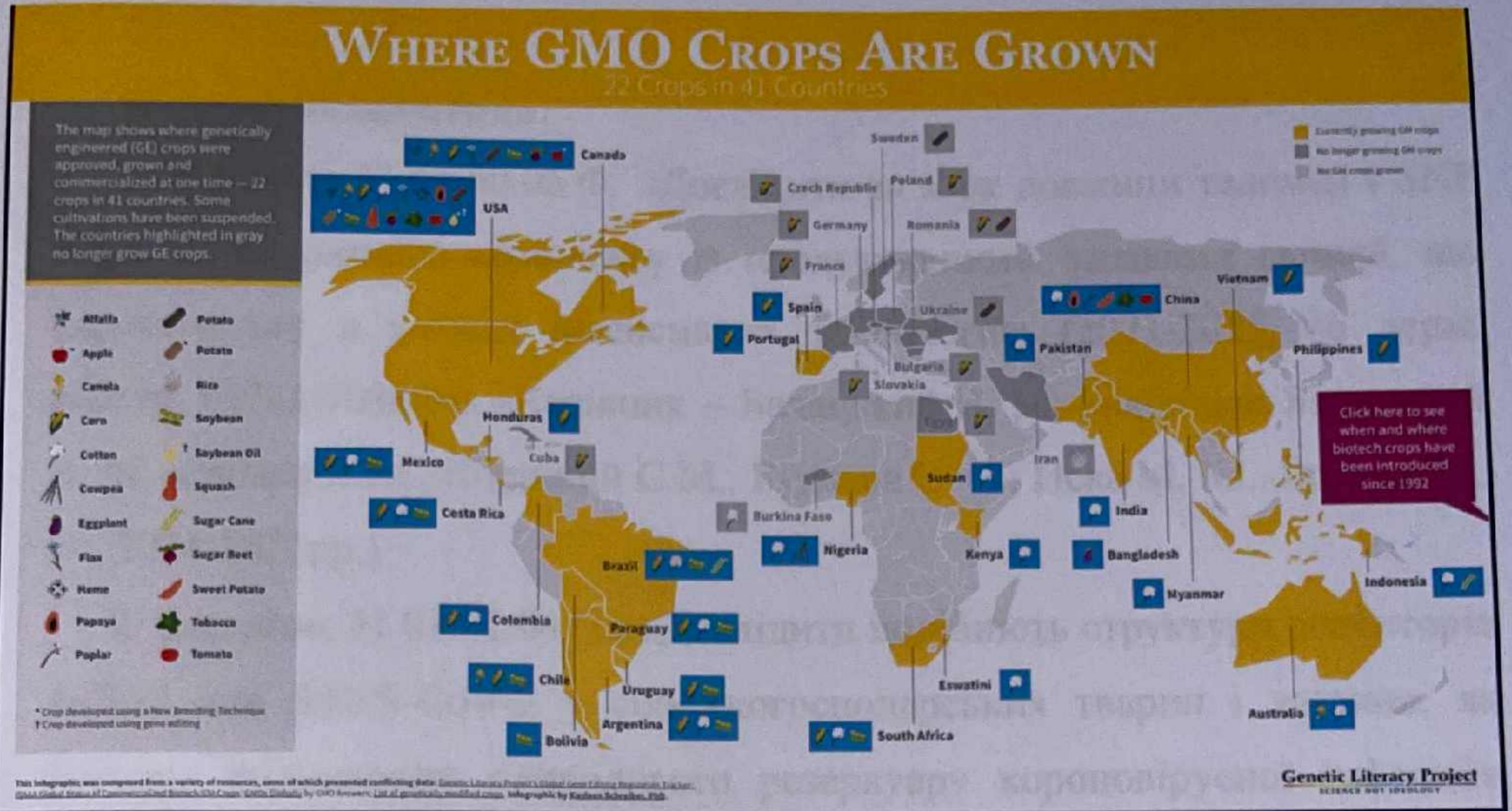


Рис. А.1.1. Країни, у яких вирощуються ГМО

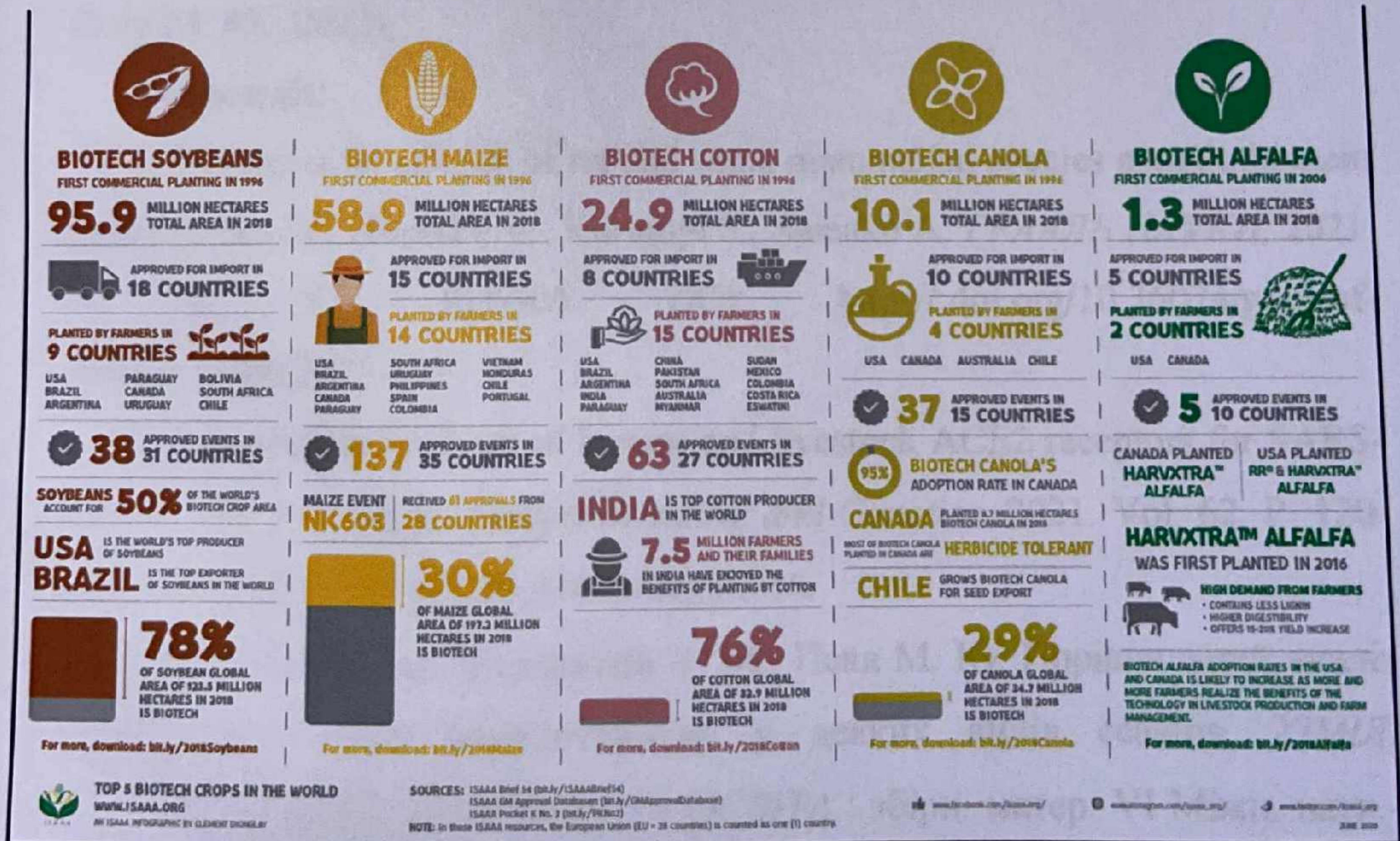


Рис. А.1.2. Найбільш поширені ГМ-культури рослин

ДОДАТОК Б
ПЕРЕЛІК НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ПУБЛІКАЦІЙ

Наукові дослідження:

1. Завдання 31.01.00.06.Ф. «Дослідити зв'язок довжини теломер і SNP генів теломеразного комплексу із продуктивними ознаками свиней, що вирощуються в умовах інтенсивних технологій» (2021-2025, № держ. реєстр. 0121U109836). (Керівник – Балацький В. М.; виконавці Балацький В. М., Саєнко А.М., Корінний С.М., Будаква Є. О., Пека М. Ю., Ільєнко М. О.; 2021-2025рр.)

2. Завдання 31.01.01.04.Пк «Дослідити подібність структури рецепторів ACE-2 для SARS-CoV-2 у сільськогосподарських тварин і людини, як фактора виникнення природнього резервуару коронавірусної інфекції» (2022). (Керівник – Балацький В. М.; виконавці Балацький В. М., Корінний Пека М. Ю.; 2022).

Публікації:

1. Phylogenetic affinity of rat and some mammalian species metallothionein genes / Pecka M., Balatsky V., Korinnyi S., Saienko A. *ГРААЛЬ НАУКИ*, 2021. № 6. С. 103-108. DOI: <https://doi.org/10.36074/grail-of-science.25.06.2021.019>.

2. Comparative analysis of human and livestock ACE2 receptors for SARS-CoV-2 / M. Pecka et al. *Animal Breeding and Genetics*. 2021. Vol. 62. P. 120-129. DOI: <https://doi.org/10.31073/abg.62.16>.

3. Корінний С. М., Балацький В. М., Пека М. Ю. Порівняльний аналіз послідовності гену металотіонеїну у деяких видів ссавців. *ХІМІЯ, БІОТЕХНОЛОГІЯ, ЕКОЛОГІЯ ТА ОСВІТА* : збірн. матер. VI Міжн. наук.-практ. інтерн.-конф., м. Полтава, 16-17 травня 2022 р. / Полтавський державний аграрний університет. Полтава, 2022. С. 97-99.