

студ. А.Н. Островская
Науч. рук. доц. Н.И. Заяц
(кафедра физико-химических методов сертификации продукции, БГТУ);
Г.В. Мозгова (институт генетики и цитологии НАН Беларуси)

ОЦЕНКА НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ СОИ МЕТОДОМ ПЦР-РВ

Достоверные измерения в области испытаний пищевой продукции приобретают всё большую важность не только вследствие её большого объёма и высокой экспортной стоимости в международной торговле, но и в связи с вопросами безопасности пищевой продукции.

Генетически модифицированные организмы (ГМО) применяются для производства пищевой продукции, сельскохозяйственного сырья и кормов. Сегодня в мире известно 525 разрешенных генетически модифицированных линий (ГМ – линий) растений и прошедших оценку риска и имеющих различное целевое назначение: высвобождение в окружающую среду, применение в хозяйственных и пищевых целях, использование в закрытых системах. Основными ГМ – культурами на мировом рынке являются: бобы сои, кукуруза, хлопок, рапс. В связи с этим все чаще поднимается вопрос о безопасности продуктов, содержащих генетически модифицированные ингредиенты (ГМИ).

Идентификация и количественное определение генетически модифицированных ингредиентов/организмов/линий (ГМИ/ГМО/ГМ-линий) является обязательной составной частью процесса оценки соответствия пищевых продуктов, кормов и сельскохозяйственного сырья. Сегодня реализацией ГМО-контроля в Беларуси занимаются специализированные аккредитованные лаборатории.

Актуальность разработки методики расчёта неопределённости определения разрешённых генетически модифицированных линий сои в пищевых продуктах, кормах и сельскохозяйственном сырье методом ПЦР-РВ заключается в том, что на сегодняшний день в Республике Беларусь отсутствуют отечественные документы, которые бы способствовали выполнению требований ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 по подтверждению правильности и прецизионности метода измерений.

Идентификация и количественное определение разрешенных ГМ-линий основаны на применении метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с гибридационно-флуорисцентной детекцией.

Данный метод используется для одновременной амплификации измерения количества данной молекулы ДНК (измерение непосредственно количества копий, либо измерение копий относительно внесённой ДНК или дополнительных калибровочных генов) специфической последовательности ДНК в образце. Метод использует общие принципы ПЦР. Основное отличие состоит в том, что измеряется количество амплифицированной ДНК в реальном времени после каждого цикла амплификации.

Для разработки методики расчёта неопределённости был использован эмпирический подход, который включает результаты внутрилабораторных или межлабораторных исследований и находит применение там, где нельзя применить метод моделирования и смоделировать вклады влияющих величин в неопределённость, а также когда имеется вся необходимая информация по межлабораторным или внутрилабораторным исследованиям для расчета неопределённости измерений [1].

В испытательной лаборатории Института генетики и цитологии НАН Беларуси были исследованы 5 проб сои с различной концентрацией ГМО RRS (концентрация ГМ-сои Roundup Ready). С целью получения оценок показателей повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости пробы анализировались дважды независимо друг от друга (разные операторы, разное оборудование, в разное время). Оценка правильности результатов была получена путем анализа сертифицированного референсного материала сои RoundupReady® с концентрацией $(10,0 \pm 1,6)$ г/кг (ERM-BF410d). Были получены следующие результаты: среднее квадратическое отклонение (СКО) внутрилабораторной воспроизводимости – 3,5 %; смещение – 8%; СКО при оценке смещения – 3%; стандартная неопределённость референсного образца – 8%. Стандартная неопределённость количественного определения разрешенных ГМ-линий, рассчитанная как корень квадратный из суммы квадратов всех выше названных составляющих, составила 12,3 %. Расширенная неопределённость при уровне доверия 95 % составляет 24,6 %. Полученный результат определения равный 17 г/кг с учетом неопределённости измерений можно представить в виде: (17 ± 4) г/кг, при $P=95\%$, $k=2$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство ЕВРАХИМ/СИТАК Количественное описание неопределённости в аналитических измерениях, перевод с английского, Санкт-Петербург: ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 2002. 149 с.