

УДК: 637.56'81.06:597.56:577.21

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.3.124

ВЫЯВЛЕНИЕ ВИДОВОЙ ФАЛЬСИФИКАЦИИ ПЕЧЕНИ ТРЕСКИ ПРИ ПОМОЩИ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Калужная Т.В. * – к. вет. н., доц. кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-8682-1840), **Орлова Д.А.** – к. вет. н., доц. кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, (ORCID 0000-0002-8163-8780), **Жмуркина П.С.** – студент 4 курса факультета ветеринарно-санитарной экспертизы.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия

*tomagafk087@mail.ru

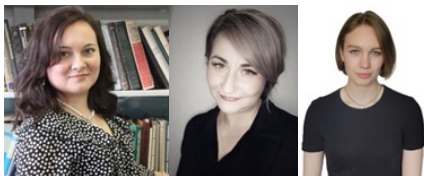
Ключевые слова: печень трески, видовая фальсификация, ПЦР, видовая принадлежность, молоки рыб, ДНК трески, ДНК горбуши.

Keywords: cod liver, species falsification, PCR, species, fish milk, cod DNA, pink salmon DNA.

Поступила: 15.06.2023

Принята к публикации: 11.09.2023

Опубликована онлайн: 29.09.2023



РЕФЕРАТ

С увеличением потребительского спроса на рыбопродукты возросло количество предприятий, предлагающих на рынке свою продукцию, что привело к снижению качества этих товаров. Печень трески является дорогостоящим сырьем для производства консервов. Чтобы снизить затраты на производство продукции, производители заменяют печень трески на молоки лососевых рыб, в частности горбуши, что является видовой фальсификацией. Для выявления фальсификации в лабораторной практике используются современные методы исследования рыбы и рыбной продукции. Преимущество этого метода заключается в том, что он является наиболее специфичным и чувствительным для идентификации видовой принадлежности сырьевого состава продукции и готового продукта, так как молекула ДНК под воздействием физических или химических параметров не утрачивает способность выполнять информативную функцию, что характеризует ее как наиболее стабильную структуру любого животного организма. Исследования осуществляли в условиях отдела молекулярных исследований Северо-Западного филиала ФГБУ ВНИИЗЖ. Материалом исследования стали 12 образцов рыбных консервов стерилизованных из печени трески атлантической. На первом этапе осуществляли пробоподготовку путем гомогенизации образцов в ступки, затем отбирали по 8 проб каждого образца, проводили экстрагирование ДНК при помощи набора «ГМО-Сорб-Б». На следующем этапе используя амплификатор «Rotor-Gene 6000» ставили полимеразную цепную реакцию, с помощью наборов для выявления ДНК рыб трески, пикши, минтая и ДНК рыб семейства лососёвых и дифференциации видов: горбуши, кеты и нерки. В результате проведенных исследований установили, что в одном образце заявленная в составе печень трески не обнаружена, так как во всех пробах из этого образца не обнаружено содержание рыб семейства тресковых, а установлено наличие ДНК горбуши. Полученные результаты свидетельствуют о видовой фальсификации консервов печени трески.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Атлантическая треска входит в пятерку самых потребляемых видов рыб в России, кроме того, ее используют в рыбоперерабатывающей промышленности с целью производства рыбных продуктов, в том числе консервов из ее печени. Употребление этих видов консервов рекомендовано регулярно ввиду высокой питательной ценности этого продукта, обусловленной содержанием нутриентов, таких как полноценные белки и жиры, микро и макроэлементы, необходимых для нормального физиологического состояния организма человека [1, 2]. С увеличением потребительского спроса на рыбопродукты возросло количество предприятий, предлагающих на рынке свою продукцию, что привело к снижению качества этих товаров. Это обусловлено тем, что производитель в погоне за прибылью использует низкокачественное сырье, а порой просто фальсифицирует продукт путем подмены печени трески молоками рыб или паштетом из рыб [3, 4]. Такую фальсификацию очень сложно установить органолептическими методами, потому что после применения термической обработки, пищевых добавок и другого вспомогательного сырья характеристики готового продукта с использованием печени трески или молок рыб имеет сходство. Так, вкус и запах таких продуктов приятный, специфический, свойственный данному виду рыбы, без постороннего; цвет – от кремового до серого.

В рамках действующего законодательства РФ запрещена любая фальсификация пищевых продуктов, поэтому ее выявление является одной из приоритетных задач контролирующих органов, в том числе в процессе их реализации. Фальсификация не только вводит в заблуждение потребителя продукта, но и может стать причиной возникновения отравлений человека и прочее. Производители, реализующие фальсифицированную продукцию, несут ответственность в соответствии с действующими административным и уголовным кодексами РФ.

Для выявления фальсификации пище-

вых продуктов в лабораторную практику внедряются современные методы, позволяющие наиболее точно установить ее наличие. Одним из таких методов является метод полимеразной цепной реакции, установленный в нормативных документах и позволяющий определять фальсификацию, как сырья, так и готового продукта. Преимущество его заключается в том, что данный метод является наиболее специфичным и чувствительным, так как молекула ДНК под воздействием физических или химических параметров не утрачивает способность выполнять информативную функцию, что характеризует ее как наиболее стабильную структуру любого животного организма [5]. Одним из видов полимеразной цепной реакции является количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ), используемая для одновременной амплификации и измерения количества молекулы ДНК.

Цель исследования заключалась в выявлении видовой фальсификации консервов печени трески, используя полимеразную цепную реакцию в реальном времени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Исследования осуществляли в условиях отдела молекулярных исследований Северо-Западного филиала ФГБУ ВНИИЗЖ. Материалом исследования стали 12 образцов рыбных консервов стерилизованных из печени трески атлантической. Все образцы рыбных консервов были зашифрованы в соответствии с Решением Совета ЕЭК от 10.11.2017 № 80 «Об утверждении Правил организации проведения лабораторных исследований (испытаний) при осуществлении ветеринарного контроля (надзора)». Образцы гомогенизировали в ступке, затем отбирали по 8 проб от каждого образца в количестве 100 мг в микроцентрифужные пробирки. Экстрагирование ДНК проводили, используя набор «ГМО-Сорб-Б» («Синтол», Россия), в состав которого входит цетилтриметиламмония бромид - лизирующий реагент ионного детергента. ПЦР-РВ проводили при помощи амплификатора «Rotor-Gene 6000» (Qiagen, Германия). Для первых 4 проб

каждого образца использовали тест-систему для выявления ДНК рыб трески, пикши и минтая («Органик ДНК Тест», Россия). В состав данного набора входят: «ПЦР смесь треска/пикша/минтай», ПЦР буфер, Таq-полимераза, отрицательный контрольный образец (ОКО) для контроля этапа экстракции ДНК, положительный и отрицательный контроли. Для оставшихся проб использовали набор для идентификации ДНК рыб семейства лососёвых и дифференциации видов: горбуши, кеты и нерки («Синтол», Россия), в который входит соответствующая реакционная смесь, ДНК-полимераза (SynTaq T+), положительный (ПКО) и отрицательный (ОКО) контрольные образцы. Для постановки реакции при помощи набора «Треска-Пикша-Минтай» устанавливали следующие параметры программы амплификации: первичная денатурация: 95°C — 5 мин; 40 циклов: 95°C — 15 с; 61°C — 20 с; 72°C — 20 с. При постановке реакции при помощи набора «Горбуша-Кета-Нерка» программа амплификации имела иные параметры: первичная денатурация: 95°C — 5 мин; 40 циклов: 95°C — 15 с; 60°C — 40 с. Учет результатов проведенных исследований проводили в соответствии с установленным программным обеспечением приборов и инструкциями к используемым тест-системам.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате постановки ПЦР-РВ с

исследуемыми образцами консервов печени трески при помощи тест-системы «Треска-Пикша-Минтай» установили, что в одном из 12 исследуемых образцов отсутствовала ДНК трески (табл. 1).

Из данных, представленных в таблице 1, установили, что в 11 образцах консервов печени трески обнаружено содержание ДНК рыб семейства тресковых так как величина порогового цикла (Ct) образцов по каналу ROX/Orange показала меньшие результаты, чем Ct для K+ по ROX/Orange, кроме того их значения были меньше 35. Величина порогового цикла (Ct) этих же образцов по каналу Cy5/Red также показала меньшие результаты, чем Ct для K+ по Cy5/Red, и их значения были меньше 35, что свидетельствует о том, что во всех образцах обнаружено ДНК рыб искомого семейства. ДНК пикши и минтая во всех исследуемых образцах консервов печени трески обнаружено не было. При следующем проведении ПЦР-РВ при помощи второй тест-системы установили, что в одном из 12 образцов консервов печени трески присутствовала ДНК горбуши (табл. 2). Этим образцом оказался образец один, в котором на предыдущем этапе исследований обнаружили отсутствие ДНК трески (табл. 1).

Анализируя данные, представленные в таблице 2, можно сделать вывод, что при исследовании одного образца величина

Таблица 1
Результаты ПЦР-РВ при помощи тест-системы «Треска-Пикша-Минтай»

Образец	Каналы роста сигнала флуоресценции			
	ДНК минтая (Gadus chalcogrammus) FAM/Green	ДНК пикши (Melanogrammus aeglefinus) R6G/HEX/JOE/ Yellow	ДНК трески (Gadus morhua) ROX/Orange	ДНК искомым рыб Cy5/Red
K+	22,12	22,35	21,09	21,24
1	ДНК данных видов рыб не обнаружено		ДНК данных видов рыб не обнаружено	
2			18,45	18,09
3			18,15	17,85
4			19,38	18,84
5			17,83	17,03
6			17,31	17,05
7			19,65	18,36
8			18,24	17,20
9			17,33	17,25
10			19,25	18,20
11			17,65	17,15
12			18,35	18,27

Таблица 2

Результаты ПЦР-РВ с помощью тест-системы «Горбуша-Кета-Нерка»

Образец	Каналы роста сигнала флуоресценции			
	ДНК кеты (Oncorhynchus keta) R6G/HEX/JOE/ Yellow	ДНК нерки (Oncorhynchus nerka) ROX/Orange	ДНК горбуши (Oncorhynchus gorbuscha) FAM/Green	ДНК искомым рыб Cy5/Red
ПКО	23,51	23,53	24,65	18,24
1	ДНК данных видов рыб не обнаружено	ДНК данных видов рыб не обнаружено	17,58	16,10
2			ДНК данных видов рыб не обнаружено	
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				

порогового цикла (Ct) образцов по каналу FAM/Green показало меньшие результаты, чем Ct для ПКО по FAM/Green, что свидетельствует о наличии в этом образце ДНК горбуши. В остальных образцах ДНК горбуши выявлено не было. ДНК кеты и нерки во всех исследуемых образцах консервов печени трески не обнаружено. Таким образом, заявленная в составе консервов печень трески не идентифицирована только в одном исследуемом образце.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенных исследований установили в одном из исследуемых образцов консервов подмену печени трески молоками горбуши при их производстве, что свидетельствует о видовой фальсификации. Такая продукция в соответствии с действующим законодательством нашей страны не должна реализовываться, а производитель должен нести ответственность за его нарушение. По органолептическим показателям невозможно определить видовую фальсификацию консервов печени трески, так как молоки горбуши и печень трески после консервирования высокими температурами обладают схожими характеристиками, такими как цвет, консистенция, запах и др., поэтому полимеразная цепная реакция является

одним из самых преимущественных методов идентификации пищевых продуктов и сырья для их производства.

IDENTIFICATION OF SPECIFIC FALSIFICATION OF COD LIVER BY POLYMERASE CHAIN REACTION

Kalyuzhnaya T.V. * – PhD of veterinary science, Associate Professor; **Orlova D.A.** – PhD of veterinary science, Associate Professor; **Zhmurkina P.S.** – 4th year student of the Faculty of Veterinary and Sanitary Expertise. SPbSUVU

*tomagafk087@mail.ru

ABSTRACT

With the increase in consumer demand for fish products, the number of enterprises offering their products on the market has increased, which has led to a decrease in the quality of these goods. Cod liver is an expensive raw material for the production of canned food. In order to reduce production costs, manufacturers replace cod liver with salmon milk, in particular pink salmon, which is a species falsification. Modern methods of fish and fish products research are used to detect falsification in laboratory practice. The advantage of this method is that it is the most specific and sensitive for identifying the species of the raw material composition of the product and the finished product, since the DNA molecule does not

lose its ability to perform an informative function under the influence of physical or chemical parameters, which characterizes it as the most stable structure of any animal organism. The research was carried out in the conditions of the Department of Molecular Research of the North-Western branch of the FGBI VNIIZH. The research material was 12 samples of canned fish sterilized from the liver of Atlantic cod. At the first stage, sample preparation was carried out by homogenizing samples into mortars, then 8 samples of each sample were taken, DNA extraction was carried out using a set of "GMO-Sorb-B". At the next stage, using the "Rotor-Gene 6000" amplifier, a polymerase chain reaction was set up, using kits for detecting the DNA of cod, haddock, pollock and DNA of salmon fish and differentiating species: pink salmon, chum salmon and sockeye salmon. As a result of the conducted studies, it was established that the liver of cod declared in the composition was not detected in one sample, since the content of cod fish was not detected in all samples from this sample, but the presence of pink salmon DNA was established. The results obtained indicate the specific falsification of canned cod liver.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Биченова, А. В. Исследование качества и безопасности рыбных консервов из печени трески / А. В. Биченова // Вестник научных трудов молодых учёных, аспирантов, магистрантов и студентов ФГБОУ ВО "Горский государственный аграрный университет". Том 55. Часть III. – Владикавказ : Горский государственный аграрный университет, 2018. – С. 316-319.
2. Фомина, Т. А. Идентификация атлантической трески методом ПЦР в реальном времени / Т. А. Фомина, М. Ю. Минаев, А. А. Махова // Контроль качества продукции. – 2019. – № 11. – С. 24-31.
3. Калюжная, Т. В. Идентификация икры лососевых пород рыб с помощью полимеразной цепной реакции с наблюдением в реальном времени / Т. В. Калюжная, Д. А. Орлова, Г. Н. Родак // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 4. – С.

88-92. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2021.4.88.

4. Кротенков, В. П. Риски при употреблении отдельных изделий из печени трески / В. П. Кротенков // Вестник Российского университета кооперации. – 2014. – № 4(18). – С. 126-128.

5. Калюжная, Т. В. Послеубойная ветеринарно-санитарная экспертиза и идентификация продуктов убоя нутрии / Т. В. Калюжная // Международный вестник ветеринарии. – 2018. – № 3. – С. 101-104. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2018.3.101.

6. Овсянников, А. Г. Анализ мониторинга качества и безопасности мяса и мясопродуктов в рамках государственных закупок / А. Г. Овсянников, Д. А. Орлова, Т. В. Калюжная // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 2. – С. 83-87. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2021.2.83.

REFERENCES

1. Bichenova, A.V. Investigation of the quality and safety of canned fish from cod liver. [Вестник научных трудов молодых учёных, аспирантов, магистрантов и студентов ФГБОУ ВО "Горский государственный аграрный университет"]. 2018; 5: 316-319 [in Russ.]
2. Fomina, T. A. Identification of Atlantic cod by real-time PCR [Контроль качества продукции]. 2019; 11: 24-31 [in Russ.]
3. Kalyuzhnaya, T. V. Identification of salmon roe by polymerase chain reaction with real-time observation [Международный вестник ветеринарии]. 2021;4:88-92. doi 10.52419 [in Russ.]
4. Krotentkov, V. P. Risks in the use of individual cod liver products [Вестник Российского университета кооперации]. 2014;4:126-128. [in Russ.]
5. Kalyuzhnaya, T. V. Post-slaughter veterinary and sanitary examination and identification of nutria slaughter products [Международный вестник ветеринарии]. 2018;3:101-104. doi 10.17238 [in Russ.]
6. Ovsyannikov, A. G. Analysis of monitoring the quality and safety of meat and meat products in the framework of public procurement [Международный вестник ветеринарии]. 2021;2:83-87. doi 10.17238 [in Russ.]