

СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ

Научная статья

УДК 006.91:637.07:577.322.9

<https://doi.org/10.20915/2077-1177-2025-21-3-5-20>



Стандартные образцы состава ДНК для метрологического обеспечения идентификации видового состава мясной продукции

М. С. Вонский¹  , А. Л. Рунов¹ , Е. В. Курчакова¹ , С. Б. Горняя¹ ,
А. П. Степанова¹ , Д. В. Хвостов² , М. Ю. Минаев² 

¹ ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д. И. Менделеева»,
г. Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова» Российской академии наук,
г. Москва, Россия

 m.s.vonsky@vniim.ru

Аннотация: Мясо и мясная продукция входят в число ключевых элементов питания во всем мире. Однако употребление фальсифицированных мясных продуктов может нанести ущерб здоровью человека, а также нарушить возможные ограничения, связанные с вероисповеданием. Для определения видового состава мясной продукции и измерений содержания примесей применяются методы анализа нуклеиновых кислот, требующие использования стандартных образцов. Утверждение в 2024 году Государственного первичного эталона единицы числа копий последовательности ДНК ГЭТ 220–2024 позволило приступить к разработке стандартных образцов, аттестуемых по отношению числа копий видоспецифических последовательностей ДНК. Были приготовлены и аттестованы стандартные образцы, представляющие растворы смесей геномной ДНК, выделенной из мяса свиньи, курицы и крупного рогатого скота. На основании проведенных испытаний в конце 2024 года были утверждены типы стандартных образцов состава ДНК курицы в матрице ДНК крупного рогатого скота (ГСО 12743-2024 комплект ДНК-*Gallus*-ВНИИМ) и стандартных образцов состава ДНК свиньи в матрице ДНК крупного рогатого скота (ГСО 12744-2024 комплект ДНК-*Sus*-ВНИИМ). Данные стандартные образцы содержания видоспецифической ДНК замещают существующие аналоги стандартных образцов иностранного производства и обеспечивают метрологическую прослеживаемость выполняемых в Российской Федерации измерений в области пищевой промышленности к Государственному первичному эталону единицы числа копий последовательности ДНК ГЭТ 220.

Ключевые слова: стандартные образцы, видовой состав, мясная продукция, видоспецифические последовательности ДНК, отношение числа копий последовательностей ДНК

Принятые сокращения: КККВ – Консультативный комитет по количеству вещества: метрология в химии и биологии; КРС – крупный рогатый скот; МКМВ – Международный комитет мер и весов; ПЦР – полимеразная цепная реакция; РГНА – рабочая группа по анализу нуклеиновых кислот; СО – стандартный образец; GMP – надлежащие производственные практики.

Для цитирования: Стандартные образцы состава ДНК для метрологического обеспечения идентификации видового состава мясной продукции / М. С. Вонский [и др.] // Эталоны. Стандартные образцы. 2025. Т. 21, № 3. С. 5–20. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2025-21-3-5-20>

Статья поступила в редакцию 03.06.2025; одобрена после рецензирования 25.08.2025; принята к публикации 25.09.2025.

REFERENCE MATERIALS

Research Article

DNA Composition Reference Materials for Metrological Support of Species Identification in Meat Products

Maxim S. Vonsky¹  , Andrei L. Runov¹ , Elena V. Kurchakova¹ ,
Sofiia B. Gorniaia¹ , Anastasiia P. Stepanova¹ , Daniil V. Khvostov² ,
Michail Yu. Minaev² 

¹ D. I. Mendeleyev Institute for Metrology, St. Petersburg, Russia

² V. M. Gorbатов Federal Scientific Center of Food Systems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

 m.s.vonsky@vniim.ru

Abstract: Meat and meat products are one of the key elements of nutrition worldwide. At the same time, food adulteration is a serious problem for both medical and religious reasons. To determine the species composition of meat products and measure the content of impurities, nucleic acid analysis methods are used, which require application of reference materials. The approval in 2024 of the State primary standard for the DNA sequence copies number GET 220–2024 made it possible to begin development of reference materials certified for the species-specific DNA sequences copy number ratio. Reference materials representing solutions of mixtures of genomic DNA isolated from pork, chicken, and cattle were prepared and certified. Based on the trials conducted, at the end of 2024, the types of RM for chicken DNA composition in a cattle DNA matrix (GSO 12743-2024 DNA-*Gallus*-VNIIM set) and RM for pig DNA composition in a cattle DNA matrix (GSO 12744-2024 DNA-*Sus*-VNIIM set) were approved at the end of 2024. These reference materials of species-specific DNA content replace existing foreign-made RM analogues and ensure the metrological traceability of measurements performed in the Russian Federation in the food industry to the state primary standard GET 220.

Keywords: reference materials, species composition, meat products, species-specific DNA sequences, DNA sequences copy number ratio

Abbreviations used: GMP – Good Manufacturing Practices; RM – Reference Material; NAWG – Nucleic Acid Analysis Working Group; CCQM – Consultative Committee for Amount of Substance: Metrology in Chemistry and Biology; CIPM – International Committee for Weights and Measures; PCR – Polymerase Chain Reaction; Cattle – Large Horned Livestock.

For citation: Vonsky M. S., Runov A. L., Kurchakova E. V., Gorniaia S. B., Stepanova A. P., Khvostov D. V. et al. DNA composition reference materials for metrological support of species identification in meat products. *Measurement Standards. Reference Materials*. 2025;21(3):5–20. (In Russ.). <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2025-21-3-5-20>

The article was submitted 03.06.2025; approved after reviewing 25.08.2025; accepted for publication 25.09.2025.

Введение

Мясо и мясная продукция – один из важнейших источников животного белка, что делает мясо и мясную продукцию ключевыми элементами рациона питания во всем мире. Доля животного белка в общем мировом потреблении составляет около 40 % [1, 2], следовательно, по мере увеличения численности населения Земли последует и увеличение объема потребляемого мяса. Высокая стоимость мясной продукции и глобализация рынка продовольствия при совершенствовании технологии глубокой переработки продуктов убоя открывают возможности для подмены состава продукции с целью извлечения финансовой выгоды. Примером того является скандал, разгоревшийся в 2013 г. в странах Европейского Союза, когда в составе однокомпонентной продукции из говядины были обнаружены конина и свинина [3]. Обнаружение ДНК свиньи в шоколадных конфетах Cadbury в Малайзии в 2014 г. [4] получило широкую огласку в СМИ и продемонстрировало важность регулярных проверок пищевой продукции. В отдельных случаях контроль выявлял до 100 % замещения декларированной говядины мясом другого происхождения [3]. Очевидно, что несоответствие маркировки может происходить как вследствие преднамеренных мошеннических действий, так и в результате непреднамеренных случаев перекрестной контаминации в процессе производства и реализации пищевой продукции. Законодательно установленные во многих странах мира требования обязывают производителя информировать потребителей о составе пищевой продукции. Федеральный закон США об инспекции мяса¹ и Регламент Европейского пар-

ламента (ЕС) № 178/2002² не допускают фальсификацию мясных продуктов путем подмены мясом незаявленных видов животных. В Российской Федерации в соответствии с Федеральным законом № 29-ФЗ³ не допускаются в оборот пищевые продукты, которые не соответствуют представленной информации или в отношении которых имеются обоснованные подозрения об их фальсификации.

Системы прослеживаемости пищевой продукции позволяют на каждом этапе производственной цепочки контролировать источник и качество, аутентификация обеспечивает проверку соответствия маркировки действительному составу продукта [5, 6].

Учитывая многогранность проблематики фальсификации мясной продукции, а также ее влияние на экономику, здоровье потребителей и социальную стабильность, актуальность разработки новых методов контроля видового состава мяса в пищевой продукции становится бесспорной [7–9]. В странах Европейского Союза организована система мониторинга мясной продукции, позволяющая выявлять наличие незаявленных ингредиентов. Проведенные в 2013 г. в Великобритании исследования⁴ показали:

– 69 % исследованных образцов состава

² Regulation (EC) № 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2002/178/oj/eng> [Accessed 29 July 2025].

³ О качестве и безопасности пищевых продуктов : Федер. закон Рос. Федерации от 2 января 2000 г. № 29-ФЗ.

⁴ The Guardian. Burger scandal: new tests at factory reveal more horse DNA. Available at: <https://www.theguardian.com/world/2013/jan/18/burger-scandal-tests-horse-dna>. [Accessed 29 July 2025].

¹ Federal Meat Inspection Act. Public Law 90–201. Available at: <https://www.fsis.usda.gov/policy/food-safety-acts/federal-meat-inspection-act> [Accessed 29 July 2025].

мясной продукции не соответствовали заявленным характеристикам;

– 29 % общей доли говядины на производствах составила говядина с незаявленной примесью конины.

Анализ причин присутствия незаявленных компонентов в составе сырья показал: многие случаи были вызваны перекрестной контаминацией продукции за счет несоблюдения надлежащих производственных практик (GMP) на производстве, особенно при смене ассортимента перечня вырабатываемой продукции.

Методы, основанные на применении полимеразной цепной реакции (ПЦР), с начала 2000-х гг. прочно закрепились в арсеналах лабораторий и в настоящее время широко применяются для определения видового состава мяса по выделенной из продукта питания ДНК [10–12]. Утвержденные в 2011 г. методические рекомендации МР 4.2.0019-11⁵ определяют методы качественного подтверждения видовой принадлежности растений, продуктов убоя сельскохозяйственных животных и птицы на основе анализа ДНК методом ПЦР. В отличие от морфологических методов и методов иммуноферментного анализа, метод ПЦР пригоден для анализа продукции, прошедшей термическую обработку [13]. Метод ПЦР в реальном времени был также положен в основу разработанных референтной лабораторией Европейского союза по животным белкам в кормовых продуктах (EURL-AP) протоколов по выявлению видоспецифических последовательностей ДНК жвачных животных⁶, кур⁷ и свиней⁸. Протоколы предписывают

использование в качестве калибраторов для определения порогового цикла сертифицированных стандартных образцов ERM-AD482k⁹, ERM-AD483¹⁰ и ERM-AD484¹¹, представляющих собой наборы растворов рекомбинантных плазмид, в составе которых находятся клонированные специфические последовательности ДНК жвачных животных, свиньи и домашней птицы соответственно. Кроме того, EURL-AP разработаны рекомендации¹² по пересчету результатов измерений отношения числа копий ДНК методом ПЦР в массовые доли: применение рекомендаций рассмотрено на примере продукции, содержащей ГМО, но не ограничено данным примером [14].

В Российской Федерации действует национальный стандарт – ГОСТ Р 70296–2022¹³, устанавливающий применение ПЦР в режиме реального времени для выполнения полуколичественной оценки содержания видоспецифических последовательностей ДНК относительно общей ДНК млекопитающих и птиц. Проведение оценки основано на применении рекомбинантных плазмид, содержащих последовательности из состава видоспецифических генов *Rarres1*, *RPL6*, *Pop1* или *RPS6* и элемента *VE1800*, называемых в статье «калибровочными стандартами» и используемых для построения калибровочного графика. Число копий каждой плазмиды – калибровочного стандарта – рассчитывают, исходя из результатов

www.eurl.craw.eu/wp-content/uploads/2021/09/EURL-AP-SOP-Pig-PCR-V1.0.pdf [Accessed 29 July 2025].

⁹ ERM-AD482k RUMINANT pDNA CALIBRANT. Available at: <https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/ERM-AD482k> [Accessed 29 July 2025].

¹⁰ ERM-AD483 PORCINE pDNA CALIBRANT. Available at: <https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/erm-AD483> [Accessed 29 July 2025].

¹¹ ERM-AD484k POULTRY pDNA CALIBRANT. Available at: <https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/ERM-AD484k> [Accessed 29 July 2025].

¹² EURL Application Note.v:1.0. 11 2019. Use of the harmonised conversion factors to transform PCR results from the DNA copy number ratio domain into the mass fraction domain. Available at: <https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/doc/Application%20note%20v1.0%20-%20conversion%20factor.pdf> [Accessed 29 July 2025].

¹³ ГОСТ Р 70296–2022 Продукция пищевая. Метод полуколичественной оценки содержания ДНК кур, быка домашнего, свиньи, лошади в мясной продукции, в том числе из мяса птицы.

⁵ Методические рекомендации МР 4.2.0019-11 «Идентификация сырьевого состава мясной продукции» (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 18 апреля 2011 г.).

⁶ EURL-AP Standard Operating Procedure. Detection of ruminant DNA in feed using real-time PCR. Available at: <https://www.eurl.craw.eu/wp-content/uploads/2021/05/EURL-AP-SOP-Ruminant-PCR-V1.3.pdf> [Accessed 29 July 2025].

⁷ EURL-AP Standard Operating Procedure. Detection of poultry (chicken and turkey) DNA in feed using real-time PCR. Available at: <https://www.eurl.craw.eu/wp-content/uploads/2023/03/Poultry-implementation-study-final-version.pdf> [Accessed 29 July 2025].

⁸ EURL-AP Standard Operating Procedure. Detection of pig DNA in feed using real-time PCR. Available at: <https://www.eurl.craw.eu/wp-content/uploads/2021/05/EURL-AP-SOP-Pig-PCR-V1.0.pdf> [Accessed 29 July 2025].

измерений массовой концентрации плазмидной ДНК на спектрофотометре или флуориметре. Документ не содержит показателей точности выполняемой полуколичественной оценки, при этом применение оптических методов для приписывания значения калибровочным стандартам может вносить значительный вклад в погрешность получаемых результатов [15].

Применение методов анализа нуклеиновых кислот для идентификации видовой принадлежности и определения видового состава мяса находится в фокусе внимания Рабочей группы по анализу нуклеиновых кислот Консультативного комитета по количеству вещества (метрология в химии и биологии) (РГНА КККВ) Международного комитета мер и весов (МКМВ) [16]. Возможности национальных метрологических институтов в части определения видоспецифического состава мяса и измерений отношения числа копий видоспецифических последовательностей ДНК были продемонстрированы в ключевых сличениях КККВ МКМВ CCQM-K86.d¹⁴ и параллельных пилотных сличениях CCQM-P113.5¹⁵. В пилотных сличениях CCQM-P231¹⁶ перед участниками была поставлена задача идентификации видов животных и птицы и определения отношения числа копий видоспецифических последовательностей ДНК в составе образцов, имитирующих мясную продукцию, прошедшую глубокую термическую обработку¹⁷. Предварительные результаты сличений продемонстрировали возможности применения цифровой ПЦР и метода массового параллельного

секвенирования не только для измерений отношения числа копий видоспецифических последовательностей ДНК, выделенной из матрицы с высоким содержанием белка, но также для количественного анализа видового состава мяса и определения массовой доли примеси по результатам анализа ДНК.

Успешное участие ВНИИМ им. Д. И. Менделеева в ключевых (CCQM-K86.d) и пилотных (CCQM-P231) сличениях КККВ МКМВ и последующее утверждение в 2024 г. Государственного первичного эталона единицы числа копий последовательности ДНК ГЭТ 220–2024¹⁸ позволило приступить к разработке стандартных образцов (СО), аттестуемых по отношению числа копий видоспецифических последовательностей ДНК.

Целью описанной в настоящей статье работы являлась разработка СО состава ДНК, предназначенных для метрологического обеспечения измерений содержания примесей ДНК курицы (*Gallus gallus*) и свиньи (*Sus scrofa*) в ДНК крупного рогатого скота (домашнего быка – *Bos taurus*) методами, основанными на применении ПЦР.

В рамках работы решены задачи:

- получения препаратов геномной ДНК курицы, свиньи и крупного рогатого скота (домашнего быка);
- подтверждения их видоспецифического состава и отсутствия примесей ДНК других видов;
- измерений концентрации копий видоспецифических последовательностей ДНК;
- приготовления и испытания в целях утверждения типа (а) СО состава ДНК курицы в матрице ДНК крупного рогатого скота; (б) СО состава ДНК свиньи в матрице ДНК крупного рогатого скота.

Одновременно изучена и доказана их применимость для проведения калибровки ПЦР в реальном времени.

Материалы и методы

В работе использованы образцы мяса, полученные во время убоя животных и их ветеринарно-санитарной экспертизы:

¹⁴ CCQM-K86.d Relative quantification of genomic DNA fragments extracted from protein rich matrix. Pilot institute National Institute of Metrology (Thailand). Available at: <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC56358> [Accessed 29 July 2025].

¹⁵ CCQM-K86.d. Relative quantification of genomic DNA fragments extracted from protein rich matrix. Available at: <https://www.bipm.org/kcdb/comparison?id=1762> [Accessed 29 July 2025].

¹⁶ CCQM-P231: Species specific meat composition determination of DNA extracted from meat. Pilot institute National Institute of Metrology (Thailand). Available at: <https://conferences.ptb.de/event/3/attachments/package> [Accessed 29 July 2025].

¹⁷ Report from the CCQM Nucleic Analysis Working Group for the period (April 2024–25). Available in: www.bipm.org [Accessed 29 July 2025].

¹⁸ ГЭТ 220–2024 Государственный первичный эталон единицы числа копий последовательности ДНК.

- свиньи по ГОСТ 31476–2012 и ГОСТ 31778–2012¹⁹;
- КРС (быка) по ГОСТ 34120–2017 и ГОСТ 31797–2012²⁰;
- кур по ГОСТ 18292–2012, ГОСТ 31936–2012 и ГОСТ 31962–2013²¹.

После удаления жира, фасций, сосудов и кожи мясо измельчали и гомогенизировали последовательно на волчке с диаметром решетки 6 мм Hurakan HKN-12SC (Китай) и на ножевой мельнице GRINDOMIX GM 200 (Retsch, Хаан, Германия). Гомогенизированное мясо переносили в стерильные пакеты, замораживали при температуре –85 °С в течение суток и проводили лиофилизацию в течение 72 часов при глубине вакуума 0,47 мбар и температуре конденсатора –28 °С, используя лабораторную лиофильную сушилку Alpha 1–2 LD plus (Martin Christ, Osterode am Harz Germany). По окончании сушки до влажности не более 5 % мясные пластины измельчали вручную и затем на ножевой мельнице GRINDOMIX GM 200 (Retsch, Хаан, Германия). Полученный материал использовали для выделения ДНК.

Выделение геномной ДНК проводили с использованием цетилтриметиламмония бромида модифицированным методом Stefanova et al. [17]. Чистоту и концентрацию выделенной ДНК оценивали спектрофотометрически на приборе BioSpec-nano (Shimadzu, Япония). Концентрацию двуцепочечной ДНК определяли по относительному поглощению раствора на длине волны 260 нм. Чистоту ДНК оценивали по соотношению относительного поглощения раствора на длинах волн: 260 и 280 нм; 260 и 230 нм. Несмотря на то, что данный метод определения чистоты

и концентрации ДНК широко используется в практике, он не позволяет провести измерения концентрации копий последовательности ДНК, не обладает достаточной чувствительностью и специфичностью и может быть использован только для оценки, но не для измерений [18].

Подтверждение видового состава полученных биологических материалов и измерения отношения числа копий видоспецифических последовательностей ДНК проводили с использованием аналитического оборудования из состава ГЭТ 220–2024 методом цифровой капельной ПЦР (цкПЦР) по методикам, включенным в комплект документации эталона. При проведении цкПЦР весь объем реакционной смеси разделяется на микрообъемы – капли, в каждой из которых создаются условия для прохождения независимой ПЦР с флуоресцентной детекцией наличия или отсутствия целевого продукта по конечной точке [19]. При прохождении капель через проточный флуориметр происходит детектирование флуоресцентного сигнала и разделение капель на два массива:

- «позитивные» капли, в которых прошла ПЦР и генерируется флуоресцентный сигнал;
- «негативные» капли с фоновым уровнем флуоресценции.

Концентрацию копий последовательности в образце рассчитывают на основе доли позитивных капель в общем количестве реакционных микрообъемов с помощью распределения Пуассона [20].

В работе использовали праймеры и зонды:

- 1) рекомендованные следующими стандартами²²:

- ISO/TS20224–1:2020 (последовательность из состава гена β-актина крупного рогатого скота, GeneBank AC: EN170825.1);

¹⁹ ГОСТ 31476–2012 Свиньи для убоя. Свинина в тушах и полутушах. Технические условия. ГОСТ 31778–2012 Мясо. Разделка свинины на отрубы. Технические условия.

²⁰ ГОСТ 34120–2017 Крупный рогатый скот для убоя. Говядина и телятина в тушах, полутушах и четвертинах. Технические условия. ГОСТ 31797–2012 Мясо. Разделка говядины на отрубы. Технические условия.

²¹ ГОСТ 18292–2012 Птица сельскохозяйственная для убоя. Технические условия. ГОСТ 31936–2012 Полуфабрикаты из мяса и пищевых субпродуктов птицы. Общие технические условия. ГОСТ 31962–2013 Мясо кур (тушки кур, цыплят, цыплят-бройлеров и их части). Технические условия.

²² ISO/TS20224–1:2020 Molecular biomarker analysis – Detection of animal-derived materials in foodstuffs and feedstuffs by real-time PCR. Part 1: Bovine DNA detection method. ISO/TS20224–3:2020 Molecular biomarker analysis – Detection of animal-derived materials in foodstuffs and feedstuffs by real-time PCR. Part 3: Porcine DNA detection method. ISO/TS20224–4:2020 Molecular biomarker analysis – Detection of animal-derived materials in foodstuffs and feedstuffs by real-time PCR. Part 4: Chicken DNA detection method.

– ISO/TS20224–3:2020 (последовательность из состава гена β -актина свиньи, GeneBank AC: DQ452569.1);

– ISO/TS20224–4:2020 (последовательность из состава гена TGF- β 3 курицы, GeneBank AC: AY685072.1);

2) описанные в статье [11] (последовательность из состава гена миостатина свиньи, общая для последовательностей генов миостатина животных и птиц, GeneBank AC: AY208121, Q71118).

Последовательности использованных в работе праймеров и зондов приведены в табл. 1. Наборы в составе фланкирующих праймеров и зонда предназначены для измерений концентрации копий последовательности общего для животных (млекопитающих и птиц) гена миостатина, концентрации копий видоспецифических последовательностей из состава генов β -актина свиньи, TGF- β 3 курицы и β -актина КРС соответственно.

Синтез праймеров и зондов был проведен ООО «Синтол» (Россия). В результате анализа подтвержден видовой состав полученных биологических материалов мяса кур-бройлеров,

свиней и КРС. После подтверждения видового состава материала крупного рогатого скота с использованием праймеров и зондов для амплификации последовательности в составе гена β -актина КРС провели измерения концентрации копий гаплоидных геномов животной ДНК в образцах при помощи праймеров и зондов для амплификации последовательности из состава гена миостатина, общего для животных и птиц. Распределение продуктов цкПЦР по интенсивности флуоресцентного сигнала для последовательностей в составе гена β -актина КРС, гена β -актина свиньи, гена TGF- β 3 курицы и гена миостатина, общего для животных и птиц, проиллюстрировано на рис. 1.

Исследование стабильности материалов-кандидатов СО проводили по методу ускоренного старения с учетом требований Руководства ГОСТ ISO Guide 35-2015, РМГ 93-2015²³.

²³ ГОСТ ISO Guide 35–2015. Стандартные образцы. Общие и статистические принципы сертификации (аттестации). РМГ 93–2015 «Государственная система обеспечения единства измерений. Оценивание метрологических характеристик стандартных образцов».

Таблица 1. Последовательности праймеров и зондов

Table 1. Primers and probes sequences

Ген/последовательность	Последовательность нуклеотидов праймеров/зонда	Размер ампликона (пар нуклеотидов)
Миостатин AC: AY208121.1 84309-84405	5'-TTGTGCAAATCCTGAGACTCAT-3' 5'-ATACCAGTGCCTGGGTTCAT-3' 5'-[HEX]-CCCATGAAAGACGGTACAAGGTATACTG-[BHQ1]-3'	97
β -Актин свиньи AC: DQ452569.1 335-431	5'-CGTAGGTGCACAGTAGGTCTGAC-3' 5'-GGCCAGACTGGGGACATG-3' 5'-[FAM]-CCAGGTCGGGGAGTC-[NFQ-MGB]-3'	97
TGF- β 3 курицы AC: AY685072.1 313-389	5'-CAGCTGGCCTGCCGGC-3' 5'-GCCCAGTGGAATGTGGTATTCA-3' 5'-[FAM]-TGCCACTCCTCTGCACCCAGTGC-[TAMRA]-3'	77
β -Актин КРС AC: EH170825.1 19-80	5'-GGCCTCGGAGTGTGTATTTCAG-3' 5'-GCCCCAGAATGAGGTTCACTT-3' 5'-[FAM]-AGGTGCACAGTACGTTC-[NFQ-MGB]-3'	62

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

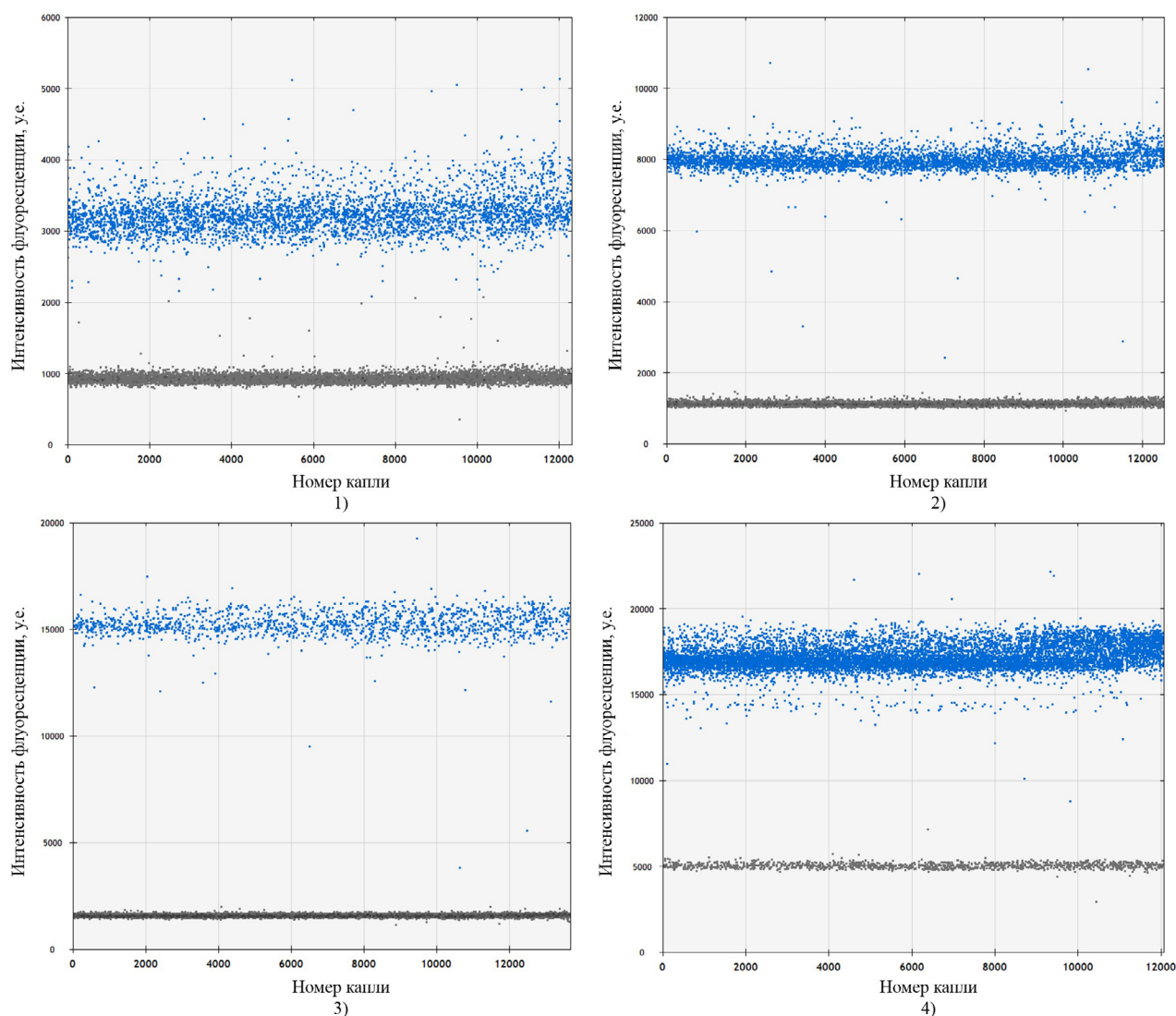


Рисунок подготовлен авторами / The figure is prepared by the authors

Рис. 1. Распределение продуктов цкПЦР по интенсивности флуоресцентного сигнала для последовательностей в составе: 1) гена β -актина КРС; 2) гена β -актина свиньи; 3) гена TGF- β 3 курицы; 4) гена миостатина

Fig. 1. Distribution of ddPCR products by fluorescence signal intensity for sequences within: 1) bovine β -actin gene; 2) porcine β -actin gene; 3) chicken TGF- β 3 gene; 4) myostatin gene

Результаты и обсуждение

Основным методом измерений содержания копий последовательности ДНК в аналитической лаборатории является количественный ПЦР в реальном времени. Данный метод требует использования калибраторов, содержащих известное число копий измеряемой последовательности. Отсутствие калибраторов, аттестованных по содержанию видоспецифических последовательностей ДНК курицы и свиньи,

не позволяло нормировать по данному показателю содержание примесей их мяса в мясной продукции. Требования к метрологическим характеристикам разработанных типов СО (табл. 2 и 3) были определены исходя из потребностей лабораторий контроля качества пищевого сырья и пищевой продукции.

СО представляют собой растворы, содержащие ДНК курицы и крупного рогатого скота, ДНК свиньи и крупного рогатого скота

Таблица 2. Нормируемые метрологические характеристики СО состава ДНК курицы в матрице ДНК крупного рогатого скота (комплект ДНК-*Gallus*-ВНИИМ)

Table 2. Standardized metrological characteristics of the reference material of chicken DNA composition in cattle DNA matrix (DNA-*Gallus*-VNIIM set)

Индекс СО	Аттестуемая характеристика	Интервал допускаемых аттестованных значений	Допускаемые значения относительной расширенной неопределенности аттестованного значения СО ($k=2$, $P=0,95$), U , %
ДНК- <i>Gallus</i> -ВНИИМ-0,1	Отношение числа копий видоспецифической последовательности ДНК курицы (<i>Gallus gallus</i>) к числу копий последовательности общего для животной ДНК гена миостатина	от 0,000 9 до 0,001 1 (от 0,09 до 0,11 %)	от 53 до 21
ДНК- <i>Gallus</i> -ВНИИМ-0,5		от 0,004 5 до 0,005 5 (от 0,45 до 0,55 %)	от 53 до 21
ДНК- <i>Gallus</i> -ВНИИМ-5		от 0,045 до 0,055 (от 4,5 до 5,5 %)	от 12 до 11

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

Таблица 3. Нормируемые метрологические характеристики СО состава ДНК свиньи в матрице ДНК крупного рогатого скота (комплект ДНК-*Sus*-ВНИИМ)

Table 3. Standardized metrological characteristics of the reference material of pig DNA composition in the cattle DNA matrix (DNA-*Sus*-VNIIM set)

Индекс СО	Аттестованная характеристика СО	Интервал допускаемых аттестованных значений	Допускаемые значения относительной расширенной неопределенности аттестованного значения СО ($k=2$, $P=0,95$), U , %
ДНК- <i>Sus</i> -ВНИИМ-0,1	Отношение числа копий видоспецифической последовательности ДНК свиньи (<i>Sus scrofa</i>) к числу копий последовательности общего для животной ДНК гена миостатина	от 0,000 9 до 0,001 1 (от 0,09 до 0,11 %)	от 53 до 21
ДНК- <i>Sus</i> -ВНИИМ-1		от 0,009 до 0,011 (от 0,9 до 1,1 %)	от 53 до 21
ДНК- <i>Sus</i> -ВНИИМ-5		от 0,045 до 0,055 (от 4,5 до 5,5 %)	от 12 до 11

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

в буфере TE (10 мМ Трис-НСl, 1 мМ ЭДТА, рН 8), расфасованные в полипропиленовые пробирки номинальным объемом 0,5 см³ с закручивающимися крышками, снабженные этикетками. Объем материала СО в каждой пробирке составляет не менее 0,2 см³. Каждый комплект включает 3 экземпляра СО. Первая партия произведенных стандартных образцов включала 20 комплектов ДНК-*Gallus*-ВНИИМ и 20 комплектов ДНК-*Sus*-ВНИИМ. Для аттестации от каждой партии случайным образом было отобрано по 8 экземпляров СО:

- 3 экземпляра для исследования метрологических характеристик СО;
- 3 экземпляра для исследования стабильности;
- 2 экземпляра для исследования технических характеристик.

Аттестованные значения СО были установлены методом прямых измерений на ГЭТ 220–2024 с применением входящих в комплект документации эталона методик после разбавления материала СО до значений величин из рабочего диапазона ГПЭ. Расчет относительной расширенной неопределенности

аттестованного значения СО проводили по формуле

$$U = k \cdot \sqrt{u_{\text{ГПЭ}}^2 + u_{\text{ТП}}^2 + u_{\text{стаб}}^2 + u_{\text{СКО}}^2}, \quad (1)$$

где $u_{\text{ГПЭ}}$ – относительная стандартная неопределенность ГПЭ; $u_{\text{ТП}}$ – относительная стандартная неопределенность, обусловленная процедурой приготовления СО; $u_{\text{стаб}}$ – относительная стандартная неопределенность, обусловленная нестабильностью СО; $u_{\text{СКО}}$ – относительная неопределенность, обусловленная стандартным отклонением при аттестации СО (межэкземплярная неоднородность); k – коэффициент охвата, равный 2, при $P=0,95$.

Вклады относительной стандартной неопределенности ГПЭ $u_{\text{ГПЭ}}$ приведены ниже в табл. 5 и 6.

Относительная стандартная неопределенность, обусловленная процедурой приготовления СО $u_{\text{ТП}}$, связана с разбавлением материала СО. При использовании автоматических дозаторов, указанных в методике приготовления, вклад данной составляющей не превышает 3 %.

Согласно ГОСТ ISO Guide 35–2015, допускается не проводить исследование неоднородности для СО, материал которых является истинным раствором, в связи с чем оценка внутриэкземплярной неоднородности не проводилась. Вклад межэкземплярной неоднородности учтен как $u_{\text{СКО}}$.

Стабильность СО определяли каждые 5 дней в течение 30 дней путем измерений отношения числа копий видоспецифической последовательности ДНК к числу копий последовательности общего для животной ДНК гена в СО, хранящемся при температуре хранения (ниже -15°C) и в СО, хранящемся при повышенной температуре ($+15^\circ\text{C}$).

Время исследования стабильности τ рассчитывали исходя из указанных температурных условий и предполагаемого срока хранения (8 месяцев, 240 дней) по формуле

$$\tau = \frac{T}{2 \frac{t_1 - t_0}{10}}, \quad (2)$$

где τ – время исследования стабильности (в днях); T – предполагаемый срок годности экземпляров СО; t_1, t_0 – температура хранения

материала СО и температура хранения СО при ускоренном старении.

Оценку стандартной неопределенности от нестабильности $u_{\text{стаб}}$ и проверку гипотезы об отсутствии тренда в течение срока годности выполняли согласно разделу 5 РМГ 93-2015. Отсутствие тренда определяли по t -критерию Стьюдента. Результаты исследования стабильности приведены в табл. 4.

Приведенные данные свидетельствуют о стабильности СО при температуре ниже -5°C в течение 8 месяцев.

Аттестованные значения СО и бюджет неопределенности приведены в табл. 5 и 6.

Разработанные СО внесены в Государственный реестр утвержденных типов стандартных образцов Российской Федерации под номерами ГСО 12743-2024 (комплект ДНК-*Gallus*-ВНИИМ) и ГСО 12744-2024 (комплект ДНК-*Sus*-ВНИИМ).

СО предназначены для хранения и передачи единицы «отношение числа копий последовательностей ДНК» при измерениях отношения числа копий видоспецифической последовательности ДНК курицы (*Gallus gallus*) и ДНК свиньи (*Sus scrofa*) к числу копий последовательности общего для животной ДНК гена миостатина от ГЭТ 220 средствами измерений, в качестве которого, в первую очередь, выступает оборудование для проведения ПЦР в реальном времени.

С целью апробации применения СО для построения калибровочного графика для ПЦР в реальном времени были поставлены реакции в 3-кратной повторности с системами праймеры/зонд для амплификации последовательностей из состава генов миостатина и TGF- $\beta 3$ курицы и генов миостатина и β -актина свиньи. Режим ПЦР в реальном времени включал этап 95°C 10 минут и 45 циклов в режиме плавления при 95°C 15 секунд и элонгации при 62°C 45 секунд на термоциклере CFX96 C1000 Touch (BioRad). На рис. 2 представлены в графической форме полученные результаты амплификации видоспецифической последовательности из состава гена TGF- $\beta 3$ курицы и последовательности из состава гена миостатина.

На рис. 3 представлен калибровочный график, который может быть использован для

Таблица 4. Результаты исследования стабильности
Table 4. Stability study results

Индекс СО	t-критерий Стьюдента (0,95; 7)	Расчетное значение t	Вывод об наличии тренда	Относительная неопреде- ленность от нестабильности за 8 месяцев, $u_{\text{стаб}}$ %
ДНК- <i>Gallus</i> - ВНИИМ-0,1	2,365	1,340	отсутствует	5,1
ДНК- <i>Gallus</i> - ВНИИМ-0,5		1,058	отсутствует	5,2
ДНК- <i>Gallus</i> - ВНИИМ-5		0,543	отсутствует	2,4
ДНК- <i>Sus</i> - ВНИИМ-0,1		0,162	отсутствует	6,0
ДНК- <i>Sus</i> - ВНИИМ-1		0,739	отсутствует	4,5
ДНК- <i>Sus</i> - ВНИИМ-5		1,933	отсутствует	3,4

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

Таблица 5. Бюджет неопределенности и аттестованные значения отношения числа ко-
пий видоспецифической последовательности ДНК курицы (*Gallus gallus*) к числу ко-
пий последовательности общего для животной ДНК гена миостатина в ГСО 12743-2024,
партия № 244/001-2025
Table 5. Uncertainty budget and certified values of the copy number ratio of the chicken (*Gallus
gallus*) species-specific DNA sequence to the common to animal DNA of the myostatin gene
sequence in GSO 12743-2024, batch № 244/001-2025

Индекс СО в комплекте	Аттестованное значение	$u_{\text{ГПЭ}}$, %	$u_{\text{СКО}}$, %	$u_{\text{стаб}}$, %	$u_{\text{ТП}}$, %	U_o ($k=2$, $P=0,95$), %
ДНК- <i>Gallus</i> -ВНИИМ-5	0,050 3	2,9	2,2	2,4	3,0	10,6
ДНК- <i>Gallus</i> -ВНИИМ-0,5	0,004 9	8,7	2,7	5,2	3,0	21,8
ДНК- <i>Gallus</i> -ВНИИМ-0,1	0,001 01	13,0	2,9	5,1	3,0	29,2

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

пересчета результатов ПЦР в реальном вре-
мени – разнице в пороговых циклах, ΔCt – в от-
ношение числа копий видоспецифической по-
следовательности ДНК курицы к числу копий
последовательности общего для животной ДНК
гена миостатина.
Значение коэффициента достоверности ап-
проксимации калибровочного графика линей-
ной зависимостью R^2 составляет 0,99, что по-
казывает применимость разработанных СО

в качестве калибраторов для количественной
ПЦР в реальном времени. Аналогичные резуль-
таты получены при построении калибровочно-
го графика для генов миостатина и β -актина
свиньи.
Поскольку материал СО представляет
полноразмерную геномную ДНК, он явля-
ется полностью коммутативным с препара-
тами ДНК, выделенными из мясной продук-
ции. Это выгодно отличает разработанные

Таблица 6. Бюджет неопределенности и аттестованные значения отношения числа копий видоспецифической последовательности ДНК свиньи (*Sus scrofa*) к числу копий последовательности общего для животной ДНК гена миостатина в ГСО 12744-2024, партия № 244/001-2025

Table 6. Uncertainty budget and certified values of the copy number ratio of the pig (*Sus scrofa*) species-specific DNA sequence to the common to animal DNA of the myostatin gene sequence in GSO 12744-2024, batch № 244/001-2025

Индекс СО в комплекте	Аттестованное значение	$u_{ГПЭ}$, %	$u_{СКО}$, %	$u_{стаб}$, %	$u_{тип}$, %	$U_o (k=2, P=0,95)$, %
ДНК- <i>Sus</i> -ВНИИМ-5	0,050 9	2,9	2,5	3,4	3,0	11,9
ДНК- <i>Sus</i> -ВНИИМ-1	0,010 1	8,8	2,3	4,5	3,0	21,1
ДНК- <i>Sus</i> -ВНИИМ-0,1	0,001 02	13,0	2,5	6,0	3,0	29,7

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

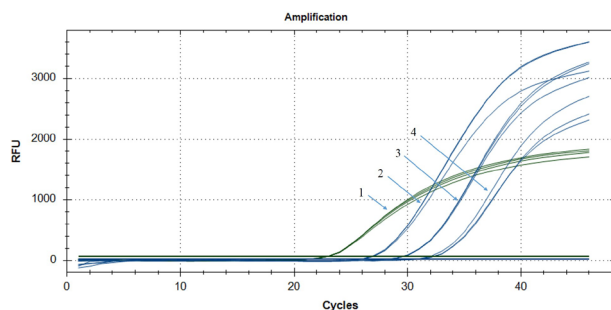


Рисунок подготовлен авторами / The figure is prepared by the authors

Рис. 2. Кривые амплификации методом ПЦР в реальном времени последовательностей в составе: 1) гена миостатина для всех образцов из комплекта ДНК-*Gallus*-ВНИИМ; 2) гена TGF- β 3 курицы, образец ДНК-*Gallus*-ВНИИМ-5; 3) гена TGF- β 3 курицы, образец ДНК-*Gallus*-ВНИИМ-0,5; 4) гена TGF- β 3 курицы, образец ДНК-*Gallus*-ВНИИМ-0,1

Fig. 2. Real-time PCR amplification curves for sequences within: 1) myostatin gene for all samples from the *Gallus*-VNIIM DNA set; 2) TGF gene- β 3 chickens, *Gallus*-VNIIM DNA sample-5; 3) TGF gene- β 3 chickens, *Gallus*-VNIIM DNA sample-0.5; 4) TGF gene- β 3 chickens, DNA sample-*Gallus*-VNIIM-0,1

СО от существующих сертифицированных СО производства Объединенного исследовательского центра Европейского Союза (JRC) ERM®-AD483 и ERM®-AD484, представляющих рекомбинантные плазмиды, в составе которой клонированы фрагменты ДНК свиньи и курицы, содержащие видоспецифические последовательности. В Российской Федерации аналоги разработанным СО отсутствуют.

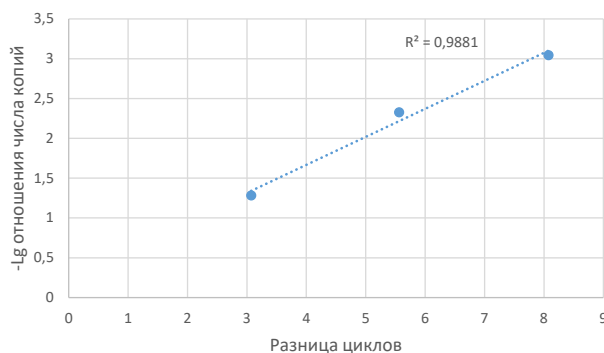


Рисунок подготовлен авторами / The figure is prepared by the authors

Рис. 3. Калибровочный график для пересчета результатов ПЦР в реальном времени в отношение числа копий видоспецифической последовательности ДНК курицы к числу копий последовательности общего для животной ДНК гена миостатина

Fig. 3. Calibration curve for converting real-time PCR results to the ratio of copies of a chicken-specific DNA sequence to copies of the myostatin gene common to animal DNA

Заключение

В результате проведенных работ были разработаны СО состава ДНК курицы в матрице ДНК крупного рогатого скота и СО состава ДНК свиньи в матрице ДНК крупного рогатого скота с аттестованной характеристикой – отношением числа копий видоспецифических последовательностей ДНК. Типы СО утверждены приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20.11.2024 № 2730 и внесены в Государственный реестр

утвержденных типов стандартных образцов под номерами ГСО 12743-2024 (комплект ДНК-*Gallus*-ВНИИМ) и ГСО 12744-2024 (комплект ДНК-*Sus*-ВНИИМ), срок свидетельства – до 20.11.2029. Прослеживаемость аттестованного значения СО к единице «отношение числа копий последовательности ДНК», воспроизводимой ГЭТ 220, обеспечена проведением прямых измерений на ГЭТ 220. Данные СО являются первыми в Российской Федерации СО, охарактеризованными по содержанию видоспецифических последовательностей ДНК животных. В перспективе предприятия пищевой промышленности заинтересованы в разработке новых подобных СО, позволяющих выявлять и оценивать содержание незаявленных примесей мяса животных в пищевой продукции.

Использование при создании СО геномных ДНК, выделенных из мяса животных и птицы, обеспечивает коммутативность материала СО с препаратами ДНК, выделяемыми в аналитических лабораториях из образцов продуктов питания или кормов с целью идентификации видового состава методами ПЦР в реальном времени. Применение разработанных СО в качестве калибраторов позволит:

- перейти от полуколичественных оценок к измерениям содержания видоспецифических последовательностей ДНК при анализе пищевой продукции и кормов;
- обеспечить метрологическую прослеживаемость;
- повысить точность результатов измерений, выполняемых в лабораториях пищевой промышленности и санитарного контроля.

Благодарности: Авторы выражают благодарность сотрудникам научно-исследовательского отдела государственных эталонов и стандартных образцов в области биоаналитических и медицинских измерений ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева», принимавшим участие в исследованиях.

Acknowledgments: The authors express their gratitude to the team members of the Research Department of State Standards and Reference Materials in the Field of Bioanalytical and Medical Measurements of the D. I. Mendeleyev Institute for Metrology (VNIIM) who took part in the research.

Вклад соавторов: Все авторы внесли свой вклад в концепцию и дизайн исследования. Вонский М. С. – концептуализация, методология, руководство исследованием, создание черновика рукописи, создание рукописи и ее редактирование; Рунов А. Л. – методология, проведение исследования, валидация, формальный анализ, создание черновика рукописи; Курчакова Е. В. – проведение исследования, валидация; Горняя С. Б. – проведение исследования, визуализация; Степанова А. П. – проведение исследования, визуализация; Хвостов Д. В. – предоставление материалов для исследования, создание черновика рукописи; Минаев М. Ю. – предоставление материалов для исследования, создание рукописи и ее редактирование.

Acknowledgments: All authors contributed to the concept and design of the study. Vonsky M. S. – conceptualization, methodology, supervision, writing-original draft, review end editing; Runov A. L. – methodology, investigation, validation, formal analysis, writing-original draft; Kurchakova E. V. – investigation, validation; Gornaya S. B. – investigation, visualization; Stepanova A. P. – investigation, visualization; Khvostov D. V. – resources, writing-original draft; Minaev M. Yu. – resources, writing-review end editing.

Финансирование: Работа выполнена в рамках ГК № 120-38/2023 от 17.05.2023 на выполнение опытно-конструкторской работы по теме «Разработка и выпуск новых комплексов стандартных образцов и мер для обеспечения единства измерений по приоритетным направлениям в целях технологического суверенитета Российской Федерации» (шифр ОКР «Суверенитет»).

Funding: The work was carried out within the Government Contract No. 120-38/2023 dated 17.05.2023 for the implementation of experimental design work on the topic «Development and production of new complexes of reference standards and measures to ensure the uniformity of measurements in the priority areas for the purposes of securing technological sovereignty of the Russian Federation» (code of the Development Work “SUVERENITET”).

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lysine supply is a critical factor in achieving sustainable global protein economy / I. Leinonen [et al.] // *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2019. Vol. 3, № 27. P. 1–11. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00027>
2. Lynch H., Berardy A., Wharton C. Food production and dietary patterns // *Environmental Nutrition*. 2019. Ch. 6. P. 101–122. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811660-9.00006-0>
3. Kerschke-Risch P. K. The horsemeat scandal: the unknown victims of economically motivated crime // *Revista de Victimol*. 2017. Vol. 5. P. 63–84. <https://doi.org/10.12827/RVJV.5.03>
4. Overview of the halal food control system in Malaysia / A. N. Ahmad [et al.] // *Food Control*. 2018. Vol. 90. P. 352–363. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.035>
5. Nanotechnology and taggant technology in forensic science / P. V. Bhatt [et al.] // Rawtani D., Hussain Ch. M. eds. *Technology in Forensic Science*. Boschstr : WILEY-VCH GmbH, 2020. P. 279–301. <https://doi.org/10.1002/9783527827688.ch14>
6. Roux C., Weyermann C. From research integrity to research relevance to advance forensic science // *Forensic Sciences Research*. 2021. Vol. 6, № 4. P. 292–294. <https://doi.org/10.1080/20961790.2021.1977480>
7. Identification of pork adulteration in processed meat products using the developed mitochondrial DNA-Based Primers / J. Ha [et al.] // *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 2017. Vol. 37, № 3. P. 464–468. <https://www.researchgate.net/publication/318727877>
8. Authentication technologies using DNA-based approaches for meats and halal meats determination / A. F. El Sheikh [et al.] // *Food Biotechnology*. 2017. Vol. 31, № 4. P. 281–315. <https://doi.org/10.1080/08905436.2017.1369886>
9. Burns M., Nixon G. Validation of two real-time PCR approaches for the relative quantitation of pork and horse DNA in food samples // *Food and Nutrition Sciences*. 2022. Vol. 13, № 4. P. 387–403. <https://doi.org/10.4236/fns.2022.134029>
10. Köppel R., Ruf J., Rentsch J. Multiplex real-time PCR for the detection and quantification of DNA from beef, pork, horse and sheep // *European Food Research and Technology*. 2011. Vol. 232, № 1. P. 151–155.
11. Methods for the detection of beef and pork in foods using real-time polymerase chain reaction / I. Laube [et al.] // *International Journal of Food Science & Technology*. 2003. Vol. 38. P. 111–118. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00651.x>
12. Digital duplex versus real-time PCR for the determination of meat proportions from sausages containing pork and beef / R. Köppel [et al.] // *European Food Research and Technology*. 2019. Vol. 245. P. 151–157. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3147-8>
13. Определение лимитирующих факторов ПЦР метода видовой идентификации состава продукции / Т. А. Фомина [и др.] // *Все о мясе*. 2019. № 6. С. 48–51. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2019-6-48-51>
14. Guidance documents. CRMs and conversion factors // European Union Reference Laboratory for Genetically Modified Food and Feed (EURL GMFF). URL: gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/guidance-documents#inline-nav-3 (Accessed 27.05.2025).
15. Балановский О. П., Кагазежева Ж. А., Олькова М. В. Методы измерения концентрации ДНК: совпадение относительных величин и различия абсолютных // *Вестник РГМУ*. 2019. № 3. С. 27–33. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2019.043>
16. Metrological framework to support accurate, reliable, and reproducible nucleic acid measurements / M. Milavec [et al.] // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2022. № 414. P. 791–806. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03712-x>
17. Modified CTAB method for DNA extraction from soybean and meat products / P. Stefanova [et al.] // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2013. Vol. 27, № 3. P. 3803–3810. <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2013.0026>
18. Viljoen C. D., Booysen C., Tantuan S. S. The suitability of using spectrophotometry to determine the concentration and purity of DNA extracted from processed food matrices // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2022. Vol. 112. P. 104689. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104689>
19. Droplet digital PCR of viral DNA/RNA, current progress, challenges, and future perspectives / A. A. Kojabad [et al.] // *Journal of Medical Virology*. 2021. Vol. 93, № 7. P. 4182–4197. <https://doi.org/10.1002/jmv.26846>. Erratum in: *Journal of Medical Virology*. 2024. Vol. 96, № 5. P. e29632.
20. DNA copy number concentration measured by digital and droplet digital quantitative PCR using certified reference materials / P. Corbisier [et al.] // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015. Vol. 407, № 7. P. 1831–1840. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8458-z>

REFERENCES

1. Leinonen I., Iannetta P. P. M., Rees B., Russell W., Watson Ch., Barnes A. P. Lysine supply is a critical factor in achieving sustainable global protein economy. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2019;3(27):1–11. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00027>

2. Lynch H., Berardy A., Wharton C. Food production and dietary patterns. *Environmental Nutrition*. 2019;6:101–122. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811660-9.00006-0>
3. Kerschke-Risch P. K. The horsemeat scandal: the unknown victims of economically motivated crime. *Revista de Victimol*. 2017;5:63–84. <https://doi.org/10.12827/RVJV.5.03>
4. Ahmad A. N., Abidin U. F. U. Z., Othman M., Rahman R. A. Overview of the halal food control system in Malaysia. *Food Control*. 2018;90:352–363. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.035>
5. Bhatt P. V., Pandey G., Tharmavaram M., Rawtani D., Hussain Ch. M. Nanotechnology and taggant technology in forensic science. In: *Technology in Forensic Science*. Boschstr: WILEY-VCH GmbH; 2020:279–301. <https://doi.org/10.1002/9783527827688.ch14>
6. Roux C., Weyermann C. From research integrity to research relevance to advance forensic science // *Forensic Sciences Research*. 2021;6(4):292–294. <https://doi.org/10.1080/20961790.2021.1977480>
7. Ha J., Kim S., Lee J., Lee S., Lee H., Choi Y. et al. Identification of pork adulteration in processed meat products using the developed mitochondrial DNA-Based primers. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 2017;37(3):464–468. <https://www.researchgate.net/publication/318727877>
8. El Sheikha A. F., Mokhtar N. F. K., Amie C., Lamasudin D. U., Isa N. M., Mustafa S. Authentication technologies using DNA-based approaches for meats and halal meats determination. *Food Biotechnology*. 2017;31(4):281–315. <https://doi.org/10.1080/08905436.2017.1369886>
9. Burns M., Nixon G. Validation of two real-time PCR approaches for the relative quantitation of pork and horse DNA in food samples. *Food and Nutrition Sciences*. 2022;13(4):387–403. <https://doi.org/10.4236/fns.2022.134029>
10. Köppel R., Ruf J., Rentsch J. Multiplex real-time PCR for the detection and quantification of DNA from beef, pork, horse and sheep. *European Food Research and Technology*. 2011;232(1):151–155.
11. Laube I., Spiegelberg A., Butschke A., Zagon J., Schauzu M., Kroh L. et al. Methods for the detection of beef and pork in foods using real-time polymerase chain reaction. *International Journal of Food Science & Technology*. 2003;38:111–118. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00651.x>
12. Köppel R., Ganeshan A., van Velsen F., Weber S., Schmid J., Graf Christoph et al. Digital duplex versus real-time PCR for the determination of meat proportions from sausages containing pork and beef. *European Food Research and Technology*. 2019;245:151–157. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3147-8>
13. Fomina T. A., Minaev M. Yu., Oyun N. Yu., Zakharova M. V. Determination of factors limiting of PCR-based species identification in food composition investigation. *Vse o myase*. 2019;6:48–51. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2019-6-48-51>
14. European Commission Joint Research Centre EU Reference Laboratory for Genetically Modified Food & Feed. GMOMETHODS. Available from: www.gmo-crl.jrc.ec.europa.eu [Accessed 27 May 2025].
15. Balanovsky O. P., Kagazheva Zh. A., Olkova M. V. Methods for DNA quantification yield similar relative but different absolute values. *Bulletin of RSMU*. 2019;3:27–33. (In Russ.). <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2019.043>
16. Milavec M., Cleveland M. H., Bae Y.-K., Wielgosz R. I., Vonsky M., Huggett J. F. Metrological framework to support accurate, reliable, and reproducible nucleic acid measurements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2022;414:791–806. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03712-x>
17. Stefanova P., Taseva M., Georgieva T., Gotcheva V., Angelov A. A Modified CTAB method for DNA extraction from soybean and meat products. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2013;27(3):3803–3810. <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2013.0026>
18. Viljoen C. D., Booysen C., Tantuan S. S. The suitability of using spectrophotometry to determine the concentration and purity of DNA extracted from processed food matrices. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2022;112:104689. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104689>
19. Kojabad A. A., Farzanehpour M., Galeb H. E. G., Dorostkar R., Jafarpour A., Bolandian M. et al. Droplet digital PCR of viral DNA/RNA, current progress, challenges, and future perspectives. *Journal of Medical Virology*. 2021;93(7):4182–4197. <https://doi.org/10.1002/jmv.26846>. Erratum in: *Journal of Medical Virology*. 2024;96(5): e29632.
20. Corbisier P., Pinheiro L., Mazoua S., Kortekaas A. M., Chung P. Y., Gerganova T. et al. DNA copy number concentration measured by digital and droplet digital quantitative PCR using certified reference materials. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015;407(7):1831–1840. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8458-z>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Вонский Максим Сергеевич – канд. биол. наук, руководитель научно-исследовательского отдела государственных эталонов и стандартных образцов в области биоаналитических и медицинских измерений, ученый-хранитель ГЭТ 220 ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

190005, г. Санкт-Петербург, пр. Московский, 19

e-mail: m.s.vonsky@vniim.ru

<https://orcid.org/0000-0003-4061-7411>

Рунов Андрей Леонидович – и. о. руководителя сектора государственных эталонов в области биоаналитических измерений, помощник ученого-хранителя ГЭТ 220 ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

190005, г. Санкт-Петербург, пр. Московский, 19

e-mail: a.l.runov@vniim.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9496-4414>

Курчакова Елена Владимировна – инженер сектора государственных эталонов в области биоаналитических измерений ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

190005, г. Санкт-Петербург, пр. Московский, 19

e-mail: e.v.kurchakova@vniim.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3084-463X>

Горняя София Борисовна – инженер сектора государственных эталонов в области биоаналитических измерений ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

190005, г. Санкт-Петербург, пр. Московский, 19

e-mail: s.b.gornaya@vniim.ru

<https://orcid.org/0009-0001-0688-1238>

Степанова Анастасия Павловна – техник сектора государственных эталонов в области биоаналитических измерений ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

190005, г. Санкт-Петербург, пр. Московский, 19

e-mail: a.p.stepanova@vniim.ru

<https://orcid.org/0009-0004-9663-0468>

Хвостов Даниил Владиславович – канд. техн. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биоинформатики ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН

109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26

e-mail: d.hvostov@fnpcs.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3445-4559>

Минаев Михаил Юрьевич – канд. техн. наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии и биоинформатики ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН

109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26

e-mail: mminaev@inbox.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0038-9744>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Maxim S. Vonsky – Cand. Sci. (Biology), Head of the Research Department of State Standards and Reference Materials in the Field of Bioanalytical and Medical Measurements, Scientist Keeper of State Primary Standard 220, D. I. Mendeleyev Institute for Metrology

19 Moskovsky ave., St. Petersburg, 190005, Russia

e-mail: m.s.vonsky@vniim.ru

<https://orcid.org/0000-0003-4061-7411>

Andrei L. Runov – Acting Head of the Sector of State Standards in the Field of Bioanalytical Measurements, Assistant of the Scientist Keeper of State Primary Standard 220, D. I. Mendeleyev Institute for Metrology

19 Moskovsky ave., St. Petersburg, 190005, Russia

e-mail: a.l.runov@vniim.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9496-4414>

Elena V. Kurchakova – Engineer of the Sector of State Standards in the Field of Bioanalytical Measurements, D. I. Mendeleyev Institute for Metrology

19 Moskovsky ave., St. Petersburg, 190005, Russia

e-mail: e.v.kurchakova@vniim.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3084-463X>

Sofiia B. Gorniaia – Engineer of the Sector of State Standards in the Field of Bioanalytical Measurements, D. I. Mendeleyev Institute for Metrology

19 Moskovsky ave., St. Petersburg, 190005, Russia

e-mail: s.b.gornaya@vniim.ru

<https://orcid.org/0009-0001-0688-1238>

Anastasiia P. Stepanova – Technician of the Sector of State Standards in the Field of Bioanalytical Measurements, D. I. Mendeleyev Institute for Metrology

19 Moskovsky ave., St. Petersburg, 190005, Russia

e-mail: a.p.stepanova@vniim.ru

<https://orcid.org/0009-0004-9663-0468>

Daniil V. Khvostov – Cand. Sci. (Eng.), Researcher at the Laboratory of Molecular Biology and Bioinformatics, V. M. Gorbatov Federal Scientific Center of Food Systems, Russian Academy of Sciences

26 Talalikhina st., Moscow, 109316, Russia

e-mail: d.hvostov@fnpcs.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3445-4559>

Michail Yu. Minaev – Cand. Sci. (Eng.), Head of the Laboratory of Molecular Biology and Bioinformatics, V. M. Gorbatov Federal Scientific Center of Food Systems, Russian Academy of Sciences

26 Talalikhina st., Moscow, 109316, Russia

e-mail: mminaev@inbox.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0038-9744>