



ARGENTA

# Kontrola autentyczności żywności metodą sekwencjonowania nowej generacji (NGS)

Bogusław Wiera



# Zafałszowania żywności



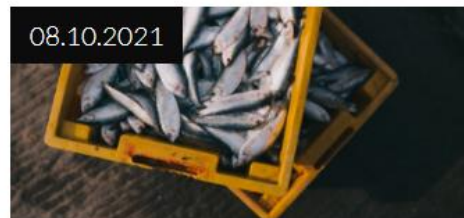
Skuteczne i tanie podejście do wykrywania fałszowania pochodzenia - częstego oszustwa w



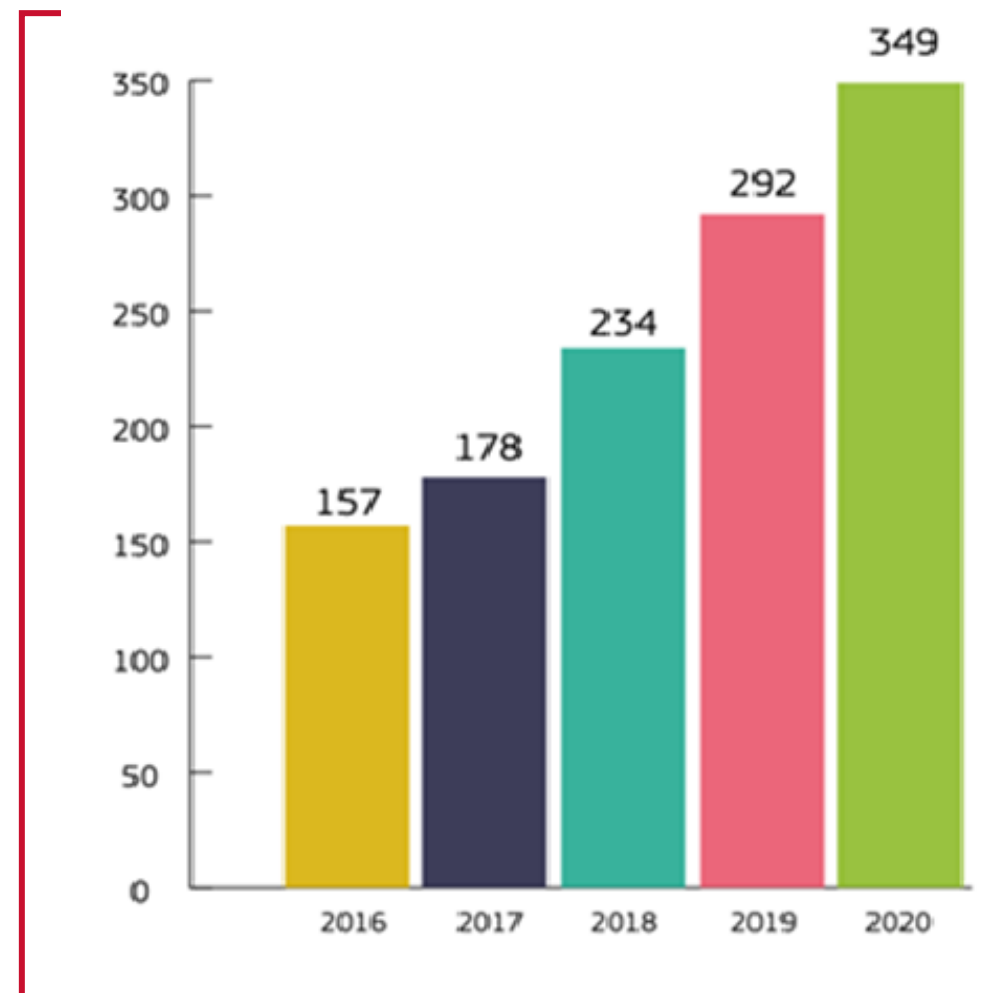
Nestlé Deutschland ostrzega przed podrobioną kawą Nescafé Gold



7500 kg przeterminowanych składników cukierniczych ze sfałszowanymi



Naukowcy ujawniają zafałszowania ryb na rynku europejskim



# Zafałszowania żywności

- O wiele lepiej niż handlować narkotykami czy prowadzić inną działalność przestępczą jest obecnie nielegalnie produkować i dystrybuować żywność. Są za to niewielkie kary i nikt tego specjalnie nie ściga - Andrzej Gantner, dyrektor generalny Polskiej Federacji Producentów Żywności.



ARGENTA



# Najczęściej fałszowane produkty

- Przyprawy
- Zioła
- Miód
- Mięso
- Oliwa z oliwek
- Sery
- Wino
- Kawa
- Szafran
- Syrop klonowy
- Ekstrakt waniliowy
- Herbata
- Ryby
- Mleko
- Soki



ARGENTA



# Zafałszowania żywności

Jest to celowa ingerencja w skład produktów, wygląd lub procedurę ich wytwarzania, np.

- zastąpienie składnika tańszym zamiennikiem
- dodaniu wody (rozcieńczeniu)
- brak deklaracji o sposobie produkcji
- nieprawidłowa deklaracja składu ilościowego
- nieprawdziwa deklaracja pochodzenia produktu



ARGENTA



# Zafałszowania żywności

- Wykrywanie zafałszowań jest ważne ze względu na zdrowie konsumentów. Takie praktyki mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia i życia.
- Oczekujemy również, że płacąc otrzymujemy produkt warty swojej ceny.
- Dodatkowo szkodzą uczciwym firmom, które przegrywają na rynku produkując zgodnie z wymogami i recepturami.



ARGENTA



## Sposoby badania zafałszowań

Popularna metoda PCR zazwyczaj wykorzystywana jest do wykrycia jednego lub niewielkiej liczby składników żywności.

Wymaga to wiedzy o tym, którego organizmu mamy szukać.

Wyniki uzyskane przez bezpośrednie wykrywanie PCR dają wyniki obecności lub nieobecności docelowych gatunków.

Nie uzyskuje się żadnych dodatkowych informacji, takich jak obecność innych gatunków w próbce.



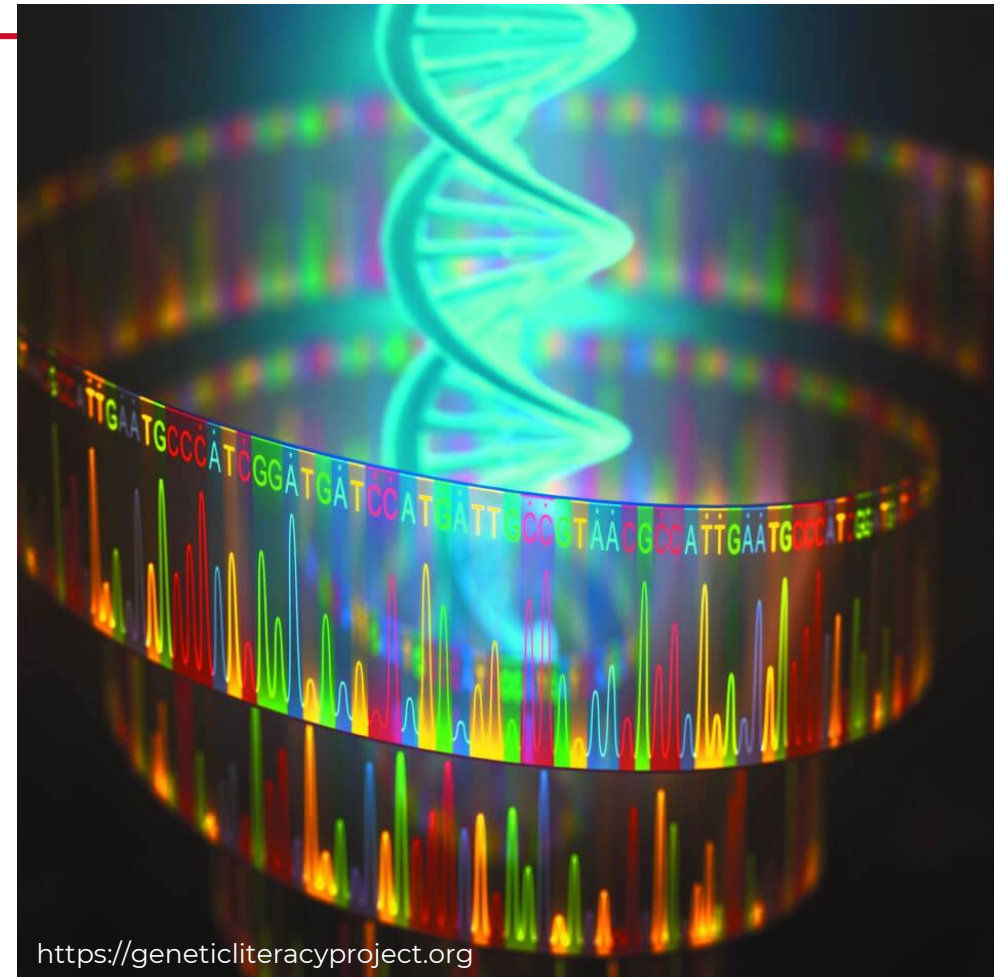
ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing

Sekwencjonowanie jest to technika odczytywania sekwencji, czyli układu kolejnych nukleotydów w cząsteczce DNA.

Najnowszą metodą odczytywania sekwencji jest **Sekwencjonowanie Nowej Generacji** (NGS, ang. Next Generation Sequencing) - zminiaturyzowana technologia, która pozwala na znaczne obniżenie kosztów oraz zwiększenie przepustowości.



ARGENTA





# NGS – Next Generation Sequencing

Techniki sekwencjonowania pierwszej generacji:

- metoda Sangera, na której bazują techniki NGS
- metoda Maxama i Gilberta.

Późniejsze ich modyfikacje doprowadziły do pełnej automatyzacji procesu i przyczyniły się do jego udoskonalenia.

Obecnie metody NGS są narzędziem wykorzystywanym w wielu dziedzinach nauki, m.in. w genetyce, biotechnologii, biologii molekularnej, nowoczesnej hodowli roślin, badaniu zafałszowań żywności.



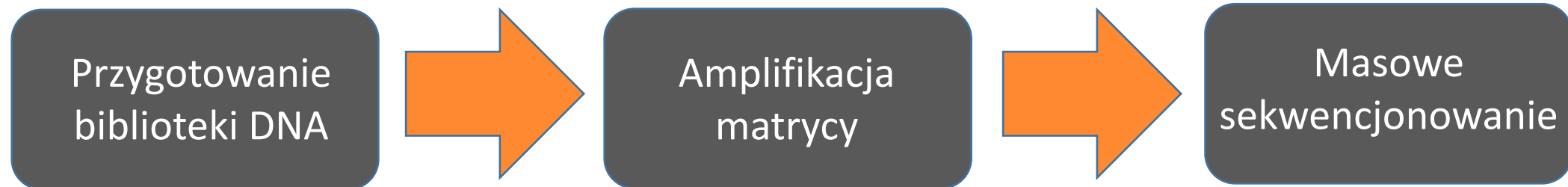
ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing

Przebieg sekwencjonowania nowej generacji podzielić można na trzy główne etapy:

- izolacja i stworzenie biblioteki DNA
- amplifikacja matrycy
- masowe równoległe sekwencjonowanie



ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing



**Biblioteka DNA** – kolekcja zsekwencjonowanych fragmentów (odczytów) DNA.

Powstaje przez fragmentację badanego DNA.



ARGENTA

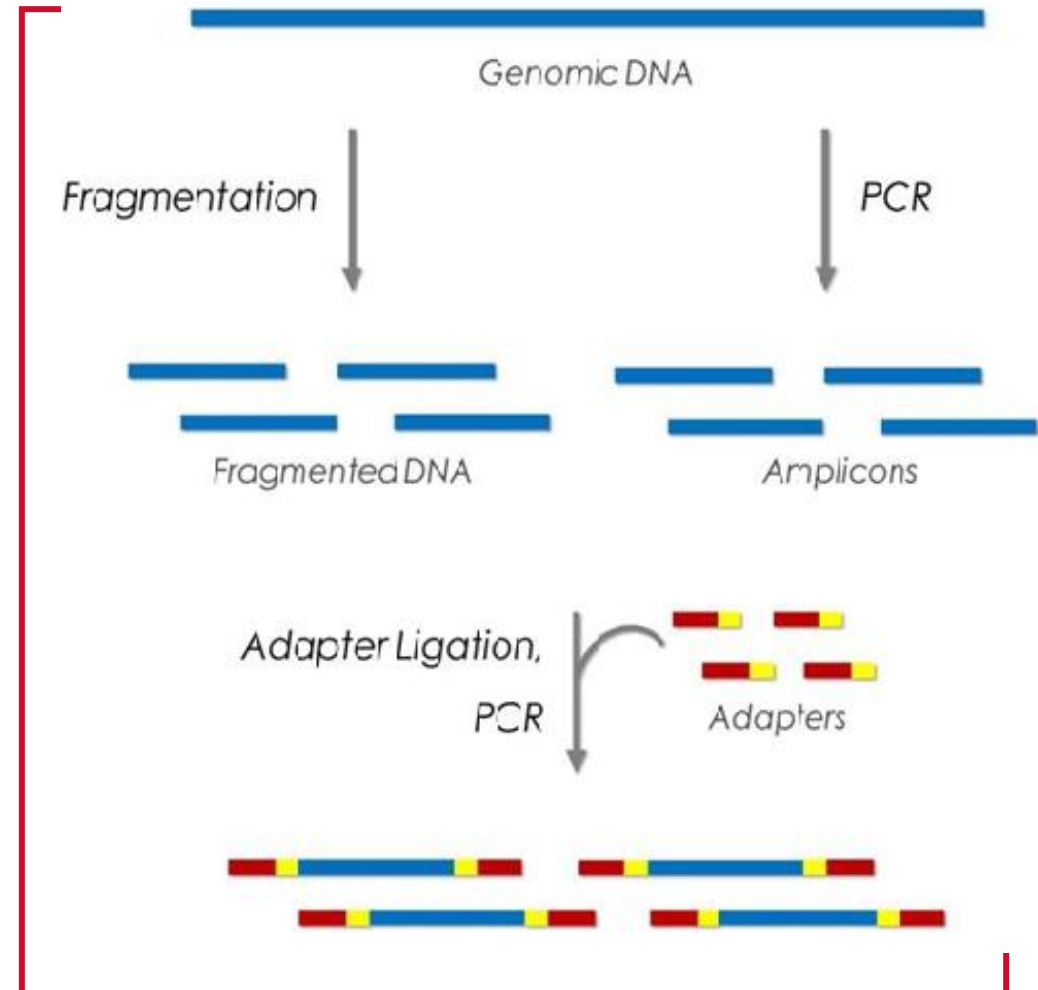


# NGS – Next Generation Sequencing

Do otrzymanych fragmentów przyłączane są **adaptery**, które stanowią odcinki DNA o znanej sekwencji nukleotydów.

Fragmety DNA poddaje się procesowi denaturacji w celu pozyskania pojedynczych nici DNA, które w drugim etapie posłużą jako biblioteki DNA do reakcji PCR.

Uzyskane jednoniciowe fragmenty DNA są unieruchamiane poprzez hybrydyzację do podłoża stałego.



ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing



**Amplifikacja** matrycy - jednoczesne powielenie wszystkich fragmentów DNA, co umożliwia uzyskanie miliona kopii każdej analizowanej sekwencji.

Odbywa się to w termocyklerze.



ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing



**Sekwencjonowanie** nowej generacji (NGS) wykorzystuje masowo równoległe sekwencjonowanie, co umożliwia wygenerowanie tysięcy megabajtów informacji o sekwencji na dzień.

Techniki nowej generacji opierają się na zasadzie „sekwencjonowania przez syntezę”, w której nukleotydy włączone do nici DNA zapewniają unikalny sygnał.



ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing

Obecnie na rynku istnieje kilka komercyjnie dostępnych platform do sekwencjonowania, ale cechami wspólnymi każdej z nich są izolacja DNA i tworzenie biblioteki jednonucleotydowych DNA.

W większości technologii NGS unikalny sygnał jest cząsteczką fluorescencyjną. Jedynie w technologii sekwencjonowania **Ion Torrent™** sygnał ma postać **zmiany pH**, eliminując potrzebę wykrywania światła.

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC



ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing



**System NGS Thermo Scientific™** wykorzystuje technologię sekwencjonowania **Ion Torrent™ Next Generation** i umożliwia nieukierunkowane podejście przesiewowe, pozwalające na identyfikację różnych gatunków mięsa i roślin zawartych w próbce przez porównaniu z obszerną bazą danych DNA.



ARGENTA





# NGS – Next Generation Sequencing

Gotowe do użycia zestawy (do DNA zwierzęcego, ryb, roślin) analizatorów DNA żywności wszystkich gatunków pozwalają na amplifikację DNA metodą PCR poprzez przygotowanie próbki do sekwencjonowania i zautomatyzowaną analizę danych za pomocą oprogramowania SGS All Species ID.

**Wynik analizy w ciągu jednej doby!**



ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing



**Ion Chef™**  
Automatyczne przygotowanie  
mikroplątki

**Przeniesienie**  
**pipetą** biblioteki do  
Ion Chef System

**Załadowanie**  
**kasetki** do Ion  
Chef System



**Ion GeneStudio™ S5**  
Sekwencjonowanie

**Przeniesienie kasetki**  
do Ion GeneStudio S5  
System



**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC



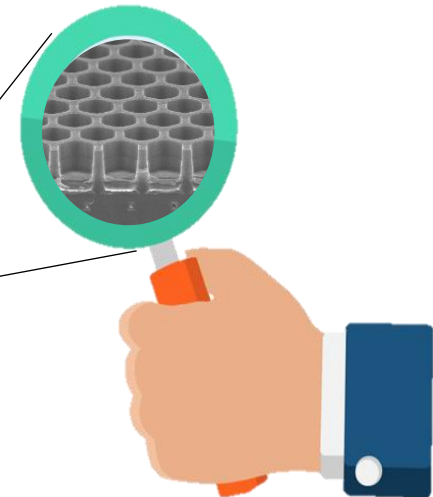
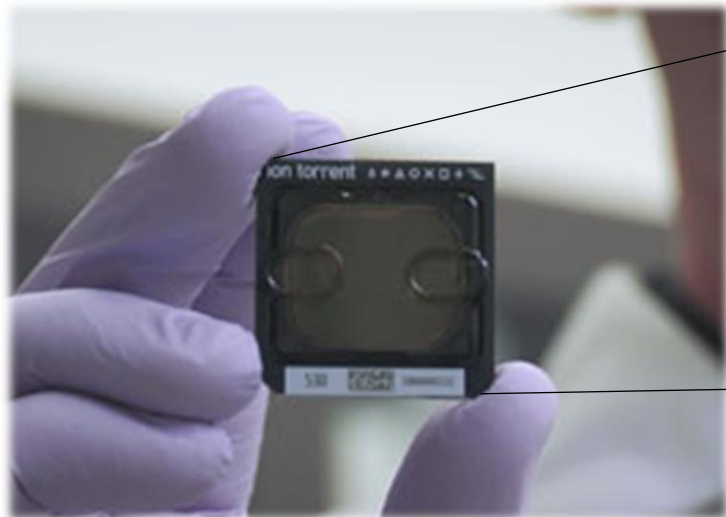
ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing

Kasetki z mikroprocesorem (Ion Chips) zawierają ponad milion mikroskopijnych studzienek reakcyjnych sprzężonych z opatentowanym sensorem.

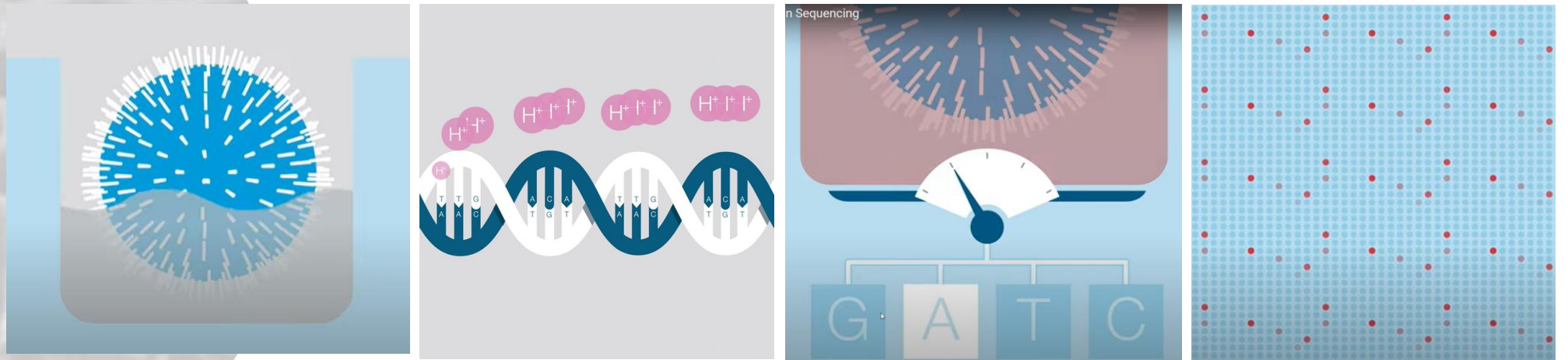
DNA połączone z charakterystycznym adapterem (barcoded DNA) jest kopiowane na kulki, amplifikowane, a następnie ładowane do studzienek Ion Chip (jedna kulka do studzienki).



ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing



Dobudowanie nukleotydu (przedłużenie nici DNA) powoduje uwolnienie kationu wodoru do mieszaniny reakcyjnej, które mierzy się w każdej studzińce i przekłada na sekwencję DNA.

<https://www.youtube.com/watch?v=zBPKj0mMcDg>



ARGENTA



# NGS – Next Generation Sequencing

Pliki są przesyłane do SGS All Species ID Program.

Wyniki pojawiają się jako lista gatunków obecnych w próbce.

Jeśli gatunek jest obecny, ale nie został zidentyfikowany, zostanie odnotowany „nieznany” wynik.

Technika nie wymaga dodatkowej interpretacji wyników.

The screenshot displays the NGS software interface. The main window, titled 'Extractor', features a central 'FOOD DNA ANALYSER' logo surrounded by various icons representing different food categories. Overlaid on this is a Microsoft Excel spreadsheet showing the results of the analysis. The spreadsheet has the following data:

Experiment code (fastq)	Target	Barcode	Result- species list	Number of reads/species
1				
2	fastaq file name	Meat	Bos taurus	60000
3			Sus scrofa	30000
4			Gallus gallus	9995
5			Ovis aries	5
6	fastaq file name	Fish	Gadus morhua	25000
7			Gadus macrocephalus	6500
8			Thunnus obesus	7500
9			Katsuwonus pelamis	3000
10			Salmo salar	1000
11	fastaq file name	Plant	Oryza sativa	15000
12			Glycine max	2000
13			Secale cereale	500
14			Sesamum indicum	500
15				

Below the spreadsheet, a 'Process' dialog box is visible, showing a progress bar at 100% completion. The dialog box includes a 'Process' button and a 'Cancel' button. The background of the dialog box shows a smaller version of the 'FOOD DNA ANALYSER' logo.



ARGENTA



# Podsumowanie

Szacuje się, że fałszerstwa żywności kosztują branżę spożywczą

**ok. 30 miliardów dolarów rocznie**

i dotyczą ok. 10% sprzedawanych produktów.

Wielkość rynku badań zafałszowania żywności – **180 milionów dolarów.**

Region	2011	2013	2018
Ameryka Pn.	18	35	50
Europa	21	38	55
Azja i Oceania	18	30	59
Pozostałe	3	9	16
<b>Razem [mln \$]</b>	<b>60</b>	<b>112</b>	<b>180</b>



ARGENTA



# Podsumowanie

- Wiarygodne badania żywności chronią markę i reputację oraz zwiększają zaufanie konsumentów.
- Produkty pewne wpływają na wzrost handlu międzynarodowego.
- Szybkie i wystandaryzowane badania NGS umożliwiają kontrolę łańcucha dostaw, zwiększenie liczby badań oraz utrudniają fałszowanie żywności i etykiet.
- Metody zautomatyzowane pozwalają na zwiększenie wydajności laboratorium.



ARGENTA



# Nowości 2021



Oferta testów  
do diagnostyki PCR

INNOWACYJNE ROZWIĄZANIA MOLEKULARNE



Wyposażenie laboratorium  
do diagnostyki PCR  
w przemyśle

INNOWACYJNE ROZWIĄZANIA MOLEKULARNE



Plastikowe materiały  
zużywalne do  
laboratorium PCR

INNOWACYJNE ROZWIĄZANIA MOLEKULARNE



Wyposażenie  
laboratorium do  
oznaczania alergenów  
i mykotoksyn



Testy do wykrywania alergenów  
w żywności i próbkach  
środowiskowych

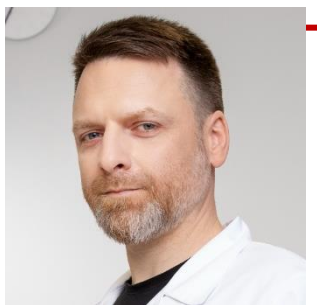


ARGENTA





# Dziękuję za uwagę



**Bogusław Wiera**

**e: [b.wiera@argenta.com.pl](mailto:b.wiera@argenta.com.pl)**