



СПИСАНИЕ НА ТРУДОВИ НА ДНУ BULLETIN OF PAPERS ASA

ТОМ 30-31 ГОДИШТЕ
2014-2015
ПРИЛЕП
PRILEP

СП. ТР. ДНУ – ПРИЛЕП 30/31
BUL.PAP.ASA – PRILEP 30/31

Стр 1-134, Прилеп, 2014-2015
Page 1 - 134, Prilep, 2014-2015

ДРУШТВО ЗА НАУКА И УМЕТНОСТ - ПРИЛЕП
ASSOCIATION OF SCIENCE AND ART - PRILEP

ДРУШТВО ЗА НАУКА И УМЕТНОСТ - ПРИЛЕП
ASSOCIATION OF SCIENCE AND ART - PRILEP

PRILEP

Година 1997. - Број 1. - Прилеп

Издание и отговорен редактор
Editor in chief

Д-р. Александар Петровски

Редакционен одбор
Editorial board

Д-р. Д. Д. Димитров

СПИСАНИЕ НА ТРУДОВИ НА ДНУ
BULLETIN OF PAPERS ASA

Превод на рецензијата на англиски јазик
Translated in to English

Година 1997. - Број 1. - Прилеп

Издание и отговорен редактор
Editor in chief

Д-р. Д. Д. Димитров

Создание на трудом на ДНУ-Прилеп бр. 1-1997

Превод на англиски јазик

Година 1997. - Број 1. - Прилеп

Издание и отговорен редактор
Editor in chief

Д-р. Д. Д. Димитров

МОЛЕКУЛАРНО – БИОЛОШКИ МЕТОДИ ЗА АНАЛИЗА НА ХРАНАТА

Мила Арапческа¹; Јованка Тутеска²

¹Универзитет “Св. Климент Охридски” – Битола, Факултет за Биотехнички
Науки – Битола

²Универзитет “Св. Климент Охридски” – Битола, Висока Медицинска Школа –
Битола

E-mail: arapceska@yahoo.com; jtuteska@autlook.com

АБСТРАКТ

Последните години, новите трендови во земјоделското производство условуваат зголемен интерес како кај производителите на храна, така и кај потрошувачите за: утврдување на автентичноста на прехранбените производи, нивното потекло, анализа на нутритивните особини како и анализа на влијанието на составните компоненти на храната врз човековото здравје.

Молекуларните методи, пред сè техниките базирани на анализа на ДНК се брзи и сензитивни методи кои овозможуваат утврдување на автентичноста на прехранбените производи. Постојат различни методи базирани на анализа на ДНК, кои меѓусебе се разликуваат по нивната сложеност.

Клучни зборови: *анализа на храната; молекуларно-биолошки методи; ДНК баркодирање*

MOLECULAR METHODS FOR FOOD ANALYSIS

Mila Arapcheska¹, Jovanka Tuteska²

ABSTRACT

In recent years, new trends in agricultural practices have led to increased interest in both food producers and consumers in determination of the authenticity of foodstuffs, their origin, analysis of nutritional properties and analysis of the impact of food constituents on human health.

DNA-based techniques and molecular methods allow the fast and sensitive detection of the authenticity of food. A variety of DNA-based methods are potentially available for use in food authentication, and they vary in their complexity.

Key words: *food analysis; molecular methods; DNA barcoding*

ВОБЕД

Последните години, новите трендови во земјоделското производство условуваат зголемен интерес како кај производителите на храна, така и кај потрошувачите за утврдување на автентичноста на прехранбените производи, нивното потекло, анализа на нутритивните особини како и анализа на влијанието на составните компоненти на храната врз човековото здравје. Од тие причини, идентификацијата на потеклото на состојките присутни во храната и нивната карактеризација се од особено значење (Scarano и Rao, 2014).

Адултерацијата на храната (фалсификување на храната) е глобален проблем со кој се соочува целиот свет. Се дефинира како замена или додавање на субстанции во текот на производството на одреден прехранбен производ со цел намалување на трошоците на производство. Постојат неколку типови на фалсификување на храната и тоа:

- целосна или делумна замена на автентичните прехранбени состојки во одреден прехранбен производ со состојки со пониска цена на чинсење;
- додавање на помали количини на не автентични состојки во одреден прехранбен производ;
- отстранување на автентичните состојки од содржината на прехранбениот производ.

Всушност, адултерацијата се однесува на изоставување на нутритивно вредни состојки во прехранбените производи, нивна целосна или делумна замена со други состојки кои што го намалуваат квалитетот на производот. Најчесто адултерацијата на прехранбените производи е економски мотивирана, а адултераните кои при тоа се користат се поевтини од природните составни компоненти на производите кои што ги заменуваат. При тоа често изостанува означувањето на адултераните во декларацијата на производот. Ваквото нецелосно и погрешно означување на храната може да претставува и сериозен здравствен ризик за оние популации на луѓе кои се интолернтни или алергични на одредена храна или некоја нејзина состав на компонента.

Молекуларно-биолошки методи за анализа на храна

Постојат различни методи за утврдување на автентичноста на прехранбените производи. Дел од нив се се базираат на идентификација и карактеризација на протеинските компоненти на храната; други на идентификација и карактеризација на метаболитички производи, а трети на анализа на ДНК. Методите за идентификација и карактеризација на протеинските компоненти во храната се базираат на имунолошки, електрофоретски и хроматографски анализи, додека пак идентификацијата и карактеризацијата на метаболитите присутни во храната се базира на примена на HPLC, NMR and MS (Asensioi cor., 2008; Scarano и Rao, 2014).

Меѓутоа, анализите на протеините и метаболитите, често се неконзистентни поради нестабилноста на овие молекули во текот на технолошките процеси на добивање на прехранбените производи. За разлика од овие методи, методите базирани на анализа на ДНК поради стабилноста на молекулот во текот на технолошките постапки се поверодостојни. ДНК маркерите претставуваат моќни аналитички алатки кои се користат за утврдување на автентичноста на прехранбените производи како и при следливост на суровините кои се користат за добивање на преработки (Martinez и cor., 2003; Woolfen Primrose, 2004).

Генерално ДНК методите се засноваат на користење на специфични ДНК секвенци – маркери, кои врз основа на методите може да се поделат на маркери наменети за хибридизација и маркери за PCR. Методите на хибридизација се базираат на поврзување на ДНК фрагменти добиени со дигестија со рестрикциони ензими со обележани проби (ДНК фрагменти со познато потекло и секвенца). PCR методите опфаќаат амплификација на одредена тагет секвенца со примена на специфични прајмери. Добиените PCR продукти се раздвојуваат електрофоретски, а профили се идентификуваат со специфични техники на боење. PCR методите ги карактеризира специфичност, сензитивност, повторливост. Со овие методи може а се идентификува потеклото (растително или животинско) на дури и сложени прехранбени производи како и некои преработки. Овие методи овозможуваат идентификација на растителните и животинските видови кои се користат како суровини за добивање на производите. Во зависност од генетскиот маркер и целта на анализата, дополнителни анализи може да ја комплетираат анализата на PCR продуктите, како секвенционирање, полиморфизам во должината на рестрикционите фрагменти – RFLP анализа. Најголем дел од PCR методите се базираат на примери свецифични за одреден вид (species- специфични) (Galimbertin *сop.*, 2013; Downey, 2016).

Во последните години методите базирани на ДНК анализа бележат брз развој и претставуваат алтернатива за надминување на ограничувањата на методите базирани на анализа на протеини. За разлика од протеинските методи, предностите на ДНК методите произлегуваат од убиквитарноста на нуклеинската киселина кај живите организми и поголемата стабилност на ДНК во споредба со протеините.

ДНК баркодирање

ДНК баркодирање е молекуларно-биолошки метод кој се потпира на варијации на секвенците во краток и стандардизиран регион на геномот, означен како „баркод“. Оваа метода овозможува точна идентификација на видовите (растителни или животински) кои се користат како суровини за добивање на прехранбените производи (Downey, 2016).

ДНК баркодирање е метод кој се заснова на примена на генетски маркери со кои се утврдува таксономската припадност. Претставува есенцијална алатка со која се потврдува квалитетот на прехранбените производи, се минимизира ризикот од адултерација, се гарантира следливоста во текот на производството, се валоризираат автентичните локални прехранбени производи, се штити јавното здравје (Barcaccia *сop.*, 2016).

Техниката на ДНК баркодирање се базира на амплификација на кратки ДНК фрагменти кои припаѓаат на митохондријалниот геном (храна од животинско потекло) или хлоропласниот геном (храна од растително потекло). Овие секвенци се конзервирани на ниво на видови и се зачувани во повеќето преработени прехранбени производи.

Врз основа на таксономската припадност на суровините (растителни или животински) може да се утврди автентичноста на самиот производ.

Амплифицираните ДНК фрагменти потоа се секвенционираат и се споредуваат со ортологни референтни секвенци достапни во јавни бази на податоци како BOLD (www.boldsystem.org) и GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) (Barcaccia *сop.* 2016).

Митохондријалната ДНК (mtDNA) е избрана како извор на баркодинг маркери за животинските видови, бидејќи митохондријалните гени имаат голем број на копии, немаат интрони, имаат низок степен на рекомбинација, се наследуваат од мајката. Во однос на хлоропластните маркери, како маркери за растителни видови се користат различни комбинации на седум пластидни маркери од кодирачките и некодирачките

региони на хлоропластниот геном (Chase и соp., 2005; Chase и соp., 2007; Nicolèи соp., 2012).

Бројни литературни податоци укажуваат на примената на ДНК баркодските за утврдување на автентичност на прехранбени производи. Со оглед на тоа што во последните години развојот на молекуларните методи за анализа на храната овозможува т.н.р “форензичко испитување на храната” со кое може да се утврди автентичноста на производите со заштитена ознака за потекло (ЗОП/PDO-protected designation of origin) и заштитена географска ознака (ЗГО/PGI-protected geographical indication).

Друга значајна примена на техниката ДНК баркодинг е идентификација на алергени материи присутни во храната, како во свежа така и во преработена. Така на пример присуството на јаткасти плодови во храната (дури и во трагови) кои што се сметаат за главни извори на алергени, може да се утврди со примена на молекуларно-биолошки методи кои се базираат на примена на различни маркери вклучувајќи ги и ДНК баркодинг маркерите (Galimberti и соp., 2013).

Заклучок

Анализата на храна постојано има потреба од развој на робусни, ефикасни и сензитивни методи кои ќе овозможат анализа на квалитетот, безбедноста и автентичноста на прехранбените производи согласно законската легислатива и барањата на потрошувачите. Развојот на нови методи доведува до сигнификантно зголемување на аналитичката прецизност, лимитот на детекција, подобрување на подготовката на примероци, а со тоа значително се зголемува опсегот на методи за анализа на храната. Технолошките достигнувања постојано нудат нови стратегии за анализа на автентичноста на прехранбените производи.

Литература

- Asensio L.; González I.; García T.; Martín R. (2008): Determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Food Control*, 19, 1–8.
- Barcaccia G, Lucchin M., Cassandro M. (2016): DNA Barcoding as a Molecular Tool to Track Down Mislabeling and Food Piracy. *Diversity*, 8, 1 - 16; doi:10.3390/d8010002
- Scarano D., Rao R. (2014): DNA Markers for Food Products Authentication. *Diversity*, 6, 579-596; doi:10.3390/d6030579
- Chase M.W., Salamin N., Wilkinson M., Dunwell J.M., Kesanakurthi R.P., Haidar N., Savolainen V. (2005): Landplants and DNA barcodes: Short-term and long-term goals. *Trends Ecol. Evol.*, 18, 273–273.
- Chase M.W., Cowan R.S., Hollingsworth P.M., van den Berg C., Madrinan S. (2007): A proposal for a standardized protocol to barcode all land plants. *Taxon*, 56, 295–299.
- Castro-Puyana, M.; Herrero, M. (2013): Metabolomics approaches based on mass spectrometry for foodsafety, quality and traceability. *Trends Anal. Chem.*, 52, 74–87.
- Cavaliere B., De Nino A., Hayet F., Lazez A., Macchione B., Moncef C., Perri E., Sindona G., Tagarelli A. (2007): A metabolomic approach to the evaluation of the origin of extra virgin olive oil: A convenient statistical treatment of mass spectrometric analytical data. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 1454–1462.
- Downey G. (2016) *Advances in Food Authenticity Testing*. Woodhead Publishing

Galimberti A., Mattia D.M., Losa A., Bruni I., Federici S., Casiraghi M., Martellos S., Labra M. (2013): DNA barcoding as a new tool for food traceability. *Food Research International* 50, 55–63.

Ogrinc, N.K.I.J.; Košir, I.J.; Spangenberg, J.E.; Kidrič, J. (2003): The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil. A review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 376, 424–430.

Martinez, I.; Aursand, M.; Erikson, U.; Singstad, T.E.; Veliyulin, E.; van der Zwaag, C. (2003): Destructive and non destructive analytical techniques for authentication and composition analyses of foodstuffs. *Trends Food Sci. Technol.*, 14, 489–498.

Nicolè S.; Negrisolo E.; Eccher G.; Mantovani R.; Patarnello T.; Erickson D.L.; Kress W.J.; Barcaccia G (2012): DNA barcoding as a reliable method for the authentication of commercial seafood products. *Food Technol. Biotechnol.*, 50, 387–389.

Woolfe, M.; Primrose, S. (2004): Food forensics: Using DNA technology to combat misdescription and fraud. *Trends Biotechnol.*, 22, 222–226.

ABSTRACT

The article will present the main results of the research project "Development of a methodology for the authentication of food products using DNA barcoding". The project was carried out in the framework of the National Science Foundation (NSF) grant "Development of a methodology for the authentication of food products using DNA barcoding". The project was carried out in the framework of the National Science Foundation (NSF) grant "Development of a methodology for the authentication of food products using DNA barcoding".

The methodology will be based on the use of a DNA barcoding system. The methodology will be based on the use of a DNA barcoding system. The methodology will be based on the use of a DNA barcoding system.