Лазарева Екатерина Германовна, м.н.с.,

Бигаева Алана Владиславовна, н.с.,

Ржанова Ирина Владимировна, н.с.

ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва

Харламова Лариса Николаевна, к.т.н.

ВНИИПБиВП – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова»
РАН, г. Москва

К ВОПРОСУ О ДНК-АУТЕНТИФИКАЦИИ ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ

Аннотация. Существует проблема определения подлинности и места происхождения винодельческой продукции. Перспективным решением этой проблемы может являться расширение области оценочных критериев методами ДНК-аутентификации вин. ДНК-аутентификация вин – технологический процесс проверки их подлинности геноидентификацией основного растительного ингредиента – винограда, посредством молекулярно-генетического анализа остаточных количеств нуклеиновых кислот, экстрагируемых из остаточных количеств клеточного дебриса, содержащегося в реализуемой готовой продукции. Данный метод идентификации может дополнить список традиционных методов анализа (документальный, визуальный, органолептический, физико-химический и др.).

Ключевые слова: ДНК-аутентификация, виноград, вино, нуклеиновые кислоты, подлинность.

Lazareva Ekaterina Germanovna, Junior Researcher,

Bigaeva Alana Vladislavovna, Researcher,

Rzhanova Irina Vladimirovna, Researcher

V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of
Sciences, Moscow, Russia

Kharlamova Larisa Nikolaevna, Candidate of Technical Science

All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Non-Alcoholic and Wine
Industry – branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

TO THE QUESTION OF WINE PRODUCTS DNA AUTHENTICATION

Annotation. There is a problem of determining authenticity and origin place of wine products. Promising solution to this problem may be scope expansion of evaluation criteria by wines DNA authentication methods. Wines DNA authentication is technological process of checking their authenticity by geno-identification of main plant ingredient - grapes, by means of molecular genetic analysis of nucleic acids

residual amounts, extracted from residual amounts of cellular debris, contained in sold finished product. This identification method can supplement the list of traditional analysis methods (documentary, visual, sensory, physicochemical, etc.).

Key words: DNA authentication, grapes, wine, nucleic acids, authenticity.

Известны различные подходы к экстракции нуклеиновых кислот винограда из вин, в базовый перечень которых можно отнести три авторских метода: Savazzini & Martinelli [1], Pereira [2] и Bigliazzi [3] в оригинальных и модифицированных постановках [4].

Объединяющим признаком представленных методов является преципитация растительного дебриса вина центрифугированием, используя осадители: хлорид натрия, 2-пропанол, ацетат натрия и др. по отдельности или в комбинации.

Анализ эффективности различных методов выделения ДНК винограда из вин указывает на превосходство метода Pereira над остальными традиционными способами экстракции в отношении выхода ДНК и ее качества [4,5].

Выделенная из вин ДНК имеет статус остаточной нуклеиновой кислоты, т.к. ее концентрация значительно сокращается при многоступенчатом производственном процессе вина, в т.ч. декантации, очистки, фильтрации и других способов обработки. Помимо этого, ДНК винограда деградирует ДНКазой микробиоты вина во время процесса ферментации.

ДНК-маркеры, широко используемые в генотипировании и паспортизации сельскохозяйственных растений в контексте маркер-ориентированной селекции [6-8], могут также найти применение в оценке подлинности и места происхождения пищевых систем.

Использование микросателлитных локусов ДНК высокой степени полиморфизма, предназначенных для геноидентификации сортов винограда, является одним из подходов и к ДНК-аутентификации вин [4].

Амплификацию SSR фрагментов осуществляют мультиплексной ПЦР, объединяя воедино несколько анализируемых локусов. Данная стратегия амплификации заложена при работе с ДНК, выделенной из составных частей растений винограда, но не эффективна при исследовании экстрагированной остаточной нуклеиновой кислоты из вин [4,5].

Несмотря на слабую дискриминационную способность данного типа SSR-маркеров, не способных к паспортизации широкого спектра сортов винограда, анализ по микросателлитным локусам хлоропластной ДНК остается альтернативным подходом к сортовой геноидентификации винограда, но не совсем подходящим выбором для ДНК-аутентификации вин из-за низкого уровня полиморфизма анализируемых локусов, пригодным разве что для дифференциации ограниченного ассортимента винодельческой продукции [4,5].

Наряду с SSR-маркерами, высоким идентификационным потенциалом обладают SNP-маркеры, пригодные и для ДНК-аутентификации вин, как благодаря дискриминации индивидуальных генотипов винограда в моносортных и купажных винах с потенциальной возможностью количественной оценки растительных ингредиентов, так и их

работоспособности при анализе фрагментированной нуклеиновой кислоты низкого качества [4,5,9].

Одной из разновидностей применения SNP-маркеров является использование знаний об однонуклеотидном полиморфизме в ряде генов винограда, интегрированных в метод анализа кривых плавления с высокой разрешающей способностью (HRM-анализ) на ПЦР-платформах в режиме реального времени [9].

При этом SNP-идентификация отдельно взятого локуса гена не всегда позволяет однозначно устанавливать происхождение исследуемого виноматериала. Для того, чтобы иметь возможность определять эффективность идентификационных методов, а также их комбинаций, авторами исследования [5] введено понятие идентификационного расстояния. Идентификационное расстояние (ИР) сорта винограда А от сорта винограда В – это количество полиморфных нуклеотидных позиций (SNP), которые позволяют выявить наличие примеси ДНК-материала сорта винограда В в виноматериале сорта А. Как видно из определения, ИР несимметрично за счет присутствия смешанных (mixed) нуклеотидов.

Таким, образом, актуально создание комплексной методики ДНК-аутентификации виноматериала, позволяющей робастной процедурой анализа в контексте идентификационного расстояния идентифицировать и дифференцировать различные сорта винограда как в моносортных, так и купажных коммерческих винах.

Выводы. Анализ научно-методических подходов к экстракции остаточных количеств нуклеиновых кислот винного сырья и, собственно, ДНК-аутентификации вин, указывает на актуальность данного направления и перспективность его интеграции в систему мониторинга контрафактной и фальсифицированной винодельческой продукции [10-14]. Показана [5] достижимость определения подлинности винодельческой продукции и места её происхождения ДНК-технологиями, применение которых предполагает возможность обеспечить прослеживаемость всего жизненного цикла продукта. Введено понятие идентификационного расстояния (ИР) сорта винограда А от сорта винограда В – это количество полиморфных нуклеотидных позиций (SNP), которые позволяют выявить наличие примеси ДНК-материала сорта винограда В в виноматериале сорта А.

Список литературы

1. Savazzini F., Martinelli L. Development of methods for enhanced extraction and real-time polymerase chain reaction quantification. *Anal. Chim. Acta*. 2006, vol. 536, no. 1-2, pp. 274-282. DOI: 10.1016/j.aca.2005.10.078.
2. Pereira L., Guedes-Pinto H., Martins-Lopes P. An enhanced method for *Vitis vinifera* L. DNA extraction from wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 2011, vol. 62, no. 4, pp. 547-552. DOI: 10.5344/ajev.2011.10022.
3. Bigliazzi J., Scali M., Paolucci E., Cresti M., Vignani R. DNA extracted with optimized protocols can be genotyped to reconstruct the varietal composition of monovarietal wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 2012, vol. 63, no. 4, pp. 568-573. DOI: 10.5344/ajev.2012.12014.

4. Catalano V., Moreno-Sanz P., Lorenzi S., Grando M.S. Experimental Review of DNA-Based Methods for Wine Traceability and Development of a Single-Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Assay for Quantitative Varietal Authentication. *J Agric Food Chem.* 2016, vol. 64, no. 37, pp. 6969-6984. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b02560.
5. Oganesyants L.A., Vafin R.R., Galstyan A.G., Semipyatniy V.K., Khurshudyan S.A., Ryabova A.E. Prospects for DNA authentication in wine production monitoring. *Foods and Raw Materials.* 2018. Vol. 6. No. 2. P. 438–448. DOI: 10.21603/2308-4057-2018-2-438-448.
6. Vafin R.R., Rzhanova I.V., Askhadullin D.F. Identification of *Triticum aestivum* L. genotype by allelic versions of waxy-genes and HMW glutenin subunits // *Ecology, Environment and Conservation.* 2015. Vol. 21, No. Suppl. Nov. P. 137-143.
7. Абдулина И.Р., Вафин Р.Р., Зайнуллин Л.И., Алимова Ф.К. Выявление аллельного варианта Wx-A1G Waxy-гена у генотипов яровой пшеницы отечественной селекции // *Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки.* 2012. Т. 154. № 4. С. 158-163.
8. Абдулина И.Р., Вафин Р.Р., Ржанова И.В., Гараева А.Л., Асхадуллин Д.Ф., Асхадуллин Д.Ф., Василова Н.З., Зайнуллин Л.И., Алимова Ф.К. Молекулярная идентификация генотипов яровой пшеницы по аллельным вариантам Waxy-генов. *Фундаментальные исследования.* 2013, № 1-1, С. 13-17.
9. Pereira L., Gomes S., Castro C., Eiras-Dias J.E., Brazão J., Graça A., Fernandes J.R., Martins-Lopes P. High Resolution Melting (HRM) applied to wine authenticity. *Food Chem.* 2017, vol. 216, pp. 80-86. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.07.185.
10. Хуршудян С.А., Галстян А.Г. Мониторинг качества винодельческой продукции. *Контроль качества продукции.* 2017, № 8, С. 12-13.
11. Хуршудян, С.А. Фальсификация пищевых продуктов: научные, методологические и нормативно-правовые основы противодействия Пищевая промышленность. 2008, № 8, С. 56-58.
12. Хуршудян С.А., Галстян А.Г. Качество пищевых продуктов. Термины, определения и противоречия. *Контроль качества продукции.* 2018, № 1, С. 48-49.
13. Харламова Л.Н., Хуршудян С.А., Смирнова Е.А. Роль органолептического анализа в идентификации фальсифицированных напитков// *Индустрия напитков.* 2016. №2. С.28.
14. Хуршудян С.А. Идентификационные признаки упаковки в определении контрафактных и фальсифицированных пищевых продуктов// *Тара и упаковка.* 2008. № 9. 38-39.