

РАЗРАБОТКА ГЕНОМНОГО МЕТОДА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АУТЕНТИЧНОСТИ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ ЖИВОТНОГО И РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ОСНОВЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАКРОМОЛЕКУЛ

Задачей данного исследования являлась разработка геномного метода для подтверждения аутентичности пищевых продуктов и качества использованного сырья, основанного на определении специфических биологических макромолекул, в частности геномной ДНК. Мониторинг этого параметра позволил сделать косвенную оценку качества сырья, используемого для изготовления продуктов питания. Исследуемые структуры (ДНК) являются природными биологическими объектами, так же как и человеческий организм, что даёт основания говорить о большей надёжности геномного метода для подтверждения аутентичности пищевых продуктов и идентификации используемого сырья. Таким образом, геномная ДНК, содержащаяся в исследуемых продуктах питания, выполняла роль вещества-индикатора, которое изначально присутствует в продукте, а значит, нет необходимости добавлять его в процессе исследования, что позволит снизить стоимость анализа и повысить надёжность результатов исследования.

Цель исследования: применить на практике геномную методику для анализа степени повреждения ДНК продуктов животного и растительного происхождения, с целью подтверждения их аутентичности.

Объектом исследования служили продукты растительного и животного происхождения, в комбинациях: продукт в «нативном» состоянии и его производные.

Работа выполнена в условиях лаборатории кафедры биохимии и молекулярной биологии с использованием методов горизонтального элетрофореза ДНК в агарозном геле, с последующей визуализацией трансиллюминатором, изготовленным фирмой Vilber Lourmat (Франция), при длине волны 254 нм и с обработкой полученных данных в программе ImageJ (разработчик UnitedStates Department of Health and Human Services, версия 1.45, 2011 год).

Статья изложена на 5 листах с использованием 2 рисунков.

Ключевые слова: аутентичность, геномная ДНК, продукты питания растительного и животного происхождения, здоровье человека.

Аутентичность (или подлинность) пищевой продукции является неотъемлемой составляющей качества продуктов питания, которая определяется совокупностью биологических и физико-химических показателей, изменения абсолютных значений и интервалов, которых обусловлены свойствами сырья природного характера и допустимым технологическим воздействием при изготовлении готовых пищевых продуктов [1], [2].

Безопасность товаров в нашей стране обеспечивается соблюдением норм изложенных в СанПиН и Технических регламентах. Однако, повышение эффективности производства продуктов питания, в основном опирается на соблюдение логистических требований, без учета жизненно необходимых требований для потребителей [3], [4]. Исходя из вышеизложенного, безопасность продуктов питания является важной составляющей на пути к обеспечению здоровья человека [5].

В процессе исследования нами была разработана геномная методика подтверждения

аутентичности пищевых продуктов, позволяющая оценить подлинность продукта, анализируя степень повреждения его ДНК.

Объектом исследования мы выбрали продукты, наиболее популярные среди потребителей на современном рынке, как для человека, так и для животных. Из продуктов животного происхождения были отобраны следующие образцы: 1 – сарделька телячья, 2 – тушенка мясная, 3 – картофельное пюре с тушенкой, 4 – натуральная говядина (контрольная группа), 5 – мясное детское пюре, 6 – корм для щенков всех пород. Образцы продуктов растительного происхождения были представлены следующим рядом: 7 – сушеный банан, 8 – натуральный банан, 9 – банановое пюре, 10 – груша натуральная к, 11 – яблочное пюре, 12 – яблоко натуральное, 13 – грушевое пюре, 14 – капуста натуральная, 15 – капуста замороженная, 16 – картофельные хлопья. В качестве контроля выступали группы 8, 10, 12, 14.

Выделение ДНК проводилось с применением набора «Проба ЦТАБ» фирмы ООО «ДНК-

технология» по предложенной производителем технологии (МУК 4.2.1913-04). Изучение ДНК было проведено методом горизонтального электрофореза в агарозном геле с визуализацией трансиллюминатором ЕСХ-F15.С. Фотографии полученных электрофореграмм обрабатывались программой ImageJ.

Оценка состояния и концентрации выделенной ДНК осуществлялась путём сравнения исследуемых групп с группой контроля. При оценке линейных характеристик молекул ДНК учитывалось расстояние, на которое мигрировала ДНК в агарозном геле, количество образовавшихся фракций, протяжённость шмеров.

по яркости люминесценции в ультрафиолете ДНК, окрашенной бромистым этидием, оценивалось её количество.

Опираясь на данные, полученные в результате обработки электрофореграмм были построены «графики движения ДНК» для каждого образца продуктов животного и растительного происхождения.

На рисунке 1 отражены «графики движения ДНК» для продуктов животного происхождения (номера 1–6, 4 – контрольный образец, натуральная говядина). Анализируя их в совокупности можно сделать заключение: ДНК в образцах производных продуктов животного

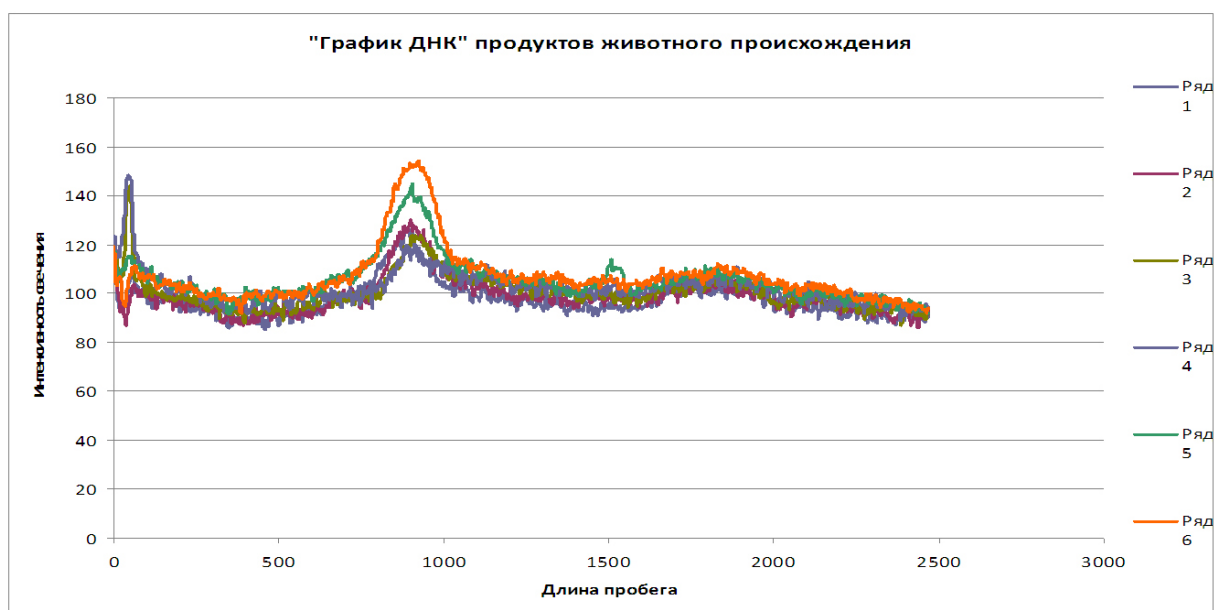


Рисунок 1. «Графики движения ДНК» продуктов животного происхождения (1-6)

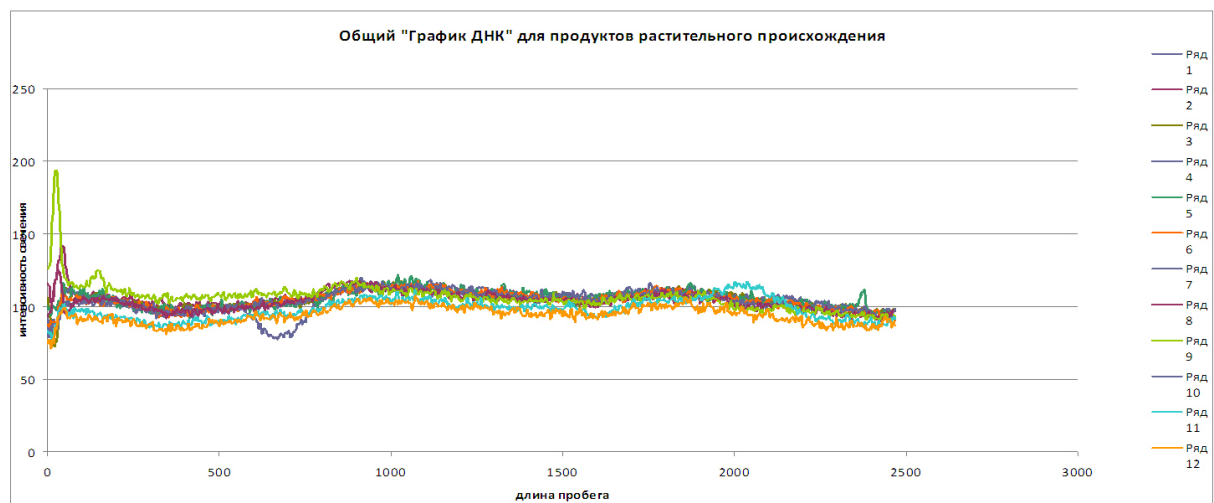


Рисунок 2. Общий «график движения ДНК» для продуктов растительного происхождения (7-16)

происхождения, т. е. тех, которые претерпели некую термическую, либо химическую обработку в процессе производства, присутствуют, о чем свидетельствуют пики на графиках (соответствуют повышенной интенсивности свечения, вызванной скоплением наибольшего количества ДНК). Однако, данные пики сконцентрированы преимущественно в диапазоне от 700 пкс до 1100 пкс. Т. е. ДНК данных образцов прошли в агарозном поле немалое расстояние, что свидетельствует об их «легкости», а соответственно о повреждении.

На рисунке 2 отражена совокупность «графиков движения ДНК» всех образцов продуктов растительного происхождения (номера 7–16). При этом пики, наиболее приближенные к оси Y, свидетельствующие о максимальном скоплении ДНК, которые прошли минимальное расстояние, принадлежат контрольным образцам, подтверждая сохранность структуры их ДНК. Что же касается «производных» продуктов – их пики сосредоточены в диапазоне от 600 пкс до 1100 пкс и свидетельствуют о повреждении ДНК выбранных образцов в процессе технологии производства.

По результатам проведенной работы нами были сделаны следующие выводы:

1) термическая и химическая обработка пищевых продуктов животного и растительного

происхождения, оказывает повреждающее действие на структуру их биологических макромолекул (в частности ДНК);

2) в образцах продуктов животного происхождения были выявлены значительные концентрации ДНК, что подтверждает присутствие в них «мясной» составляющей. Однако, большое расстояние, пройденное ДНК вышеуказанных образцов, свидетельствует об их повреждении, что могло быть вызвано технологической обработкой данных продуктов;

3) анализ электрофореграмм продуктов растительного происхождения выявил отсутствие ДНК в образцах 7 и 16, а также значительные повреждения ДНК в продуктах, которые были подвержены заморозке и химической обработке в результате технологического процесса в образцах 15 и 16;

4) по сравнению с контрольной группой концентрация ДНК в «производных» пищевых продуктах растительного происхождения оказалась ниже и была более повреждена в процессе технологической обработки;

5) проведенный нами сравнительный анализ специфических биологических макромолекул (ДНК) на основе предложенной геномной методики позволил судить об аутентичности выбранных пищевых продуктов по присутствию в них ДНК исходных составляющих.

28.09.2015

Список литературы:

1. Гилмор, Дж. Аутентичность: Что по – настоящему хотят потребители / Дж. Гилмор, Дж. Пайн // BestBusinessBooks, 2009. – 352 с.
2. Киселев, В. М. Применение концепции натуральности при категоризации торгового предложения пищевых продуктов / В.М. Киселев, Р.М. Ганиев // Ползуновский вестник. – 2011. – №3/2. – с 214-218.
3. Колеснов, А. Ю. Оценка подлинности как составляющая системы защиты потребительского рынка соков / А. Ю. Колеснов; Методы оценки соответствия. – 2009. – №5. – с 38-423
4. Методы контроля. Химические и микробиологические факторы. Оценка подлинности и выявление фальсификации молочной продукции: МУ 4.1/4.2.2484-09: утв. Гл. Сан. врачом РФ 11.02.2009: ввод в действие с 11.02.2009. – М.: ФГУП «ИнтерСЭН», 2009. – 26 с.
5. Питание и здоровье в Европе: новая основа для действий / Региональные публикации ВОЗ. Европейская серия, 2004. -№96. – 525 с.

Сведения об авторах:

Барышева Елена Сергеевна, заведующий кафедрой биохимии и молекулярной биологии химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, ауд. 16414, тел.: (3532) 37-24-84, e-mail: baryshevae@mail.ru

Объедкова Юлия Александровна, студент группы 13 Био(м) БМБ химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: pshik8mail@mail.ru