



Čigava DNK se skriva v medu in kaj nam pove

Deoksiribonukleinska kislina (DNK) je dedni zapis, ki ga nosi vsaka živa celica. Molekula DNK je dvojna vijačnica, ki je v jedru celice in v mitohondrijih, pri rastlinah tudi v plastidih (kloroplastih in kromoplastih). DNK se deduje od staršev na potomce in na podlagi informacije, ki jo nosi, lahko sklepamo na sorodstvene odnose ali druge značilnosti. Osnovni gradniki DNK so nukleotidi (adenin, timin, gvanin in citozin, s kraticami A, T, G, C), ki si sledijo v določenem zaporedju in so črkovni zapis, ki ga preberemo s posebnimi molekularnimi postopki.

dr. Ajda Moškrič, Katarina Mole, dr. Janez Prešern

Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za živinorejo, Čebelarstvo (ajda.moskric@kis.si)

Za ustrezno branje DNK ne potrebujemo velike količine celic ali tkiva. Forenziki lahko DNK posameznika uspešno izolirajo že iz vzorca slin ali iz lasu. Razvoj molekularnih metod je napredoval celo toliko, da je mogoče pridobiti dovolj DNK zgolj iz dotika, saj pri tem oseba odloži nekaj kožnih celic, ki vsebujejo zadostno količino DNK za dešifriranje tistih zaporedij, ki nas zanimajo. Vsako živo bitje torej za seboj pušča svoj edinstveni genetski podpis, ki je viden z ustreznimi tehnikami. Pri ljudeh je mogoče iz profila DNK poleg identitete razbrati tudi etnični in geografski izvor posameznika ter nekatere fizične značilnosti (barva oči, spol).

Tudi čebelji pridelki, med njimi sta na tem področju najbolj raziskana med in matični mleček, vsebujejo podpise. Čigave? In kakšne informacije se v tej DNK skrivajo? Med je v osnovi živalski proizvod rastlinskega izvora in kot tak je primarno vir rastlinske DNK. A to ni edina DNK, ki jo najdemo v medu. Edinstveni genetski podpis vsakega vzorca medu je sestavljen tako iz DNK rastlin, na katerih čebele nabirajo nektar in cvetni prah, kot tudi čebel samih. Kako do tega pride? Pašne čebele v procesu preobrazbe nektarja v med v mednem želodčku dodajajo encime krmilnih in slinskih žlez. Panjske čebele pa nato poskrbijo za zorenje medu. Med temi procesi se odloži v zoreči med tudi nekaj celic iz čebeljih prebavil, ki vsebujejo DNK, ne veliko, a dovolj za prepoznavno genetskega podpisa. Kadar so v medu elementi mane, pa so gotovo svoj unikatni podpis dodale tudi ušice, kaparji, medeči škržat in druge kljunate žuželke, ki izločajo mano. Zadnje raziskave kažejo, da se v medu skrivajo tudi koščki DNK, ki pripadajo črevesni mikroflori (bakterije, virusi) čebel. S primernimi tehnikami je na podlagi celovitega genetskega orisa možno določiti vir medu do čebelnjaka natančno, sklepamo pa lahko tudi o nekaterih drugih lastnostih, npr. o zdravstvenem stanju čebel. Tovrstne tehnike so trenutno še vedno zelo drage in zahtevne, zato so uporabne le za raziskave, ne pa tudi za rutinsko diagnostiko.

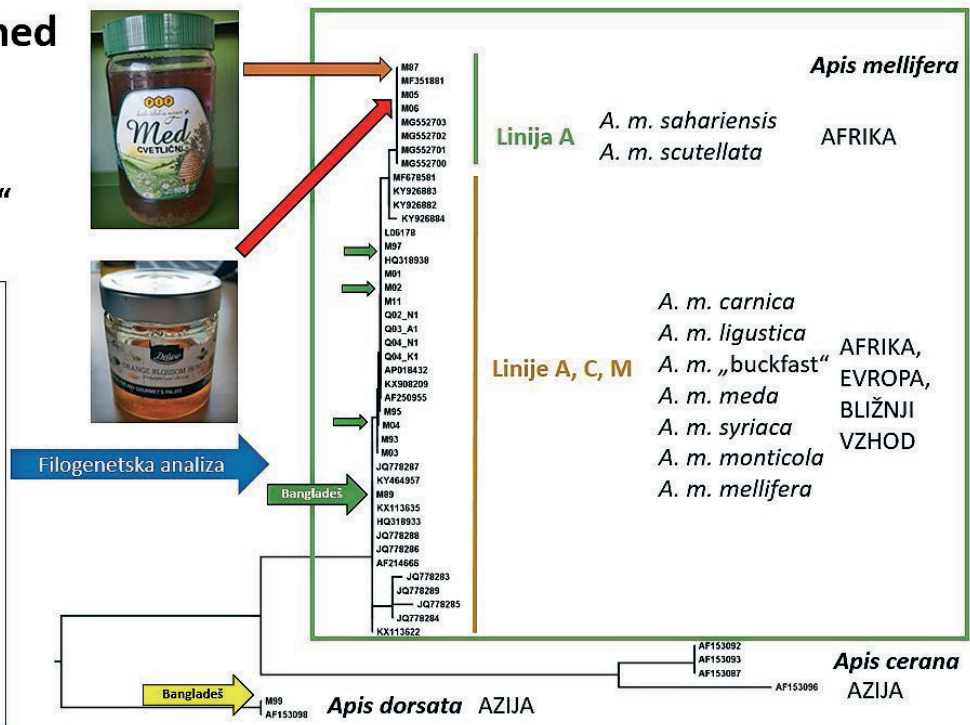
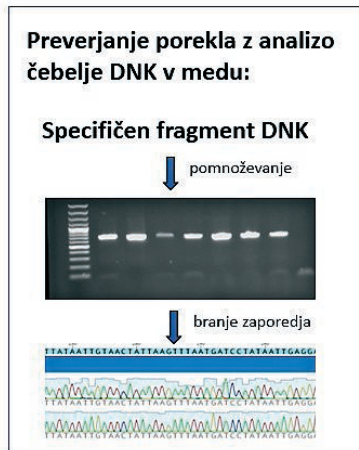
Zakaj je znanje o rastlinski in živalski DNK v medu tako pomembno

DNK v medu nam razkrije poreklo medu (botanično, entomološko ali geografsko), ki je nerazdružljivo povezano s senzoričnimi in biokemijskimi lastnostmi medu ter s subjektivno zaznavo potrošnika o kakovosti medu. Med, ki ima oznako zaščitena označba porekla (ZOP) ali zaščitena geografska označba (ZGO) ali je deklariran kot sortni med (lipov, kostanjev, hojev itd.), je pri potrošnikih zelo cenjen in velja za kakovosten prehranski pridelek edinstvenega in izpopolnjenega vonja in okusa. Tovrstni med dosega višje cene na trgu in je bolj iskan. Nikakor ni zanemarljiv podatek, da je med postavljen visoko – kar na tretje mesto – na lestvici največkrat ponarejenih prehranskih pridelkov v Evropi. Tako stoji ob boku oljčnemu olju, ribam, sonaravno pridelani hrani, kavi in čaju. To niti ni presenetljivo, saj je med zaradi svojih biokemijskih značilnosti, kompleksne zgradbe, raznovrstnosti in ne nazadnje cene, ki jo dosega na trgu, privlačna tarča za ponarejanje. K tem številkam prispeva tudi dejstvo, da je med mogoče ponarediti oziroma prirediti njegovo kakovost in skladnost na številne načine, od katerih je zgolj nekatere mogoče odkriti z rutinskimi in preprostimi postopki. Velik delež ponarejanja ostaja nezazan, zaradi tehnično zahtevnih in dragih postopkov izvedbe določanja pristnosti. Eden od načinov ponarejanja medu je načrtna zamenjava ali mešanje medu različnega porekla z namenom prirediti zaznavo potrošnika o kakovosti in vrednosti medu. Z metodami, ki analizirajo DNK, je mogoče v medu določiti označevalce – zaporedja DNK, ki so značilna za določen tip medu – in s tem ugotavljati morebitno napačno deklariranje, ki je posledica zamenjave tipov medu ali mešanja medu različnega porekla v enem vzorcu.

Raziskovalci čebelarstva skupine na Kmetijskem inštitutu Slovenije smo nedavno razvili in objavili metodo, s katero lahko na podlagi specifičnih zaporedij DNK v vzorcih medu ugotavljamo entomološko poreklo medu, tj., katera vrsta čebel je med pridelala.

Naključno izbran med na polici trgovine

Poreklo:
„Države EU in izven EU“




Primer preverjanja porekla naključnih vzorcev medu s polic večjih trgovcev

Za pridobitev DNK iz medu za tovrstno analizo zadostuje manj kot 1 ml medu. Ekstrakciji DNK sledi pomnožitev specifičnega označevalca, to je genetski zapis čebele, ki je v medu in nosi informacijo, na podlagi katere lahko določimo, za katero vrsto čebele gre. Razlike v zaporedju DNK omogočajo selektivno rezanje zaporedja z določenimi encimi in posledično razlike v profilu dolžin razrezanih fragmentov. Razlike preverimo s pomočjo gelske elektroforeze, kjer razrezani fragmenti tarčne DNK potujejo po gelu na osnovi električnega polja. Različno dolgi fragmenti potujejo različno hitro. Iz nastalega genetskega profila razberemo, za katero vrsto čebele gre. Naša raziskava temelji na razlikah v zaporedju na označevalcu v jedrnem genu, ki se imenuje adenin-nukleotid translokaza (ANT), pri treh vrstah čebel – medonosni čebeli (*Apis mellifera*), azijski čebeli (*Apis cerana*) in orjaški čebeli (*Apis dorsata*).

Azijska in orjaška čebela izvirata iz Azije in sta poleg medonosne čebele ekonomsko pomembni vrsti. Orjaška čebela je divja vrsta čebel, zanjo pa je poleg negotovosti značilno izrazito agresivno vedenje. Nabiranje njihovega medu, ki slovi po posebnih biokemijskih lastnostih, je tako bolj zahtevno in tvegano.

Objavljena metoda je pomembna predvsem pri preverjanju avtentičnosti uvoženega medu azijskega porekla, ko je izdelek deklariran kot med vrste orjaške čebele ali azijske čebele. Z razvojem tovrstnih metod smo korak bližje preprečevanju napačnega deklariranja ter ponarejanja medu in omogočanju pravične konkurence

med pridelovalci in prodajalci medu. Zagotavljanje pravilne deklaracije in izločanje ponarejenih živil iz prodaje prav tako pomembno večata zaupanje potrošnikov. Za zdaj so večinoma na voljo označevalci, ki med razlikujejo po vrsti čebel, ki so ga pridelale, ne omogočajo pa zanesljivega razlikovanja na ravni podvrst oziroma populacij. To pomeni, da trenutno z njimi še ni mogoče ločiti pridelka kranjske sivke od pridelka italijanske čebele. Je pa mogoče preveriti geografsko poreklo, kadar v izvornih državah čebelarijo z drugačno evlucijsko linijo medonosne čebele (evlucijske linije A, C, M in O se med seboj razlikujejo po mitohondrijski DNK). Tako smo z analizo mitohondrijske DNK v dveh vzorcih medu s polic večjih trgovcev ugotovili, da je izvor medu evlucijska linija A, in sicer podvrste, ki so značilne za jug Afrike. V tem primeru rezultat analize kaže na poreklo izključno »izven EU«, ne pa tudi »EU«, kot piše na deklaraciji. Da bi lahko potrdili ali ovrgli svoje ugotovitve, bi bilo rezultate nujno preveriti še z dodatnimi metodami, npr. s pelodno analizo.

Z razvojem novih in nadgradnjo obstoječih molekularnih metod bo mogoče odkrivati mešanice medu neustreznega porekla in take s prirejenim poreklom tudi na slovenskem trgu, za kar si prizadevamo tudi v skupini za čebelarstvo na Kmetijskem inštitutu Slovenije. 

Vir: Ajda Moškrič, Katarina Mole, Janez Prešern, 2021. *EPIC markers of the genus Apis as diagnostic tools for detection of honey fraud*, Food Control, Volume 121, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107634>