



# БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



## УСТАНОВЛЕНИЕ БОТАНИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ МЕДА С ПОМОЩЬЮ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Машков О.И.\*, Поскряков А.В., Николенко А.Г., Гарафутдинов Р.Р.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71.

\* E-Mail: mashkov.sci@gmail.com

### АННОТАЦИЯ

Традиционный контроль качества меда включает анализ его органолептических свойств, определение диастазной активности, количества сахарозы, оксиметилфурфузола. В последнее время распространение получает определение ботанического происхождения меда с помощью анализа содержащейся в нем пыльцы, а также анализа ДНК. В данной работе описан способ установления ботанического происхождения меда с помощью полимеразной цепной реакции для наиболее продуктивных медоносов средней полосы России - липы сердцевидной, гречихи посевной, подсолнечника масличного, а также дудника лекарственного, донника лекарственного и таволги вязолистной. На девяти образцах меда (шесть монофлорных, три полифлорных) продемонстрирована возможность использования ПЦР для установления ботанического происхождения меда. ПЦР-анализ одного из образцов гречишного меда не подтвердил его сортовую принадлежность, что показывает практическую значимость предложенного способа.

**Ключевые слова:** мед, медоносы, липа, гречиха, подсолнечник, ДНК, ПЦР.

### ВВЕДЕНИЕ

Мед - сложное многосоставное вещество, полученное в результате ферментативной обработки цветочного нектара медоносной пчелой *Apis mellifera*. По ботаническому происхождению можно выделить монофлорный (источником меда является нектар, собранный преимущественно с одного вида растений) и полифлорный (источником меда является нектар, собранный с нескольких растений без преобладания какого-либо одного из них) [Mendes et al., 2009].

Химический состав и биологические свойства меда зависят от источника нектара, поэтому важно знать его ботаническое происхождение. На сегодняшний день для этой задачи применяют физико-химический [Ruoff et al., 2006; Castro-Vázquez et al., 2009], мелиссопалинологический (пыльцевой) [von der Ohe et al., 2004; Курманов, Ишбирдин, 2014], органолептический [ГОСТ Р 52451-2005, ГОСТ Р 54644-2011] анализы. Однако пыльцевой анализ продолжителен и требует особой тщательности при выполнении. Результаты пыльцевого и органолептического анализов зависят от квалификации и опыта эксперта [Cuevas-Glory et al., 2007].

Инструментальные методы позволяют избежать проблемы достоверности и воспроизводимости диагностических работ с одновременным уменьшением затрат времени. Широко распространены такие методы как измерение физико-химических показателей качества меда [Finola et al., 2007; Ouchemoukh et al., 2010] в сочетании с определением содержания минеральных веществ [Nalda et al., 2005], углеводного и аминокислотного состава [Morales et al., 2008; Cotte et al., 2004], масс-спектрометрия [Ampuero et al., 2004], дифференциальная сканирующая калориметрия [Venir et al., 2010], пиролизная масс-спектрометрия [Radovic et al., 2001], КР-спектроскопия [Pierna et al., 2011], ближне-инфракрасная [Escuredo et al., 2013] и флуоресцентная спектроскопия [Ruoff et al., 2006]. Следует отметить, что подобные исследования требуют наличия дорогостоящих приборов и обученных специалистов. Поэтому в последнее время получает распространение анализ с помощью полимеразной цепной реакции препаратов ДНК, выделенных из образцов меда. Предложено несколько разных методик выделения ДНК

определенных видов растений-медоносов и ее видоспецифичной амплификации [Mafra et al., 2008; Lalmangaihi et al., 2014; Soares et al., 2015], однако подобные работы для медоносов России отсутствуют.

Цель данного исследования заключалась в разработке способа установления ботанического происхождения меда с помощью полимеразной цепной реакции на примере наиболее продуктивных медоносов средней полосы России - липы сердцевидной, гречихи посевной, подсолнечника масличного, дудника лекарственного, донника лекарственного и таволги вязолистной.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала-источника ДНК использовали образцы различных сортов монофлорного (липовый, гречишный, подсолнечниковый) и полифлорного меда. Выделение ДНК проводили по разработанной нами методике. 7.5 г меда растворяли в 40 мл дистиллированной воды в течение 1 ч при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Далее центрифугировали 30 мин при 5000 об/мин, осадок суспендировали в 1 мл воды, переносили в новую центрифужную пробирку и осаждали 5 мин при 15000 об/мин. Из полученного осадка выделяли ДНК с помощью набора «Сорб-ГМО-Б» в соответствии с рекомендациями производителя (ЗАО «Синтол», Россия). Выделение ДНК из растений осуществляли солевым методом [Miller et al., 1988]. Для этого к навескам измельченной в жидком азоте растительной ткани (листья липы, дудника, донника,

проростки подсолнечника, гречихи посевной) массой 0.2 г добавляли 400 мкл солевого буфера (0.4 М NaCl, 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 2 mM ЭДТА), 40 мкл 20% ДДС и 8 мкл протеиназы К с концентрацией 20 мг/мл. После тщательного перемешивания образцы инкубировали 2 ч при 65°C, затем добавляли 300 мкл 5M NaCl, тщательно перемешивали на вортексе в течение 30 с и центрифугировали 30 мин при 13000 об/мин. Супернатант переносили в чистую пробирку и добавляли к нему равный объем изопропанола, тщательно перемешивали и инкубировали при -20°C в течение 1 ч. Далее образцы центрифугировали 20 мин при 13000 об/мин, осадок дважды промывали 500 мкл 70%-ного этанола, сушили в вакуумном концентраторе и растворяли в 50 мкл воды. Полученную таким образом ДНК очищали дополнительно с помощью набора для выделения ДНК из агарозного геля и реакционных смесей производства компании «Цитокин». Очищенную ДНК хранили в 1× ТЕ-буфере при -20°C. Концентрацию и качество выделенных образцов ДНК определяли на приборе NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, США).

Подбор праймеров (табл. 1) осуществляли на основе последовательностей нуклеотидов, взятых из Генбанка [www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/], с помощью программы "Primer3" [Untergasser et al., 2012; Koressaar, Remm, 2007]. Синтез праймеров осуществлен на автоматическом ДНК-синтезаторе ASM-800 (Биоссет, Россия) амидофосфитным способом, их очистку проводили методом гель-электрофореза в 15%-ном полиакриламидном геле.

Таблица 1.

Использованные в работе олигонуклеотидные праймеры

Организм (номер в Генбанке)	Праймер	Последовательность, 5'→3'	Ампликон, п.н.
Липа сердцевидная (KF897521)	TC F	TCGTGACTCCTTTCTTGCGA	265
	TC R	CCTACGGGAGGCCATTTTCC	
Подсолнечник масличный (KF767534)	HA F	GCACGAGATGTGCCAAGGAA	88
	HA R	CAAAGAAGCCACGAACAGCG	
Гречиха посевная (AB000330)	FE F	CGAAACACCAAGTACGGCG	90
	FE R	CGGGACGCGCTTCTGTTC	
Гречиха татарская (KC571237)	FT F	TGTGTTGAGTGGCGGTTCTA	206
	FT R	CGGATTCATCATACTCGCTCTTG	
Гречиха <i>Fagopyrum stative</i> (AB000338)	FS F	CTAAACGGGCGGACGAGG	108
	FS R	CGGGACGCGCTTCTGTTC	
Дягиль лекарственный (EF590754)	AA F	CCTTGTCTGTCGGGTTGG	139
	AA R	GAGTGTGTGCTGCCTAAGG	
Донник лекарственный (KJ999360)	MO F	GACGACTCGTGCCTTCTCCT	110
	MO R	AACACCGTCTCCGATGCAATG	
Таволга вязолистная (FUU90783)	FU F	CCCACCTTCTTCTCTTTC	149
	FU R	ACGCACACGACAGGC	
Универсальный (растительный)	5.8 F	AACGACTCTCGGCAACGG	73
	5.8 R	TCACACCAAGTATCGCATTTTCGCT	

Полимеразную цепную реакцию проводили в ДНК-амплификаторе T100 (Bio-Rad Laboratories). Образцы для ПЦР готовили в ПЦР-боксе UVC/T-M-AR (Biosan), предварительно облучая рабочее пространство, автоматические дозаторы и пластиковую посуду ультрафиолетом в течение 20 мин. Реакционные смеси имели объем 10 мкл и содержали 5.0 нг ДНК, 0.5 мкл каждого из праймеров с концентрацией 1.0 О.Е./мл, 2.5 ед. акт. Таq-ДНК полимеразы (СибЭнзим, Россия), 1.0 мкл смеси дНТФ с концентрацией 2.5 мМ, 1 мкл буфера для Таq-ДНК полимеразы (68 мМ Трис-НСl (рН 8.8), 2.0 мМ MgCl<sub>2</sub>, 18 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.01% Твин-20). ПЦР проводили по стандартной программе: 2 мин при 95°C, 30 циклов: 30 с - 95°C, 30 с - 55°C, 60 с - 72°C, финальная элонгация - 2 мин при 72°C. Результаты ПЦР анализировали методом электрофореза в 10% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализацией в приборе Gel Camera System (UVP. Inc.).

### РЕЗУЛЬТАТЫ

В качестве источника ДНК было взято 9 образцов меда (табл. 2), из которых 4 были определены производителями как монофлорные, 3 - как полифлорные и 2 позиционировались как полифлорные с преобладанием одного медоноса (образцы М1 (дудниковый) и М15 (донниковый)). Из навесок меда одинаковой массы в зависимости от сорта было выделено от 400 до 1700 нг общей ДНК.

Для амплификации отбирались образцы ДНК, характеризующиеся наибольшей чистотой, в количестве 5 нг на 10 мкл реакционной смеси.

В качестве целевых растений для установления ботанического происхождения меда были выбраны 6 медоносов: липа сердцевидная (*Tilia cordata*), подсолнечник масличный (*Helianthus annuus*), гречиха посевная (*Fagopyrum esculentum*), дудник лекарственный (*Angelica archangelica*), донник лекарственный (*Melilotus officinalis*), таволга вязолистная (*Filipendula ulmaria*). Поскольку в ходе работы возникали трудности при анализе гречишного меда, были дополнительно рассмотрены в качестве медоносов гречиха татарская (*Fagopyrum tataricum*) и гречиха *Fagopyrum stative*. Для указанных растений подбор видоспецифичных праймеров осуществляли к варибельной части нуклеотидной последовательности внутреннего транскрибируемого спейсера 1, характеризующегося высокой копийностью. «Универсальные» праймеры подбирали к консервативной последовательности гена 5.8S рРНК. В результате ПЦР с подобранными парами праймеров ожидали образование ампликонов размером от 73 до 265 п.о.

Праймеры, специфичные к липе, позволили обнаружить ее ДНК в препаратах, выделенных из одного монофлорного (липового) и двух полифлорных медов (М10, М11, М27 соответственно) (рис. 1).

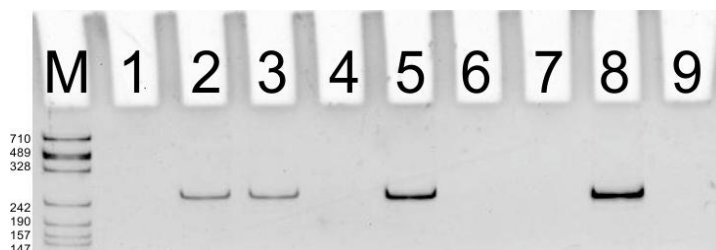


Рис. 1. Электрофореграмма ПЦР-образцов с праймерами к *T. cordata*: М - маркер; 1 - М1; 2 - М10; 3 - М11; 4 - М15; 5 - М27; 6 - М32; 7 - М33; 8 - положительный контроль (ДНК из *T. cordata*); 9 - ДНК человека.

ДНК подсолнечника обнаруживалась только в образце ДНК, выделенной из подсолнечникового меда М32 (рис. 2).



Рис. 2. Электрофореграмма ПЦР-образцов с праймерами к *H. annuus*: М - маркер; 1 - М1; 2 - М10; 3 - М11; 4 - М15; 5 - М27; 6 - М32; 7 - М33; 8 - положительный контроль (ДНК из *H. annuus*); 9 - ДНК человека.

При использовании для анализа меда М26 праймеров к гречихе посевной образования

целевого продукта амплификации не наблюдалось (рис. 3).

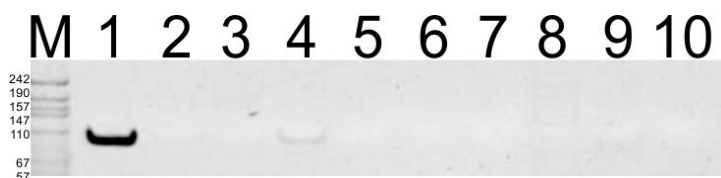


Рис. 3. Электрофореграмма ПЦР-образцов с праймерами к *F. esculentum*: М - маркер; 1 - положительный контроль (ДНК из *F. esculentum*); 2 - М1; 3 - М10; 4 - М11; 5 - М15; 6 - М26 (выделение №1); 7 - М26 (выделение №2); 8 - М27); 9 - М32; 10 - М33.

Варьирование условий выделения ДНК с использованием дополнительных видов очистки (спин-колонка, поливинилпирролидон) также не привели к желаемому результату. Вследствие этого далее нами были подобраны праймеры, специфичные к гречихе татарской и гречихе *Fagopyrum stative*, как к видам, наиболее близким к гречихе посевной. Однако ПЦР-амплификация с их

участием также не привела к наработке целевых ампликонов, поэтому далее в анализ был взят образец меда М41, который также позиционировался производителем как гречишный. ПЦР образца М41 с праймерами, специфичными к разным видам растений, показала наработку продукта амплификации только для праймеров к гречихе посевной (рис. 4).

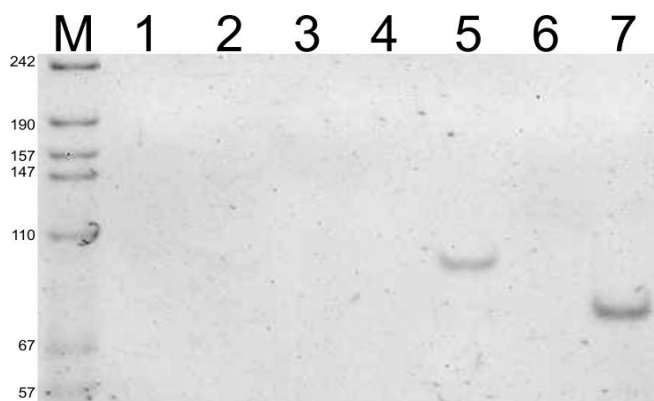


Рис. 4. Электрофореграмма ПЦР-образцов с ДНК, выделенной из образца М41: М - маркер; 1 - праймеры к *A. archangelica*; 2 - праймеры к *M. officinalis*; 3 - праймеры к *F. tataricum*; 4 - праймеры к *F. stative*; 5 - праймеры к *F. esculentum*; 6 - праймеры к *F. ulmaria*; 7 - универсальные праймеры.

ПЦР-анализ образцов разных сортов меда позволил достоверно определить наличие в них

ДНК растений-медоносов; сводные данные приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Наличие ДНК растений-медоносов в разных сортах меда.

№	Мед		Медонос			
	Шифр	Сорт	Липа	Гречиха посевная	Подсолнечник	5.8S
1	М1	Дудниковый				+
2	М10	Липовый	+			+
3	М11	Цветочный	+			+
4	М15	Донниковый				+
5	М26	Гречишный				+
6	М27	Цветочный	+			+
7	М32	Подсолнечниковый			+	+
8	М33	Цветочный				+
9	М41	Гречишный		+		+

## ОБСУЖДЕНИЕ

Основными медоносами средней полосы России считаются липа сердцевидная, гречиха посевная, подсолнечник масличный, лесные и луговые/степные травы (донник лекарственный, дудник лекарственный, эспарцет песчаный, шалфей лекарственный, кипрей узколистый, клен остролистный, таволга вязолистная, клевер белый, рапс озимый и др.). Для первых трех растений в силу высокой нектаропродуктивности возможен сбор монофлорных медов, однако основную часть собираемого меда относят к полифлорным.

В данной работе были проанализированы 9 образцов меда (табл. 2), произведенных пчеловодческими хозяйствами Республики Башкортостан. Коллекция была представлена липовым (M10), гречишными (M26, M41), подсолнечниковым (M32), дудниковым (M1), донниковым (M15) и полифлорными (M11, M27, M33) медами. Сорт меда устанавливался производителем. Выделение ДНК из образцов меда осуществляли согласно описанным в литературе методикам, при этом в работу брали навески меда одинаковой массы. Количество выделенной ДНК существенно варьировало в зависимости от сорта (от 400 до 1700 нг), что объясняется большим различием в содержании пыльцы в разных сортах меда.

В качестве мишени для ПЦР была взята нуклеотидная последовательность внутреннего транскрибируемого спейсера 1, рутинно используемого для специфичной амплификации ДНК растительного происхождения в силу высокой копийности и вариабельности в зависимости от вида. В качестве контроля обнаружения растительной ДНК были подобраны также универсальные праймеры к консервативной последовательности гена 5.8S рРНК. ПЦР-амплификацию вели по стандартным протоколам.

Результаты, полученные в ходе анализа представленности ДНК липы в различных медах, хорошо согласуются между собой. Период цветения липы (а значит, и сбора пчелами липового нектара) перекрывается с периодами цветения многих лесных и полевых медоносов (*Acer platanoides*, *Rubus idaeus*, *Rosa majalis*, *Chamerion angustifolium*, *Angelica archangelica*, *Aegopodium podagraria*, *Heracleum sibiricum*, *Melilotus officinalis*, *Vicia cracca*, *Trifolium repens*, *Origanum vulgare*). Вследствие этого возможно внесение пчелами пыльцы *T. cordata* в мед, определяемый пчеловодами как полифлорный или монофлорный иного сорта, что видно по присутствию ДНК липы в образцах полифлорных медов под номерами M11 и M27. В то же время, в липовом меде не детектируется ДНК таких культурных растений как гречиха посевная и

подсолнечник однолетний, произрастающих на обширных площадях и дающих другие сорта меда.

Наличие ДНК подсолнечника только в подсолнечниковом меде можно объяснить большой площадью сельскохозяйственных посевов этой культуры, что дает возможность пчеловодам достаточно легко собирать монофлорный мед данного сорта без примесей пыльцы и нектаров других растений. Характер сбора гречишного меда практически не отличается от такового для подсолнечника, что подтверждается, как и для подсолнечника, наличием ДНК гречихи только в образце M41.

Особый интерес представляют данные, полученные для образца M26, заявленного производителем как гречишный. Отсутствие амплификации с любыми из использованных в работе видоспецифичными праймерами для M26 свидетельствует об отсутствии ДНК (и пыльцы) рассматриваемых медоносов в данном меде, что можно объяснить тремя обстоятельствами. Во-первых, полученный препарат может содержать большое количество ингибиторов ПЦР (ткани гречихи, а также ее пыльца содержат большое количество полифенольных соединений). Однако успешное протекание ПЦР с универсальными праймерами опровергает данное предположение. Во-вторых, препарат содержит ДНК иных видов растений, что подтверждается наработкой ампликонов при проведении ПЦР с универсальными праймерами (данные не представлены). Это возможно, поскольку темный мед с терпким вкусом получается не только при сборе пчелами нектара гречихи, но и многих других растений. К ним относятся широкий круг трав (луговые, пойменные, лесные), а также деревьев (вплоть до голосеменных). В-третьих, образец M26 может быть прошлогодним медом, который для растворения кристаллов сахаров подвергался нагреванию. В любом случае, ПЦР-анализ образца M26 показал отсутствие ДНК гречихи, следовательно, данный мед не является гречишным.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Задачу полноценного определения сорта и качества меда можно решить только по совокупным результатам органолептического, биохимического, пыльцевого и ДНК-анализа. Предлагаемый в данной статье способ определения ботанического происхождения меда может ускорить процесс анализа и паспортизации того или иного образца. Относительная простота (по сравнению с пыльцевым анализом) дает возможность применения ДНК-диагностики в широкой практике контроля качества медовой продукции.

Работа выполнена на оборудовании Центра коллективного пользования "Биомика" (отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии Регионального ЦКП "Агидель") и УНУ (уникальная научная установка) "КОДИНК".

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ampuero S., Bogdanov S., Bosset J.O. Classification of unifloral honeys with an MS-based electronic nose using different sampling modes: SHS, SPME, and INDEX // *Eur. Food Res. Technol.* 2004. V. 218. P. 198-207.
2. Castro-Vázquez L., Díaz-Maroto M.C., González-Viñas M.A., Pérez-Coello M.S. Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis // *Food Chemistry*. 2009. V. 112(4). P. 1022-1030.
3. Cotte J.F., Casabianca H., Giroud B., Albert M., Lheritier J., Grenier-Loustalot M.F. Characterization of honey amino acid profiles using high-pressure liquid chromatography to control authenticity // *Anal. Bioanal. Chem.* 2004. V. 378(5). P. 1342-1350.
4. Cuevas-Glory L.F., Pino J.A., Santiago L.S., Sauri-Duch E. A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey // *Food Chemistry*. 2007. V. 103(3). P. 1032-1043.
5. de Gouveia Mendes C., da Silva, J.B.A., de Mesquita L.X., Maracajá P.B. As análises de mel: Revisão // *Revista Caatinga*. 2009. V. 22(2).
6. Escuredo O., Seijo M.C., Salvador J., González-Martín M.I. Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey // *Food chemistry*. 2013. V. 141(4). P. 3409-3414.
7. Extraction method for honey gene / Патент CN102433322 A от 02.05.2012.
8. Finola M.S., Lasagno M.C., Marioli J.M. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina // *Food Chemistry*. 2007. V. 100(4). P. 1649-1653.
9. Fleischmann A., Heubl G. Overcoming DNA extraction problems from carnivorous plants // *Anales del Jardín Botánico de Madrid*. 2009. V. 66(2) P. 209-215.
10. Folloni S., Kagkli D.M., Rajcevic B., Guimarães N.C., Van Droogenbroeck B., Valicente F.H., Van den Eede G., Van den Bulcke M. Detection of airborne genetically modified maize pollen by real-time PCR // *Mol. Ecol. Resour.* 2012. V. 5. P. 810-21.
11. Honey detection composition, kit, detection method and application / Патент CN103215373 B от 05.11.2014.
12. Jain S.A., Jesus F.T.D., Marchioro G.M., Araújo E.D.D. Extraction of DNA from honey and its amplification by PCR for botanical identification // *Food Sci. Technol. (Campinas)*. 2013. V. 33. P. 753-756.
13. Koressaar T., Remm M. Enhancements and modifications of primer design program Primer3 // *Bioinformatics*. 2007. V. 23(10). P. 1289-1291.
14. Lalmangaihi R., Ghatak S., Laha R., Gurusubramanian G., Kumar N.S. Protocol for optimal quality and quantity pollen DNA isolation from honey samples // *J. Biomol. Techniques*. 2014. V. 25. P. 92.
15. Mafra I., Silva S.A., Moreira E.J., da Silva C.S.F., Beatriz M., Oliveira, P.P. Comparative study of DNA extraction methods for soybean derived food products // *Food Control*. 2008. V. 19. P. 1183-1190.
16. Method for determining authenticity of honey using dna detection / Патент WO2014171767 A1 от 23.10.2014.
17. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // *Nucleic Acids Res.* 1988. V. 16. P. 1215.
18. Morales V., Corzo N., Sanz M.L. HPAEC-PAD oligosaccharide analysis to detect adulterations of honey with sugar syrups // *Food Chemistry*. 2008. V. 107(2). P. 922-928.
19. Nalda M.J.N., Yague J.L.B., Calva J.C.D., Gomez M.T.M. Classifying honeys from the Soria Province of Spain via multivariate analysis // *Anal. Bioanal. Chem.* 2005. V. 382(2). P. 311-319.
20. Olivieri C., Marota I., Rollo F., Luciani S. Tracking plant, fungal and bacterial DNA in honey specimens // *J. Forensic Sciences*. 2012. V. 57. P. 222-227.
21. von der Ohe, W., Oddo L.P., Piana M.L., Morlot M., Martin P. Harmonized methods of melissopalynology // *Apidologie*. 2004. V. 35. P. 18-25.
22. Ouchemoukh S., Schweitzer P., Bey M.B., Djoudad-Kadji H., Louaileche H. HPLC sugar profiles of Algerian honeys // *Food Chemistry*. 2010. V. 121(2). P. 561-568.
23. Pierna J.A.F., Abbas O., Dardenne P., Baeten V. Discrimination of Corsican honey by FT-Raman spectroscopy and chemometrics // *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 2011. V. 15(1). P. 75.
24. Radovic B.S., Goodacre R., Anklam E. Contribution of pyrolysis-mass spectrometry (Py-MS) to authenticity testing of honey // *J. Anal. Pyrolysis*. 2001. P. 60(1). P. 79-87.
25. Ruoff K., Luginbühl W., Künzli R., Bogdanov S., Bosset J.O., von der Ohe K., von der Ohe W., Amadò R. Authentication of the botanical and geographical origin of honey by front-face fluorescence spectroscopy // *Journal of agricultural and food chemistry*. 2006. V. 54(18). P. 6858-6866.

26. Soares S., Amaral J.S., Oliveira M.B.P., Mafra I. Improving DNA isolation from honey for the botanical origin identification // Food Control. 2015. V. 48. P. 130-136.
27. Venir E., Spaziani M., Maltini E. Crystallization in "Tarassaco" Italian honey studied by DSC // Food chemistry. 2010. V. 122(2). P. 410-415.
28. Untergasser A., Cutcutache I., Koessaar T., Ye J., Faircloth B.C., Remm M., Rozen S.G. Primer3 - new capabilities and interfaces // Nucleic Acids Research. 2012. V. 40(15). P. 115.
29. Waiblinger H.U., Ohmenhaeuser M., Meissner S., Schillinger M., Pietsch K., Goerlich O., Broll H. In-house and interlaboratory validation of a method for the extraction of DNA from pollen in honey // J. für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. 2012. V. 7. P. 243-254.
30. ГОСТ Р 52451-2005 «Мед монофлорный. Технические условия», М.: Стандартиформ, 2007, 12 с.
31. ГОСТ Р 54644-2011 «Мед натуральный. Технические условия», М.: Стандартиформ, 2012, 16 с.
32. Курманов Р.Г., Ишбирдин А.Р. Мелиссопалинология. Уфа: Башкирский государственный университет, 2014. 128 с.

## DETERMINATION OF THE BOTANICAL ORIGIN OF HONEY BY POLYMERASE CHAIN REACTION

Mashkov O.I.\*, Poskryakov A.V., Nikolenko A.G., Garafutdinov R.R.

Institute of biochemistry and genetics, Ufa science center, Russian academy of sciences,  
450054, Ufa, Prospekt Oktyabrya, 71

\* E-Mail: mashkov.sci@gmail.com

### ABSTRACT

Traditional quality control of honey includes an analysis of its organoleptic properties, the diastase index, the amount of sucrose and hydroxymethylfurfural. In recent years, the spread gets definition of botanical origin of honey by analyzing the pollen contained in it, as well as DNA analysis. This paper describes a method of establishing a botanical origin of honey by means of polymerase chain reaction for the most honey productive plants of central Russia - linden, buckwheat, sunflower, angelica, meadowsweet and clover. It was demonstrated the possibility of PCR to determine the botanical origin on nine samples of honey (six monofloral, three multifloral). PCR analysis of samples of buckwheat honey did not confirm its identity of breed, which shows the practical significance of the proposed method.

**Keywords:** honey, melliferous herb, linden, buckwheat, sunflower, DNA, PCR.