La identificación del ADN se puede utilizar para evitar el fraude en la industria vitivinícola



Los viñedos forman un bello paisaje en el entorno de Cariñena (Zaragoza). (Imágenes cedidas por Grandes Vinos y Viñedos).

M.ª JOSÉ RUBIO CABETAS

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Y DOCTORA EN BIOLOGÍA

INVESTIGADORA FRUCTICULTURA UNIVERSIDAD

La industria vitivinícola se ha mostrado en los últimos años como una inversión segura y rentable, y una prueba de ello es la constante apertura de nuevas bodegas en todas las denominaciones de origen. Paralelamente ha aumentado el número de consumidores que demandan vinos de calidad; y que están dispuestos a pagar el alto valor añadido que alcanzan los vinos de prestigio. Los vinos, al igual que cualquier producto de calidad, no están exentos del fraude, al menos en aquéllos de alta gama. Por ello, la industria vitivinícola está obligada a invertir en medidas de control que eviten sus fraudes. En algunos países estas medidas ya incluyen el sellado de tampones con la identificación propia de los vinos, utilizando un código de barras que refuerce su autenticidad.



La calidad del producto final es vital en todo el proceso.

obligadas a controlar la identificación de las variedades utilizadas en la elaboración de cada una de las marcas de sus vinos. Aunque, la legislación europea permite la mezcla de diferentes variedades hasta un cierto limite, sin necesidad de mencionarse en la etiqueta, el fraude en la industria vitivinícola es potencialmente grande debido al diferente valor comercial de las distintas variedades.

La calidad del producto final depende, no sólo del buen hacer del enólogo, sino principalmente del origen e identidad del cultivar o variedad utilizada en su elaboración. Por lo tanto, cualquier método que pueda identificar de qué variedades se trata o cual es el origen de la misma, para evitar el fraude en el etiquetaje, están despertando especial interés. Este fraude ocurre principalmente en los vinos de ciertas añadas o series limitadas que alcanzan un alto precio en el mercado.

Hasta ahora la caracterización de las variedades de vid y el análisis por zonas geográficas, tanto del mosto como del vino, se ha basado principalmente en métodos analíticos utilizando diferentes técnicas bioquímicas. En general, cualquier técnica biológica moderna ha sido aplicada para la identificación de los vinos: separar las proteínas del mosto por cromatografía de afinidad (CA) o por espectrometría de masas (EM), separar los antocianos y los polifenoles del vino por cromatografía liquida de alta resolución (HPLC), o viendo la composición isotópica elemental por espectroscopia (NMR). Más recientemente otra técnica más precisa por la combinación de métodos electroforeticos e inmunológicos «La calidad del vino no sólo depende del buen bacer del enólogo, sino principalmente de la calidad y origen de la variedad de vid utilizada».

En la Unión Europea, el vino es normalmente identificado por su denominación de origen (origen geográfico), mientras que la ley obliga a detallar la composición varietal del mosto. También en algunos países la variedad predominante es la propia identidad del vino. Esto ocurre porque las variedades de vid utilizadas para producir los mostos, dan principalmente las características finales a los vinos. Ultimamente la producción de vinos se está diversificando y se intentan recuperar variedades tradicionales, pero todavía existe un diferente valor comercial entre unas variedades y otras.

Por lo tanto, la identificación de las variedades utilizadas en la elaboración de los vinos, ya sean monovarietales o mezclas, es de suma importancia. Esta diferencia en el valor comercial que alcanzan determinadas variedades ha conducido a la industria vitivinícola a la búsqueda de métodos más precisos de identificación.

La identificación con marcadores moleculares de ADN ya se está utilizando en la caracterización de las variedades de vid, y son estos mismos marcadores los que se pueden aplicar para la identificación de los mostos, con métodos más precisos de extracción del ADN.

La autenticidad de los ingredientes es un asunto que concierne a toda la industria alimenticia y no sólo a la industria vitivinícola. El etiquetado de las botellas de vino está regulado en todos los países y en sus respectivas denominaciones de origen (DO). Cada DO es la que determina las variedades de vid permitidas en la elaboración de los vinos tintos, rosados y blancos. Por tanto, todas las DO están

(SDS-PAGE), se ha utilizado a la hora de dilucidar las proteínas específicas de los vinos. Sín embargo, estas metodologías requieren mucho tiempo, pero sobre todo la mayoría de ellas no dan respuesta al origen botánico de la variedad de vid utilizada en la elaboración del mosto.

En las pasadas décadas la tecnología basada en los marcadores de ADN se ha aplicado en la identificación de todos los organismos vivos, ya sean del reino animal como vegetal y se plantea como alternativa a los métodos tradicionalmente utilizados en la identificación de los vinos.

La tecnología del ADN ya se aplica en la industria alimenticia, en muchos productos manufacturados, a raíz del desarrollo y elaboración de alimentos con compuestos procedentes de organismos modificados genéticamente (OMG). Debido en parte al etiquetado impuesto por la normativa europea, la tecnología del ADN se utiliza como control. En la industria cervecera se utilizan levaduras transgénicas con determinadas características que también podrían ser utilizadas en la industria vitivinícola. Así mismo, en algunos países ya se están realizando experimentos con variedades de vid manipuladas genéticamente para la resistencia a ciertas enfermedades. En todos los casos, el ADN se puede estudiar para distinguir los organismos manipulados de los que no.

Esta tecnología se basa en la extracción y purificación de los ácidos nucleicos (ADN y ARN) presentes en el núcleo de la célula vegetal o de cualquier célula de



Nave de barricas de Grandes Vinos y Viñedos, en Cariñena.

Todas las variedades tendrán un perfil genético único que podrá ser identificado a su vez en el mosto y el vino»

un organismo vivo y el estudio de las secuencias que componen los fragmentos de ADN.

Con el avance de la biología molecular se han desarrollado diferentes marcadores moleculares, basados en la amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Algunos de estos marcadores, ya se han utilizado en la caracterización de variedades de vid. Entre ellos los más utilizados, hasta hace relativamente poco tiempo, eran los marcadores RAPDs, fragmentos polimórficos amplificados al azar. Últimamente se han desarrollado otros marcadores, los microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR) en la cadena de ADN.

Los microsatélites (SSR) son secuencias de ADN que contienen repeticiones en tándem de dos, tres, hasta seis nucleótidos. Al ser muy numerosos y estar dispersos en el genoma en número variable de repeticiones, son capaces de generar polimorfismos, dando mucha información y fácilmente detectables por PCR. Cada uno de estos microsatélites se amplifica con un cebador específico y los fragmentos generados se separan por tamaños. La separación de los distintos fragmentos crea un código de barras específico y diferente en cada individuo.

Los microsatélites ya están siendo utilizados en la identificación de las variedades de vid de varias colecciones españolas, incluyendo tanto las variedades autóctonas como las más utilizadas en la elaboración de vinos. Una vez realizada la identificación, cada una de ellas tendrá un perfil único que variará en grosor y longitud, es decir, tendrán su huella genética que podrá ser comparada con el ADN presente en el mosto y el vino.

La detección de estos fragmentos de ADN, no es un problema si se dispone de una pequeña cantidad de ADN de mínima calidad que pueda servir de diana para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y con el obtener más copias.

El ADN presente en el mosto, viene principalmente de los racimos de uva. Estos están formados por el racimo propiamente dicho y por el grano de uva, incluido el raspón, la pulpa, las pipas y los hollejos que son las partes que contienen células vegetales con ADN. Estos órganos son los que se utilizan en el estrujado y prensado para la obtención del mosto. Además estos órganos están compuestos por agua, taninos, azúcares, ácidos, polifenoles, etc. Una vez eliminados estos compuestos, que a menudo inhiben además la reacción de la PCR, se puede obtener un ADN de calidad y cantidad suficiente durante y después de la fermenta-



ción, susceptible de ser identificado. El mosto durante la fermentación sufre una serie de transformaciones bioquímicas y terminada ésta el vino sufre toda una serie de procesados industriales, como la clarificación y filtración con el objetivo de conseguir un producto final de calidad

En este proceso de fermentación del mosto, intervienen otros organismos vivos, las levaduras, principalmente del género Saccharomyces, responsables de la fermentación alcohólica, y el microorganismo Oenococcus oeni, responsable de la fermentación maloláctica. El ADN de estos organismos está también caracterizado con otros marcadores moleculares, debido a su importancia en la elaboración de los vinos, y también detectables a través de la PCR. Por tanto, se puede distinguir si el ADN residual recuperado durante y después de la fermentación procede de uno u otro organismo, mediante la amplificación con cebadores específicos para cada uno de ellos.

Por lo tanto, es posible la monitorización del ADN presente en el mosto, extrapolando la identificación del ADN de las variedades de vid a la identificación del ADN residual en el mosto y el vino.

Algunas compañías ya están utilizando estas huellas genéticas como medidas de seguridad para evitar el fraude en los vinos de calidad. Por tanto, es posible que en un futuro la tecnología del ADN termine considerándose como herramienta imprescindible en la identificación de los vinos, al igual que ya ocurre en muchos campos de la medicina, la agricultura y la industria.