

# GENSKO SPREMENJENI ORGANIZMI V ŽIVILIH

## Narava, označevanje in določanje

# GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS IN FOODS

## Nature, labelling and determination

*Stanislava Kirinčič<sup>1</sup>*

Prispelo: 10. 3. 2004 – Sprejeto: 4. 6. 2004

Pregledni znanstveni članek  
UDC 577.2:366.5

### Izvleček

*Gensko spremenjeni organizmi in njihovi proizvodi se danes uporabljajo za namen živil predvsem kot gensko spremenjene rastline. Gensko spremenjena rastlina je tista rastlina, pri kateri je bil gen ali več genov iz različnih vrst organizmov, ki niso nujno v sorodu z rastlino, stabilno vključen v rastlinski genetski material z eno od metod genskega inženirstva. Namen takšnega spreminjanja je vzgojiti bolj produktivne, na različne bolezni in škodljivce odporne rastline in izboljšati oziroma spremeniti kakovost proizvodov, v primerjavi s prejšnjimi kultivarji. Kljub globalnemu trendu rasti pridelovanja gensko spremenjenih rastlin, javno mnenje kaže odklonilen odnos do gensko spremenjene hrane. Evropska unija je zato razvila strogo zakonodajo za urejanje področja gensko spremenjenih živil, ki med drugim predpisuje izdajanje dovoljenj za pridelovanje in dajanje na trg, ocenjevanje tveganja za zdravje ljudi, označevanje in sledenje ter posledično tudi razvijanje analitskih metod za določanje vsebnosti gensko spremenjenih organizmov v živilih.*

**Ključne besede:** gensko spremenjeni organizmi, živilo, gensko spremenjene rastline, zakonodaja, označevanje, določanje

Review article  
UDC 577.2:366.5

### Abstract

*Today, genetically modified (GM) plants are the most commonly used food among GM modified organisms and their product used as food. Into the genetic material of these plants, a gene or several genes of different species, not necessarily related to plants, have been stably introduced using one of the methods of genetic engineering. The purpose of this modification is to breed more productive and pest-resistant plants, or to produce products of better or different quality than those grown by previous cultivars. Contrary to the global trend of increased production of GM plants, overall public opinion remains negative towards GM foods. The European Union therefore adopted strict legislation, which, in addition to other issues, regulates authorization for producing and placing onto the market GM foods. In addition, it is concerned with assessment of risks of GM organisms to human health, as well as with labelling, traceability and, consequently, with the development of analytical methods for detection of GM organisms in foods.*

**Key words:** genetically modified organisms, food, genetically modified plants, legislation, labelling, determination

---

<sup>1</sup>Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije, Trubarjeva 2, 1000 Ljubljana  
Kontakni naslov: e-pošta: stanka.kirinic@ivz-rs.si

## Uvod

Genetsko spremenjena živila so danes predmet številnih raziskav, saj je skrb za varno in zdravo hrano pogoj za kakovostno življenje. Ljudje z različnih področij delovanja imajo različna, tudi nasprotujoča si mnenja o genetsko spremenjenih živilih (1). Razlike v mnenjih nastajajo zaradi različnega poznavanja oziroma nepoznavanja narave genske modifikacije in zaradi različnih interesov vpletenih strani. Kljub globalnemu trendu rasti pridelovanja genetsko spremenjenih rastlin, imajo Evropejci že nekaj let odklonilen odnos do genetsko spremenjenih živil (2). Nezaupanje potrošnikov do tovrstne hrane je privedlo do previdnega pristopa k problemu in do razvoja stroge zakonodaje v Evropski uniji. Povečana potreba po nadzoru nad živilom je narekovala tudi razvoj metod za določanje genetsko spremenjenih organizmov v živilih.

## 1. Narava genetsko spremenjenih organizmov v živilih

### 1. 1. Genetsko spremenjeni organizmi in živila

Za prehranjevanje ljudi se med vsemi vrstami genetsko spremenjenih organizmov danes večinoma uporabljajo genetsko spremenjene rastline. Najbolj znan primer vzgajanja genetsko spremenjenih živali so ribe (npr. losos, tilapia, krap) z vgrajenim genskim konstruktom za povečano hitrost rasti (3, 4). Uporaba genetsko spremenjenih živali za prehranjevalne namene danes še ni dovoljena v Evropski uniji in tudi ne v Združenih državah Amerike (5). Nadaljevanje tega prispevka je posvečeno genetsko spremenjenim rastlinam v živilih.

### 1. 2. Genetsko spremenjeni organizmi in gensko spreminjanje

Z imenom genetsko spremenjeni organizmi (GSO) opisujemo tiste organizme, katerih genetski material je bil spremenjen na način, ki se ne pojavlja v naravi pod naravnimi pogoji navzkrižnega žlahtnjenja ali naravne rekombinacije (6). GSO sam zase mora biti biološka enota, ki se je možna razmnoževati sama oziroma sama prenašati dedni material.

Na primeru rastlin se ime genetsko spremenjeni organizem nanaša na rastline, pri katerih je bil gen ali več genov iz različnih vrst organizmov, ki niso nujno v sorodu z rastlino, stabilno vključen v rastlinski genetski material, z uporabo tehnik genetskega inženirstva in

kjer je pri večini primerov prišlo do izražanja vključenega gena v proizvod, to je beljakovino (6). Proces vključevanja genov v nesorodne vrste imenujemo genska transformacija.

### 1. 2. 1. Tradicionalni postopki hibridizacije pri rastlinah

Vsi kultivarji pridelkov, katerim so danes spreminjali genski material s tradicionalnimi postopki hibridizacije, so spremenjeni z namenom, da bi vzgojili bolj produktivne, na različne bolezni ter škodljivce odporne rastline ali da bi pridobili boljšo oziroma drugačno kakovost proizvodov, v primerjavi s kultivarji pred tem (7). Takšne spremembe, ki so se dogajale od začetka udomačevanja rastlin do danes, vključujejo izmenjavo genov med sorodnimi vrstami. Poglavitna pomanjkljivost tradicionalnih postopkov hibridizacije in selekcije je v tem, da žlahtnitelji prenašajo in rekombinirajo celotne genome in s tem potencialno vnašajo neželene lastnosti. Razen tega je razločevanje in izbiranje genetsko stabilnih vrst s postopki tradicionalne hibridizacije dolgotrajen proces.

### 1. 2. 2. Genetsko inženirstvo rastlin

V zadnjih desetletjih je postalo mogoče s pomočjo tehnologije rekombinantne DNA (deoxyribonucleic acid) proizvajati organizme z izmenjavo genov med vrstami, ki same v naravi ali s tradicionalnimi postopki hibridizacije ne morejo izmenjavati dednega materiala. Tehnologija rekombinantne DNA je imela in ima cilj zmanjšati neželene lastnosti proizvodov tradicionalne hibridizacije (7).

Obstajata dve glavni skupini metod genetskega inženirstva rastlin (6). Starejša tehnologija, razvita v osemdesetih letih prejšnjega stoletja, uporablja za vključevanje zanimivih genov v rastlino gostiteljico bakterijsko vrsto *Agrobacterium tumefaciens*. *Agrobacterium tumefaciens* je mikroorganizem, znan že od začetka 20. stoletja kot povzročitelj raka koreninskega vratu, to je bolezni rastlin dvokaličnic. V naravi ima *Agrobacterium tumefaciens* izjemno sposobnost prenašanja določenega odseka DNA (T-DNA) iz svojega plazmida (Ti-plazmid), ki povzroča tumor, v jedra okuženih celic, kjer se ta stabilno integrira v genom gostiteljice, ob hkratni ohranitvi sposobnosti prepisovanja. Znanstveniki so izkoristili dejstvo, da se lahko katera koli tuja DNA, ki je vstavljena med mejama odseka T-DNA, prenese v rastlinske celice. Tako so razvili vrste *Agrobacterium*, v katerih so gene za povzročitev bolezni nadomestili s specifično izbrano DNA. *Agrobacterium tumefaciens* naravno okuži le

rastline dvokaličnice, zato je veliko število ekonomsko pomembnih rastlin enakolačnic, vključno z žiti, za dolgo časa ostalo nedosegljivih za tovrstno gensko manipulacijo. Za te primere so bile razvite alternativne metode neposredne transformacije (neposredne vključitve genoma v organizem), kot so: mikroinjiciranje, fuzija celic (vključno s fuzijo protoplastov) in tehnologija genske pištrole oziroma genskega obstreljevanja (biolistika). Pri metodi z gensko pištolo so rastlinske celice tarča za obstreljevanje z mikroskopsko majhnimi, z DNA pokritimi volframovimi delci.

Transformacija s pomočjo bakterije *Agrobacterium tumefaciens* ima veliko prednosti pred metodami neposredne transformacije. Omogoča manjše število kopij transgena, kar potencialno vodi v manj problemov, povezanih z vzporednim utišanjem ali nestabilnostjo transgena.

V obeh primerih so celice (tiste, ki so okužene z *Agrobacterium*, ali tiste, ki so obstreljene z biolistično pištolo) obnovljene v novo rastlino, ki nosi nov gen ali več novih genov. Nove rastline najprej testirajo, sledi namnoževanje (največkrat s kloniranjem), na koncu postopka pa rastline razvijejo semena za novo generacijo gensko spremenjenih rastlin.

### 1. 2. 3. Značilnost genskega konstrukta v rastlinah

Genska modifikacija rastlin poteka z vstavitvijo majhnih delcev DNA iz različnih živih organizmov v genom rastline, ki jo želimo modifikirati. Značilnost genskega konstrukta je, da je sestavljen iz treh osnovnih elementov (8):

- **promotor** ima funkcijo prižiganja oziroma ugašanja aktivnosti vgrajenega/modificiranega gena v rastlini gostiteljici;
- **strukturni gen** je del vstavljenega/modificiranega gena, ki kodira izbrano specifično lastnost;
- **terminator** je nukleotidno zaporedje, ki ima funkcijo signala za zaustavitev transkripcije vgrajenega/spremenjenega gena.

Lahko so vgrajeni tudi označevalni geni, ki služijo za kasnejše razlikovanje gensko spremenjenih rastlin od nespremenjenih rastlin v procesu njihovega testiranja; prav tako so lahko prisotni tudi ostanki DNA, ki izvirajo iz plazmidov za sestavljanje genskih konstruktov.

Slika 1 shematično prikazuje genski konstrukt soje Roundup Ready® (RR® soja), katere prijavitelj je Monsanto Canada Inc.; starševska rastlina je soja *Glycine max L.*(9). Nova vrsta, soja RR®, ima vgrajeno lastnost tolerance na glifosat, ki je aktivna sestavina herbicida Roundup®. Genska modifikacija je bila izvedena s pomočjo biolistike, to je z obstreljevanjem z delci, prekritimi z DNA. Sojo Roundup Ready® bi uporabljali za proizvodnjo živalske krme in za človekovo prehrano, tudi v obliki olja, kot vir različnih beljakovin in kot vir prehranskih vlaknin.

Soja Roundup Ready® vsebuje transgen (gensko kaseto EPSPS CTP), ki omogoča toleranco na herbicid glifosat. Glifosat, aktivna sestavina herbicida Roundup®, igra vlogo kompetativnega inhibitorja 5-enol-piruvil-šikamat-3-fosfat-sintaze (EPSPS), ki je esencialni encim šikamatne biokemične poti, vključen v izdelavo aromatskih aminokislin: fenilalanin, tirozin in triptofan. Inhibicija EPSPS povzroča zaviranje rasti in smrt rastline. Vstavljeni gen za toleranco na glifosat kodira bakterijsko verzijo tega esencialnega encima, ki je sicer prisoten tudi v rastlinah, plesnih in mikroorganizmih. Encim je zelo neobčutljiv na inhibicijo z glifosatom in tako zadovoljuje potrebo rastline po aromatsko aminokislinskih metabolnih poteh tudi v navzočnosti herbicida. To omogoča uporabo bistveno manjših količin herbicida, na katerega je sicer plevel zelo občutljiv.

Ob EPSPS-sekvenco je vstavljena rastlinska DNA-sekvenco, ki kodira prenos beljakovin iz kloroplasta (chloroplast transit peptide - CTP). Signalni peptid pospešuje vnos na novo prepisane EPSP-sintaze v kloroplast, kjer je locirana šikamatna pot. EPSPS-gen, povezan z vezno sekvenco CTP, je uravnavan z močnim ključnim promotorjem iz cvetačnega mozaičnega virusa (P-CaMV E35S) in se končuje z genskim terminatorjem nopalin-sintaze (t-nos) iz bakterije *Agrobacterium tumefaciens*.

Geni, ki so vgrajeni v različne rastline, so lahko iz istega vira. Gen, ki kodira 5-enol-piruvil-šikamat-3-fosfat-sintazo (EPSPS) iz vrste CP4 bakterije *Agrobacterium tumefaciens*, katerega rezultat je toleranca na glifosatne herbicide, je bil vstavljen tudi v oljno repico, sojo, koruzo, bombaž, krompir in sladkorno peso. Prve



Slika 1. Shematičen prikaz genskega konstrukta na primeru RR® Soja (9).

Figure 1. Schematic representation of a genetic construct on a case of RR Soja (9).

transgenske rastline so imele vgrajeno samo eno lastnost, vse več transgenskih vrst pa ima danes vgrajenih več različnih lastnosti.

Rastline, ki že imajo vgrajeno določeno lastnost, lahko nadalje uporabljamo kot genske donorje ali nosilce pri ponovnem križanju rastlin v tvorbi t.i. gensko ojačanih hibridov (10).

### 1. 3. Prednosti in pomanjkljivosti genskega spreminjanja rastlin

Večina obstoječih GS rastlin so razvili z namenom, da postanejo tolerantne na herbicide ali da postanejo odporne na insekte in viruse. Ostali geni, ki jih vstavljajo, kodirajo različne agronomske lastnosti, kot so na primer zakasnjeno zorenje in zakasnjeno mehčanje paradižnika, prilagoditve na neugodne pogoje rasti in spremenjene prehranske lastnosti, kot so na primer spremembe sestave sojinega olja ali druge prehranske izboljšave, kot je na primer dodana lastnost za vitamin A v zlatem rižu (7).

Naštete prednosti transgenskih rastlin naj bi koristile tako kmetijsko-predelovalni industriji, a tudi potrošnikom in okolju. Potrošniki, predvsem v Evropi, dajejo prednost izboljšavam v korist potrošnika in okolja, manj pa koristim proizvajalcev oziroma trgovcev (2).

Zadnja leta je bilo izraženih veliko pomislekov glede varnosti gensko spremenjenih živil. Veliko teh je špekulativne narave, z malo oziroma nič znanstvene podlage, nekatere pa so vseeno povzročile veliko debat tako v znanstvenih krogih kot v javnosti. Največje skrbi glede varnosti uživanja gensko spremenjene hrane so povezane z vprašanjem o možnosti pridobljene rezistence črevesnih bakterij na antibiotike in z možno alergenošjo in toksičnostjo tovrstnih živil (7). Veliko

skrbi je bilo izraženih tudi o možnih negativnih posledicah gojenja gensko spremenjenih rastlin na naravno okolje, zlasti v povezavi s potencialnim zmanjševanjem biotske raznovrstnosti (11).

### 1. 4. Prisotnost gensko spremenjenih rastlin na poljih po svetu

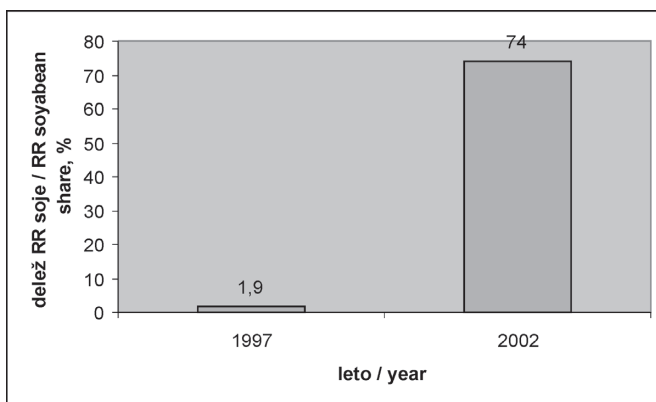
V zadnjih letih zasledimo, da v svetu naglo narašča pridelovanje gensko spremenjenih rastlin. Dežele z največjimi površinami z GS pridelki po padajočem vrstnem redu so: ZDA, Argentina, Kanada, Kitajska in Avstralija (10). Samo površine, zasajene z GS rastlinami v pravkar naštetih deželah, predstavljajo 99 % vseh obdelovalnih površin, zasajenih z GS rastlinami na svetu (10). Transgenske rastline, ki zavzemajo največje površine svetovnih polj, so: soja (podatki iz leta 2000: 28,8 milijonov ha), koruza (10,3 milijonov ha), bombaž (5,3 milijonov ha) in oljna repica (2,8 milijona ha) (10).

V ZDA je delež posejane RR@soje v primerjavi z gensko nespremenjeno sojo, samo v šestih letih, to je od l. 1997 do l. 2002, narasel od 1,9% na 74,0%; v nekaterih državah ZDA celo na 90% (12).

## 2. Zakonodaja gensko spremenjenih živil s poudarkom na označevanju

### 2. 1. Potreba po zakonski ureditvi gensko spremenjenih živil

Živila, ki so sestavljena iz GSO ali vsebujejo sestavine, proizvedene iz GSO in ki se nahajajo na



Slika 2. Delež RR@soje v ZDA l. 1997 in l. 2002 (10).

Figure 2. Proportion of RR@soyabean in the U.S.A. in 2002 (10).

trgu Evropske unije, so morala za vsak primer GSO posebej skozi strog in zapleten postopek ocene tveganja (13). Države ameriške celine so v primerjavi z EU precej liberalne glede sproščanja gensko spremenjenih živil na njihove trge (14). Po drugi strani rezultati raziskav javnega mnenja kažejo trend povečevanja nezaupanja ljudi do tovrstne hrane (2). Ljudje na različnih področjih delovanja (potrošniki, pridelovalci, znanstveniki, živilska industrija, politika) imajo različna mnenja o sprejemljivosti pridelovanja in predelovanja hrane s pomočjo genske tehnologije. Razlike v mnenjih nastajajo zaradi različnega poznavanja oziroma nepoznavanja narave genske modifikacije organizmov, zaradi različnih interesov vpletenih strani in zaradi drugih dejavnikov. EU je spoznala, da je najboljši pristop k reševanju problema sprejemanja gensko spremenjene hrane takšen, da se potrošniku ponudi pravica izbire. Izbira je možna, če so na predpakiranih gensko spremenjenih živilih oznake o vsebnosti GSO, kar pomeni, da mora biti označevanje urejeno s predpisi, ki posledično zahtevajo določanje vsebnosti gensko spremenjenih organizmov v živilih s primernimi analitskimi metodami in sledljivost tovrstnih izdelkov.

## 2. 2. Evropska zakonodaja GSŽ

Uporaba gensko spremenjenih organizmov, to je njihovo sproščanje v okolje, gojenje, uvoz in posebno njihova uporaba za živila in sestavine živil, je v Evropski uniji regulirana z vrsto strogih predpisov. Evropska zakonodaja obravnava GSO, ki se uporabljajo za živila, krmo in semena (15).

### 2. 2. 1 . Razvoj evropske zakonodaje GSŽ

Glavni zakonski instrument kot horizontalni zakonski okvir za biotehnologijo v EU je direktiva 90/220/EEC, ki obravnava preiščeno sproščanje GSO v okolje.

V okviru vertikalne zakonodaje je nastala regulativa o novih živilih in o novih sestavinah živil (Regulation EC No 258/97), ki postavlja pravila za avtorizacijo in označevanje novih živil, vključno z živilskimi proizvodi, ki vsebujejo, so sestavljeni iz ali so proizvedeni iz GSO. Na osnovi regulative EC št. 258/97 so lahko odobreni proizvodi, pridobljeni iz gensko spremenjenih surovin, ki nič več ne vsebujejo GSO, vendar na osnovi poenostavljenega postopka z zahtevo po snovni enakovrednosti. Proizvodi, pridobljeni iz gensko spremenjenih surovin, ki nič več ne vsebujejo GSO, so snovno enakovredni obstoječim živilom, če so enakovredni glede sestave, prehranske vrednosti,

metabolizma, nameravane uporabe in glede neželenih snovi.

Označevanje živil in sestavin živil, ki izhajajo iz ene vrste gensko spremenjene koruze in ene vrste gensko spremenjene soje (direktiva 90/220/EEC), ki ne spadata pod regulativo EC št. 258/97, je bilo urejeno z regulativo EC št. 1139/98. Označevanje je bilo osnovano na prisotnosti deoksiribonukleinske kisline (DNA) ali beljakovin, ki so posledica genske modifikacije. Merilo prisotnosti DNA ali beljakovin je služilo kot model za označevanje vseh živil in sestavin živil, ki izvirajo iz GSO.

Regulativa EC 49/2000 obravnava naključno prisotnost GS materialov v konvencionalni hrani. Vpeljuje 1-odstotno mejo za naključno prisotnost DNA ali beljakovin, ki izvirajo iz genske modifikacije, pod katero označevanje ni zahtevano. Pri ugotovljeni vsebnosti GS materiala pod 1 % morajo nosilci živilske dejavnosti dokazovati naključno prisotnost GSO.

Regulativa EC 50/2000 predpisuje označevanje aditivov in arom, če je GS DNA ali GS beljakovina prisotna v končnem proizvodu.

Zaradi tehničnega napredka in vse večje skrbi javnosti o potencialnih negativnih posledicah za človekovo zdravje in okolje, povzročenih z GSO, je bila direktiva 90/220/EEC nadgrajena z direktivo 2001/18/EC, ki uveljavlja postopek za izdajanje dovoljenj korak za korakom in oceno tveganja za človekovo zdravje in okolje za vsak primer posebej, preden je dovoljeno sproščanje GSO ali proizvoda, ki je sestavljen iz GSO, na trg ali v okolje. Direktiva 2001/18/EC obravnava razvoj vertikalne (sektorske) zakonodaje, v katero so vključeni postopki ocene tveganja, vodenja tveganja in označevanja.

### 2. 2. 2. Nova evropska zakonodaja GSŽ s poudarkom na označevanju

Regulativa 1829/2003/EC, ki je bila izdana 22. septembra 2003 in se je začela uporabljati 18.04.2004, ustvarja pogoje za visoko raven varovanja človekovega zdravja, zdravja živali, okolja in interesov potrošnikov ter zagotavlja učinkovito delovanje notranjega trga. Predpisuje enotnejše postopke za avtorizacijo, nadzor in označevanje GS živil in krme. Krepijo se pravila glede označevanja GS živil:

- označena morajo biti tudi živila, proizvedena iz GS surovin, četudi te ne vsebujejo GS DNA oz. beljakovin (npr. rafinirana olja), s čimer je poudarjena pravica potrošnikov do izbire;
- postavljena je nova 0,9-odstotna mejna vsebnost za oznaki: "vsebuje GSO" ali "proizveden iz GSO".

Za proizvode, pri katerih ta vsebnost ni večja od 0,9 %, živil ni potrebno označiti pod pogojem, da se dokaže, da je tako nizka prisotnost naključna oziroma tehnično neizogibna;

- postavljena je prehodna 0,5-odstotna mejna vrednost za prisotnost tistih GS materialov v živilih, krmi ali namenjenih za proizvodnjo, ki so pridobila ugodno oceno tveganja pri Znanstvenem odboru Evropske agencije za varnost živil, toda niso bila dokončno odobrena za dajanje na trg ob pogoju, da so zagotovljene metode detekcije. Prehodna mejna vrednost je omejena na obdobje treh let.

Regulativa 1830/2003/EC, ki je bila izdana 22. septembra 2003 in se je začela uporabljati 18. 4. 2004, opredeljuje pogoje za sledljivost živil in krme, ki se sestojijo ali so proizvedeni iz GSO, s poudarkom na natančnem označevanju, spremljanju učinkov na okolje in, kjer je potrebno, tudi učinkov na zdravje. Transparentnost in hranjenje zapisov bo zmanjšalo potrebo po vzorčenju in analizi proizvodov. Regulativa vpeljuje uporabo t.i. vodenje tveganja (risk management), ki predvideva odstranjevanje proizvodov iz prometa, če bi to bilo potrebno.

### 2. 2. 3. Dovoljeni GSO v živilih na trgu EU

Na osnovi regulative o GS živilih in krmi, ki pokriva sestavine novih živil in nove krme (Regulation (EC) No 1829/2003), se lahko na trgu Evropske unije legalno trguje s proizvodi iz 17 vrst GSO za uporabo v živilskih proizvodih (15,16). To so:

- ena vrsta GS soje (soja Roundup Ready) in ena vrsta GS koruze (kоруza Maximizer: Bt-176), ki sta bili odobreni na osnovi direktive 90/220/EEC, še preden je stopila v veljavo regulativa o novih živilih 258/97;
- procesirana živila, ki izhajajo iz 7 vrst GS oljne repice (procesirana olja), iz 4 vrst GS koruze in olje iz dveh vrst GS bombažnega semena; ti proizvodi so bili vsi notificirani kot snovno enakovredni v skladu z regulativo o novih živilih 258/97;
- uporaba vitamina B<sub>2</sub> iz gensko spremenjenega mikroorganizma *Bacillus subtilis*;
- konzervirana GS sladka korusa Bt 11 (16); Evropska komisija je odobrila njen uvoz dne 19. 5. 2004.

Trenutno je nerešenih 8 prošenj na različnih stopnjah avtorizacijskih postopkov, ki vključujejo proizvode iz GS koruze, sladkorne pese in soje. Seznam GSŽ, ki so dovoljena v EU, je prikazan v Tabeli 1.

## 2. 3. Slovenska zakonodaja

V Sloveniji so bili do danes sprejeti naslednji zakoni in predpisi, ki so povezani s področjem GSO v živilih in krmi:

- Zakon o zdravstveni ustreznosti živil in izdelkov ter snovi, ki prihajajo v stik z živilo, Ur. l. RS št. 52/2000 in 42/2002;
- Zakon o krmi, Ur. l. RS št. 13/2002;
- Zakon o ravnanju z gensko spremenjenimi organizmi, Ur. l. RS št. 67/2002;
- Zakon o semenskem materialu kmetijskih rastlin, Ur. l. RS št. 58/2002;
- Pravilnik o novih živilih, Ur. l. RS št. 105/2002;
- Pravilnik o označevanju živil, izdelanih iz gensko spremenjene soje in gensko spremenjene koruze, Ur. l. RS št. 105/2002;
- Pravilnik o označevanju živil in sestavin živil, ki vsebujejo aditive in arome, ki so gensko spremenjeni ali so izdelani iz gensko spremenjenih organizmov, Ur. l. RS št. 105/2002.

Našteti slovenski zakoni in predpisi so bili usklajeni z veljavno evropsko zakonodajo v času njihove izdaje. Gensko spremenjena živila morajo biti označena v skladu z naštetimi akti od 1. januarja 2004. Slovenski akti so bili sprejeti pred 22. septembrom 2003, zato zahteve evropskih regulativ 1829/2003 in 1830/2003 vanje niso vključene, vendar z dnem pristopa Slovenije k Evropski uniji njihove določbe veljajo tudi pri nas.

## 3. Določanje gensko spremenjenih rastlin v živilih

### 3. 1. Potreba po metodah za določanje GSO v živilih

Določanje vsebnosti gensko spremenjenih organizmov v živilih je potrebno zaradi zakonskih zahtev Evropske unije po posebnem označevanju tistih GSO v živilih, ki so v EU dovoljeni, in zaradi preprečevanja trgovanja in uporabe tistih GSO v živilih, ki v EU niso dovoljeni.

### 3. 2. Metode določanja GSO

GSO v vzorcu lahko določimo, če poiščemo tiste lastnosti, po katerih se gensko spremenjena vrsta organizma razlikuje od istovrstnega starševskega gensko nespremenjenega organizma (17).

Zap. št. No.	Namen uporabe Use	GSO GMO	Lastnost Characteristics	Leto odobritve Year of authorization	Predpis Regulation
1.	živila in procesirana živila foods and processed foods	GS soja Roundup Ready (GTS 40/3/2) FM soyabean Roundup Ready (GTS 40/3/2)	zaščita pred insekti in toleranca na herbicid insect-protected and herbicide-tolerant	1996	90/220/EEC
2.	živila in procesirana živila foods and processed foods	GS koruza Bt-176 GM corn Bt-176	zaščita pred insekti in toleranca na herbicid insect-protected and herbicide-tolerant	1997	90/220/EEC
3.	procesirano olje processed oil	GS oljna repica TOPAS 19/2 GM oil rape TOPAS 19/2	Toleranca na herbicid herbicide-tolerant	1997	(EC) No. 258/97
4.	procesirano olje processed oil	GS oljna repica MS1/RF2 GM oil rape MS1/RF2	Toleranca na herbicid herbicide-tolerant	1997	(EC) No. 258/97
5.	procesirano olje processed oil	GS oljna repica MS1/RF1 GM oil rape MS1/RF1	Toleranca na herbicid herbicide-tolerant	1997	(EC) No. 258/97
6.	procesirano olje processed oil	GS oljna repica GT73 GM oil rape GT73	toleranca na herbicid herbicide-tolerant	1997	(EC) No. 258/97
7.	procesirano olje processed oil	GS oljna repica Falcon GS 40/90 GM oil rape Falcon 40/90	toleranca na herbicid herbicide-tolerant	1999	(EC) No. 258/97
8.	procesirano olje processed oil	GS oljna repica Liberator L62 GM oil rape Liberator L62	toleranca na herbicid herbicide-tolerant	1999	(EC) No. 258/97
9.	procesirano olje processed oil	GS oljna repica MS8/RF3 GM oil rape MS8/RF3	toleranca na herbicid herbicide-tolerant	2000	(EC) No. 258/97
10.	procesirana živila processed foods	GS koruza MON 810 GM corn MON 810	zaščita pred insekti insect-protected	1998	(EC) No. 258/97
11.	procesirana živila processed food	GS koruza T25 GM corn T25	toleranca na herbicid herbicide-tolerant	1998	(EC) No. 258/97
12.	procesirana živila processed foods	GS koruza Bt11 GM corn Bt11	zaščita pred insekti insect-protected	1998	(EC) No. 258/97
13.	procesirana živila processed foods	GS koruza MON 809 GM corn MON 809	zaščita pred insekti insect-protected	1998	(EC) No. 258/97
14.	procesirano olje processed oil	GS bombaž - linija 1445 GM cotton - line 1445	toleranca na herbicid herbicide-tolerance	2002	(EC) No. 258/97
15.	procesirano olje processed oil	GS bombaž - linija 531 GM cotton - line 531	zaščita pred insekti insect-protected	2002	(EC) No. 258/97
16.	vitamin B <sub>2</sub>	GS <i>Bacillus subtilis</i> - pRF69/pRF93	riboflavin	2000	(EC) No. 258/97
17.	konzervirana sladka koruza canned sweet corn	GS koruza Bt 11 GM corn Bt 11	zaščita pred insekti insect-protected	2004	(EC) No. 258/97

Tabela 1. Seznam GSO, ki so dovoljeni za uporabo v živilskih proizvodih v EU (15, 16).

Table 1. A list of authorized GMOs used in foodstuffs in the EU (15, 16).

GSO lahko identificiramo z določanjem vstavljenega genskega materiala na ravni DNA (deoksiribonukleinska kislina), z določanjem prepisa novo vstavljenega gena na ravni mRNK ("messenger" ribonukleinska kislina), z določanjem nove beljakovine, ki je rezultat novo vstavljenega gena, z določanjem novega metabolita in z določanjem novih fenotipskih lastnosti organizma (10). Rastlinske materiale analiziramo na splošno s polimerazno verižno reakcijo ("polimerase chain reaction", skrajšano PCR), s katero ugotovimo vstavljeno DNK, z imunoencimskimi testi, s katerimi ugotovimo nov protein (npr. ELISA – "Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay") ali z uporabo bioloških testov, s katerimi ugotovimo nastali fenotip (npr. herbicidni biološki testi). Čeprav v zadnjem času zasledimo velik napredek pri razvoju genetskih analiznih metod, kot na primer metod PCR, se razvijajo tudi mnoge druge analitske tehnike, ki skušajo reševati trenutno nerešene probleme analitike GSO. Te metode vključujejo masno spektrometrijo, kromatografijo, bližnjo (»near«) infra rdečo spektroskopijo, mikro sestavljene priprave (»micro fabricated devices«) in še posebej obetajočo tehnologijo DNA-čipov oziroma mikromrež.

Danes se za določanje GSO široko uporablja le tehnika PCR kot splošno sprejeta metoda za uradni nadzor; manj pogosto se uporablja tehnika ELISA.

### 3. 2. 1. Določanje GSO s tehniko PCR

Tehnika PCR omogoča selektivno pomnoževanje specifičnih segmentov DNA, ki se pojavljajo v nizki pogostnosti v kompleksni mešanici drugih sekvenc (18). PCR poteka s pomočjo majhnih komplementarnih delčkov DNA, ki jih imenujemo začetni oligonukleotidi (primerji). "Primerje" uporabljamo v parih in so izdelani tako, da se hibridizirajo na obrobni zaporedji nasprotnih verig tistega gena, ki nas zanima. Skozi serijo ponavljanja ciklov razdvajanja verig DNA, prileganja "primerjev" in podvajanja verig DNA, specifična DNA polimeraza pomnožuje sekvenco med obema "primerjema". Pomnožene odseke analiziramo z elektroforezo v primeru klasične PCR-tehnike oziroma spektrofotometrično v primeru PCR v realnem času (»Real Time PCR«). Rezultati določanja GSO z metodami PCR so lahko odsotnost ali prisotnost GSO v vzorcu, določitev specifičnega GSO v vzorcu in tudi določitev količine (relativnega deleža) specifičnega GSO v vzorcu.

Osnova za določanje GSO s tehniko PCR je poznavanje vrste genske modifikacije, vključno z molekularno kozmetiko vstavljenega gena skupaj z regulacijskimi elementi (promotorji in terminatorji) (19). Za analizo je

potrebna minimalna količina vzorca, ki vsebuje nepoškodovani del tarčne DNA. PCR je laboratorijska tehnika, ki zahteva dobro izvežbano osebje in specializirano opremo. Metoda je izjemno občutljiva, zmožna detekcije ene ali samo nekaj kopij gena v celotnem genomu. Posledica visoke občutljivosti je, da lahko majhna nepazljivost povzroči kontaminacijo in s tem lažne pozitivne rezultate.

### 3. 2. 2. Določanje GSO s tehniko ELISA

S tehniko ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) določamo prisotnost specifične beljakovine s pomočjo specifične vezave antigena s protitelesom (20). Za postopek ELISA potrebujemo protitelo, ki se veže na specifično beljakovino, protitelo, ki pomnoži detekcijo (optimalno) in protitelo, ki je povezano z encimom, katerega produkt proizvaja barvo, ki jo lahko enostavno zaznamo in tako specifično beljakovino kvantificiramo spektrofotometrično s pomočjo umeritvene krivulje.

Tudi za to tehniko je potrebno izurjeno osebje in specialna oprema. ELISA je manj občutljiva kot tehnika PCR in zato tudi manj dovzetna za lažne pozitivne rezultate. Vendar z metodami ELISA ne moremo razlikovati različnih oblik transgenskih dogodkov, ki izražajo podobne lastnosti beljakovin. Testiranje na osnovi beljakovin je praktično in učinkovito le v primeru, če je v vzorcu prisotna določljiva beljakovina. Specifične beljakovine, ki so posledica genske modifikacije, pa lahko nastajajo le v določenih fazah razvoja rastline in samo v določenih delih rastlin. Predelava živila pogosto denaturira beljakovine, zaradi česar je ELISA problematična metoda za analiziranje procesirane hrane (21).

### 3. 3. Ravni določanja vsebnosti GSO v živilih

Določanje GSO v vzorcih živil vedno pričnemo z ugotavljanjem prisotnosti oziroma odsotnosti GSO. V vzorcih, kjer ugotovimo prisotne GSO, lahko določanje nadaljujemo v smeri dokazovanja specifičnih linij GSO in v zadnji fazi določimo količino ugotovljenih specifičnih linij GSO. Postopek določanja GSO v vzorcih tako razdelimo v tri ravni:

#### 3. 3. 1. Detekcija

Namen detekcije je določiti, ali vzorec vsebuje GSO ali ne. Za ta namen lahko uporabimo presejalni test (screening), katerega rezultat je lahko samo pozitiven ali negativen. Presejalni testi so običajno osnovani na polimerazni verižni reakciji (PCR). Prva presejalna metoda na osnovi, ki je bila validirna v metodo, s katero



je možno določiti večino današnjih dovoljenih GSO na trgu (22). Metoda Pietscha s soavtorji (23) je osnovana na določitvi dveh kontrolnih sekvenc, ki se nahajata na obeh koncih novo vstavljenega gena, to sta promotor 35S in terminator NOS.

### 3. 3. 2. Identifikacija

Če je reakcija presejalne metode pozitivna, je potrebna nadaljnja analiza, da se ugotovi, kateri GSO je v vzorcu, in če je ta GSO v EU dovoljen, ali ni. Edine metode, ki omogočajo nedvoumno prepoznavo vsake GSO-vrste posebej, so metode na osnovi PCR.

### 3. 3. 3. Kvantifikacija

Če v vzorcu najdemo prisotnost določenega GSO, v tej stopnji določimo relativno vsebnost (v %) specifičnega GSO glede na skupno vsebnost gensko nespremenjenega starševskega organizma.

### 3. 4. Potreba po harmonizaciji/standardizaciji postopkov določanja v laboratorijih EU

Ureditev področja metod za detekcijo in kvantifikacijo GSO je bila prvič predlagana s strani Evropske komisije v smislu koordiniranega programa uradne kontrole živil za leto 2002: Commission Recommendation 2002/66/EC. Osrednja tema pripravljanih zakonodaje v zvezi z metodami je, da morajo biti dostopne analitske metode točne in robustne. Teži se k harmonizaciji/standardizaciji postopkov znotraj Evropskih kontrolnih laboratorijev. V EU je bila leta 2002 ustanovljena mreža laboratorijev za detekcijo GSO (24). Mreža se imenuje European Network of GMO Laboratories (ENGL) in je koordinirana s strani Evropske komisije s pomočjo Joint Research Centra. Mreža vključuje okoli 50 laboratorijev iz vseh v EU uveljavljenih laboratorijev, skupaj z Norveško in pridruženimi članicami. Namen povezovanja laboratorijev v mrežo ENGL je razvijati analitiko določanja GSO, validiranje metod, vodenje medlaboratorijskih shem, delo na referenčnih materialih, postavljanje strategije vzorčenja in vzpostavljane podatkovnih baz.

## Zaključek

Strogi predpisi za izdajanje odobritev za pridelovanje in trgovanje z GSO, za označevanje, sledljivost, vzorčenje in spremljanje gensko spremenjenih živil ter vzporeden napredek analitskih metod za določanje GSO v živilih, naj bi ob učinkovitem delovanju sistema posameznemu prebivalcu Evropske unije omogočili

varno prehranjevanje z gensko spremenjenimi živilami in prosto izbiro med uporabo in neuporabo gensko spremenjenih živil. V svetu stalno poteka razvijanje novih vrst gensko spremenjenih organizmov v živilih. Pospešeno reševanje analitskih problemov in dosledno upoštevanje predpisov glede sledljivosti izdelkov bo zato v prihodnosti nujno.

## Literatura

1. Byrne M. GMOs: The debate continues. *Food Engineering International* 1999; 24(3): 63-66.
2. Gaskell G, Allum N, Stares S. Europeans and biotechnology. Eurobarometer 58.0 (2nd ed.: March 21<sup>st</sup> 2003). Pridobljeno 03.03.2004 s spletne strani: [http://europa.eu.int/comm/public\\_opinion/archives/eb/ebs\\_177\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/public_opinion/archives/eb/ebs_177_en.pdf).
3. Rahman MA, Maclean N. Growth performance of transgenic tilapia containing an exogenous piscine growth hormone gene. *Aquaculture* 1999; 173: 333-346.
4. Delvin RH, Johnsson JI, Dmailus DE. Increased ability to compete for food by growth hormone-transgenic coho salmon *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum). *Aquaculture Res* 1999; 30: 479-482.
5. FDA U.S Food and Drug Administration. Questions and answers about transgenic fish. Pridobljeno 10.03.2004 s spletne strani: <http://www.fda.gov/cvm/index/consumer/transgen.htm>.
6. Karp G. Cell and molecular biology (3rd ed.). New York, John Wiley & Sons, Inc., 2002: 770-781.
7. Robinson C. Genetic modification technology and food. Consumer health and safety. Brussels, ILSI Press, 2001.
8. MacCormick CA, Griffin, HG, Underwood HM, Mason MJ. Common DNA sequences with potential for detection of genetically manipulated organisms in food. *J Appl Microbiol* 1998; 84: 969-980.
9. Padgett SR. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Science* 1995; 35: 1451-1461.
10. Lübeck M. Detection of genetically modified plants. Pridobljeno 21.10.2003 s spletne strani: <http://www.sns.dk/erhvogadm/biotek/detection.htm>.
11. Republika Slovenija, Ministrstvo za okolje in prostor: Strategija ohranjanja biotske raznovrstnosti v Sloveniji. Dokument. Ljubljana, Vlada Republike Slovenije, 2002.
12. Marra MC, Pardey PG, Alston JM. Payoffs to transgenic field crops: an assessment of the evidence. *AgBioForum* 2003; 5(2):43-50. Pridobljeno 05.11.2003 s spletne strani: <http://www.agbioforum.org>.
13. Benford D. Principles of risk assessment of food and drinking water related to human health. Brussels, ILSI Europe, 2001.
14. Masood E. Europe and US in confrontation over GM food labelling criteria. *Nature* 1999; 398: 641-642.
15. Questions and answers on the regulation of GMOs in the EU. 30/04/2004. Pridobljeno 05.05.2004 s spletne strani: [http://europa.eu.int/rapid/start/cgi/guesten.ksh?p\\_action.gettxt=gt&doc=MEMO/04/102d0dRAPID&lg=EN&display=](http://europa.eu.int/rapid/start/cgi/guesten.ksh?p_action.gettxt=gt&doc=MEMO/04/102d0dRAPID&lg=EN&display=).
16. Commission authorises import of canned GM-sweet corn under new strict labelling conditions - consumers can choose. 19/05/2004. Pridobljeno 19.05.2004 s spletne strani: [http://europa.eu.int/rapid/start/cgi/guesten.ksh?p\\_action.gettxt=gt&doc=IP/04/663d0dRAPID&lg=en&display=](http://europa.eu.int/rapid/start/cgi/guesten.ksh?p_action.gettxt=gt&doc=IP/04/663d0dRAPID&lg=en&display=).

17. Kay S, Van den Eede G. The limits of GMO detection. *Nature Biotechnology* 2000; 19: 405.
18. McPherson MJ, Møller SG. PCR. New York, Springer-Verlag, 2000.
19. Lipp M, Bluth A, Eyquem F, Kruse L, Schimmel H, Van den Eede G, et al. Validation of a method based on polymerase chain reaction for the detection of genetically modified organisms in various processed foodstuffs. *European Food Research Technology* 2001; 212: 497-504.
20. Lipp M, Anklam E, Stave JM. Validation of an immunoassay for detection and quantification of a genetically modified soybean in food and food fractions using reference materials: Interlaboratory study. *Journal of AOAC International* 2000; 83: 919-927.
21. Stave JW, Magin K, Schimmel H, Lawruk TS, Wehling P, Bridges A. AACC collaborative study of a protein method for detection of genetically modified corn. *Cereal Foods World* 2000; 45: 497-501.
22. Lipp M, Brodmann P, Pietsch K, Pauwels J, Anklam E. IUPAC collaborative trial study of a method to detect genetically modified soy beans and maize in dried powder. *Journal of AOAC International* 1999; 82: 923-928.
23. Pietsch K, Waiblinger HU, Brodmann P, Wurz A. Screening-Verfahren zur Identifizierung "gentechnisch veränderter" pflanzlicher Lebensmittel. *Deutsche Lebensmittel Rundschau* 1997; 93: 35-38.
24. Spletna stran: European Network of GMO Laboratories (ENGL). Pridobljeno 05.03.2004 s spletne strani: <http://engl.jrc.it>.