

BOGUMIŁA URBANEK-KARŁOWSKA, DOROTA SAWILSKA-RAUTENSTRAUCH,
MAŁGORZATA JĘDRA, PAWEŁ BADOWSKI

BADANIE KUKURYDZY I PRODUKTÓW Z NIEJ POCHODZĄCYCH
Z RYNKU KRAJOWEGO NA OBECNOŚĆ MODYFIKACJI GENETYCZNYCH
TESTEM *ELISA*

DETECTION OF GENETIC MODIFICATION IN MAIZE AND MAIZE PRODUCTS
BY *ELISA* TEST

Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku
Państwowy Zakład Higieny
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
Kierownik: doc. dr hab. K. Karłowski

Wykorzystano metodę immunoenzymatyczną ELISA – zestaw analityczny „TRAIT”, amerykańskiej firmy SDI do wykrywania modyfikacji genetycznej w ziarnach kukurydzy, a także w produktach z niej pochodzących. Badaniem objęto 25 środków spożywczych z kukurydzy, znajdujących się na rynku warszawskim. W jednym produkcie (kaszka kukurydziana nie deklarowana jako GMO) stwierdzono występowanie zmodyfikowanego genetycznie białka Cry I A (b).

WSTĘP

Na rynku europejskim produkty spożywcze pochodzące z kukurydzy zmodyfikowanej genetycznie znajdują się od 1998 r. W Unii Europejskiej wydano Decyzje Komisji UE dopuszczające na rynek genetycznie zmodyfikowaną kukurydzę *Zea mays* L. linii: Bt-11, MON 810, T 25 i CG 00256 –176, charakteryzującą się zwiększoną tolerancją na herbicyd glufosynat amonu. Uzyskiwane linie kukurydzy z genem pochodzącym z *Bacillus thuringiensis* posiadają białko charakteryzujące się właściwościami insektobójczymi bądź podwyższoną tolerancją na niektóre owady błonkoskrzydłe.

– Linia Bt-11 zawiera:

1. a) syntetyczną wersję genu *Cry IA (b)* pochodzącego ze szczepu *Bacillus thuringiensis* podgatunek kurstaki szczep HD1, znajdującego się pod kontrolą promotora 35 S CaMV (wirusa mozaiki kalafiora) oraz intronu IV S6 genu kodującego dehydrogenazę alkoholową kukurydzy i terminatora genu kodującego syntazę nopaliny ze szczepu *Agrobacterium tumefaciens*.
- b) syntetyczną wersję genu *pat* pochodzącego ze szczepu *Streptomyces viridochromogenes* znajdującego się pod kontrolą promotora 35S CaMV oraz intronu IVS2 z genu kodującego dehydrogenazę alkoholową w kukurydzy i terminatora genu kodującego syntazę nopaliny z *Agrobacterium tumefaciens*.

2. Dopuszczona jest również kukurydza pochodząca ze skrzyżowania linii Bt-11 z odmianą tradycyjną [4].
- Linia MON 810 zawiera gen *Cry IA (b)* z *Bacillus thuringiensis*, podgatunek kurstaki znajdujący się pod kontrolą promotora 35S CaMV oraz intronu z genu kodującego w kukurydzy białko 70 szoku termicznego [6].
- Linia T 25 ze zwiększoną tolerancją na glufosynat amonu wyprowadzona z linii HE/89, która została przetransformowana przy użyciu plazmidu pUC/Ac zawierającego:
 - a) syntetyczny gen pat kodujący acetylo-transferazę fosfinotricynową, znajdującą się pod kontrolą promotora 35 S z CaMV i terminatora
 - b) gen kodujący *beta*-laktamazę warunkującą oporność na antybiotyki *beta*-laktamowe [5].
- Linia CG 00256-176
Produkt zawiera linie wsobne i hybrydy otrzymywane w wyniku transformacji linii kukurydzy CG 00256-176 plazmidem, który zawierał:
 - 1) jedną kopię genu *bar* ze *Streptomyces hydropscopicus* (kodującego acetylo-transferazę fosfinotricynową). Gen *bar* jest pod kontrolą promotora i terminatora 35 S z wirusa mozaiki kalafiora (CaMV).
 - 2) dwie kopie sztuczne wyłączonego genu kodującego aktywną domenę owadobójczego białka *Cry IA (b) delta*-endotoksyny z *Bacillus thuringiensis* podgatunek kurstaki szczep HD1-9. Wewnątrz tego genu znajduje się dodatkowo regulatorowa sekwencja intronu 9 z genu kodującego karboksylazę fosfoenolopirogronianową w kukurydzy.
 - pierwsza kopia jest pod kontrolą promotora z genu kukurydzy kodującego karboksylazę fosfoenolopirogronianową i terminatora 35S z CaMV.
 - druga kopia jest regulowana przez promotor z genu kukurydzy kodującego wapniowo-zależną kinazę białkową i terminator 35S CaMV.
 - 3) prokariotyczny gen *bla* kodujący *beta*-laktamazę warunkującą oporność na ampicylinę. Gen *bla* jest pod kontrolą prokariotycznego promotora.

Minister Środowiska wydał decyzję zezwalającą na wprowadzenie do kraju ziarna kukurydzy zmodyfikowanej genetycznie linii MON 810. Produkty spożywcze znajdujące się na rynku pochodzące z tej kukurydzy lub zawierające ją jako składnik powinny posiadać decyzję Głównego Inspektora Sanitarnego zezwalającą na wprowadzenie do obrotu.

Produkty pochodzące z kukurydzy, znajdujące się na rynku polskim to: kukurydza świeża, mrożona, konserwowa, ziarno, kasze i mąki oraz produkty przetworzone, poddane obróbce termicznej (np. płatki, wafle, popcorn, chrupki, kaszki błyskawiczne i inne).

Środki spożywcze zawierające organizmy zmodyfikowane genetycznie lub zawierające ich części, zgodnie z europejskim jak i krajowym ustawodawstwem [2, 7, 15, 16], wymagają oznakowania i odpowiednich metod kontroli.

W Polsce nie było dotychczas laboratoriów urzędowej kontroli dysponujących metodami wykrywania białka zmodyfikowanego genetycznie. Fakt ten uniemożliwiał pełne egzekwowanie przepisów prawnych w tym zakresie. Pobierane przez właściwe organa kontroli

próbki z zakładów produkujących żywność mogły być jedynie kierowane do laboratoriów zagranicznych. Obecnie zostało powołane w Stacji Sanitarno Epidemiologicznej w Tarnobrzegu laboratorium urzędowej kontroli badania żywności w zakresie GMO.

Ustawa o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia [17] nakłada na producentów żywności obowiązek znakowania żywności zawierającej organizmy zmodyfikowane genetycznie lub ich części. Wymóg ten nie dotyczy żywności, w skład której wchodzi organizmy genetycznie zmodyfikowane lub produkty uzyskane z organizmów genetycznie zmodyfikowanych, jeżeli ich zawartość nie przekracza 1% danego składnika, przy założeniu, że obecność białka lub DNA z organizmu genetycznie zmodyfikowanego jest niezamierzona [18]. Producent zobowiązany jest do udokumentowania powyższego.

Główny Inspektorat Skupu i Przetwórstwa Artykułów Rolnych przeprowadził kontrolę firm produkujących żywność z udziałem soi oraz badanie krajowych produktów spożywczych w celu wykrycia obecności i określenia ilości białka zmodyfikowanego genetycznie w wyrobach. Stwierdzono liczne uchybienia w zakresie znakowania środków spożywczych znajdujących się na rynku [1]. Wyniki te wskazują, że producenci nie przestrzegają przepisów i wprowadzają konsumentów w błąd. Potwierdza to konieczność dysponowania metodami dającymi możliwość identyfikacji genetycznie zmodyfikowanego białka CP4 EP SPS występującego w soi, a także białka Cry 1A (b) występującego w kukurydzy zmodyfikowanej genetycznie. Białka te są obecne nie tylko w środkach spożywczych ale również w paszach [21].

Najczęściej stosowaną i najbardziej wiarygodną metodą wykrywania i ilościowego oznaczania białka GMO w produktach, akceptowaną w Krajach Unii Europejskiej, jest metoda oparta na identyfikacji białka/DNA. Polega ona na wykorzystaniu łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) z zastosowaniem promotora i terminatora 35 S z wirusa mozaiki kalafiora (CaMV) [4, 5, 6]. Jest to metoda precyzyjna, jednak jej stosowanie możliwe jest w odpowiednio wyposażonym laboratorium, którego zorganizowanie wymaga dużych nakładów finansowych.

Inną metodą pozwalającą na szybkie wykrywanie białka GMO jest immunoenzymatyczna metoda *ELISA*, polegająca na identyfikacji sprzężonych z odczynnikiem barwnym przeciwciał swoistych dla białka Cry 1 A (b) obecnego w kukurydzy Bt lub białka CP4 EP-SPS obecnego w soi Roundup Ready. Metoda ta znajduje głównie zastosowanie w identyfikacji roślin zmodyfikowanych genetycznie [11]. W przeprowadzonych w Zakładzie Badania Żywności i Przedmiotów Użytku PZH w 2000 roku badaniach [14] potwierdzono przydatność tej metody do identyfikacji białka CP4 EPSPS pochodzącego z soi Roundup Ready w surowcach nieprzetworzonych, które poddano działaniu temperatury nie wyższej niż 65°C.

Celem obecnej pracy jest wykorzystanie testu immunoenzymatycznego *ELISA* typ *TRAIT*, amerykańskiej firmy Strategic Diagnostic Inc. (SDI) do wykrywania białka zmodyfikowanego genetycznie Cry 1A (b) w kukurydzy i w środkach spożywczych zawierających kukurydzę.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach zastosowano testy immunoenzymatyczne do wykrywania zmodyfikowanego genetycznie białka kukurydzy – Cry 1A (b) oraz wzorce referencyjne kukurydzy zawierające 0; 0,15; 0,5, 1,0 i 2,0% białka GMO.

Oznaczenia wykonano zgodnie z instrukcją podaną przez producenta testów [13].

Odczynniki:

- zestaw analityczny dla kukurydzy *TRAIT Bt 1 Lateral Test User Guide Bt1 Corn Grain Test Kit*, zawierający: paski testowe, koncentrat buforu, pojemniki i szpatułki,
- wzorce referencyjne GMO – Bt1 Maize Standard – Food Ingredient Testing USA: 0%, 0,15%, 0,5%, 2,0% GMO,
- wzorce referencyjne GMO – Maize Powder (*Bt-11 Maize*), Certified Reference Material IRMM 412, Belgium: 0%, 1%, 2% GMO.

Zasada metody polega na wykorzystaniu przeciwciał swoistych dla białka Cry 1A (b), które są sprzężone z odczynnikiem barwnym i unieruchomione na pasku testowym. Kiedy w badanej próbce obecne jest białko Cry 1A (b) następuje wiązanie między sprzężonymi przeciwciałami i białkiem. Pasek zawiera dwie strefy. Prążek górny powstaje w wyniku reakcji nie przereagowanych przeciwciał z barwnikiem, prążek dolny – w wyniku reakcji białka Cry 1A (b) z przeciwciałami sprzężonymi z barwnikiem. Obecność na pasku tylko prążka górnego wskazuje na wynik negatywny (prążek kontrolny), obecność dwu prążków wskazuje wynik pozytywny, potwierdzający obecność białka zmodyfikowanego genetycznie.

Badaniem objęto 25 produktów (różnych firm) pochodzących z kukurydzy – ziarno suche i mrożone, kaszki, mąki a także produkty przetworzone typu waffle, popcorn, chrupki – pobrane z rynku warszawskiego. Badany materiał rozdrabniano w elektrycznym młynku w czasie 10 – 15, sekund w zależności od rodzaju próbki. W przypadku ziarna kukurydzy, dla zapewnienia reprezentatywności próbki, rozdrabniano 125 ziaren, następnie odważano próbkę 5,0 g do pojemnika z przykrywką o poj. 30 ml i dodawano 5 do 10 ml buforu (w zależności od rodzaju próbki) przygotowanego przez rozcieńczenie koncentratu buforu wodą w stosunku 1:4 i energicznie wstrząsano do uzyskania jednolitej konsystencji (bez oddzielającego się płynu). Do tak przygotowanej próbki wprowadzano pasek testowy, pozostawiając go do momentu uwidocznienia prążka kontrolnego (linia górna – ok. 10 min.) i ewentualnie linii drugiej, (prążek dolny), wskazującej na obecność białka GMO. Prążek górny zabarwiony na kolor czerwony potwierdza prawidłowość używanego testu.

Uzyskane wyniki porównano z wzorcami kukurydzy GMO i próbkami kukurydzy tradycyjnej.

W celu sprawdzenia wpływu temperatury na powinowactwo białka Cry 1A (b) do zaadsorbowanych na pasku testowym przeciwciał, wykonano serię badań poddając wzorzec kukurydzy Bt1 o zawartości 2% białka zmodyfikowanego genetycznie działaniu temperatur 65, 75, 80, 90, 95, 100, 110 i 120 °C przez 30 min. Pierwsze objawy częściowego osłabienia reakcji barwnej obserwowano dopiero po ogrzewaniu naważki w temp. 100° C. W temp. 110 i 120 °C obserwowano jeszcze ślady zachodzącej reakcji.

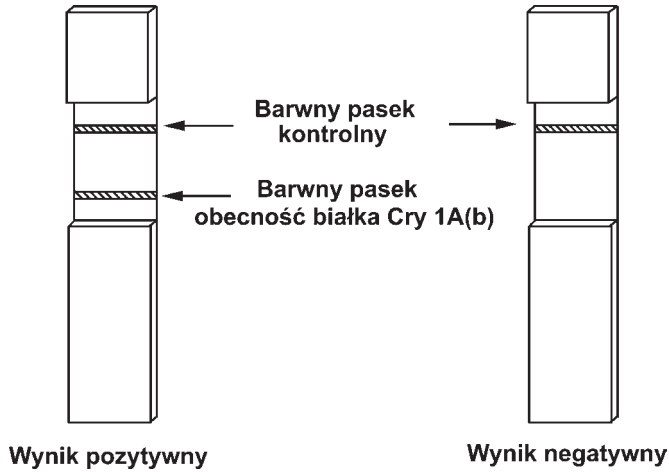
WYNIKI I OMÓWIENIE

Wszystkie otrzymane wyniki wskazywały prawidłowo na próbki zawierające w swym składzie materiał GMO oraz na próbki wolne od GMO.

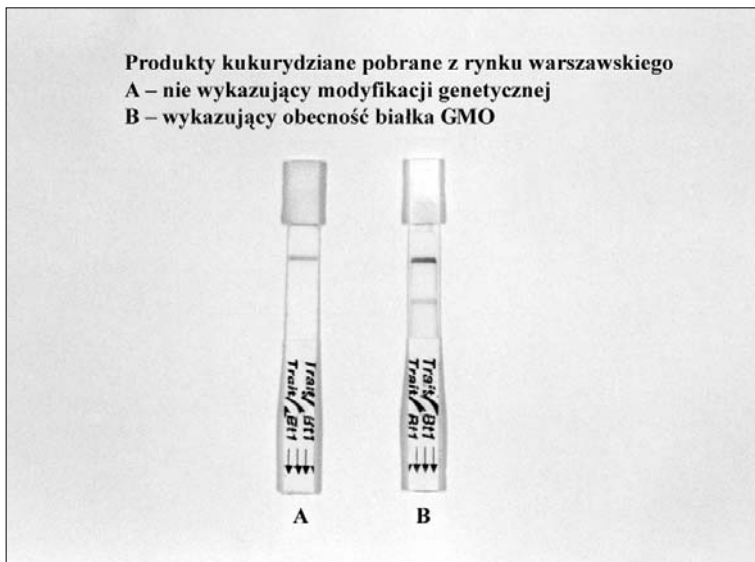
Stwierdzono występowanie białka zmodyfikowanego genetycznie w jednym produkcie spożywczym – w kaszce kukurydzianej nie deklarowanej jako produkt GMO – w ilości <1% białka GMO. Jeżeli było to niezamierzone zanieczyszczenie kukurydzą zmodyfikowaną genetycznie producent powinien to udokumentować. W 24 z 25 (96,3%) badanych produktów z kukurydzy nie wykryto występowania zmodyfikowanego genetycznie białka Cry 1A (b).

Rycina 1 ilustruje pozytywny i negatywny wynik wskazujący na obecność lub brak białka Cry 1A (b) w kukurydzy Bt.

Rycina 2 przedstawia różnicę pomiędzy paskami testowymi obrazującymi: A – kaszkę kukurydzianą pochodzącą z kukurydzy tradycyjnej oraz B – kaszkę kukurydzianą, w której stwierdzono obecność białka zmodyfikowanego genetycznie na poziomie < 1%.

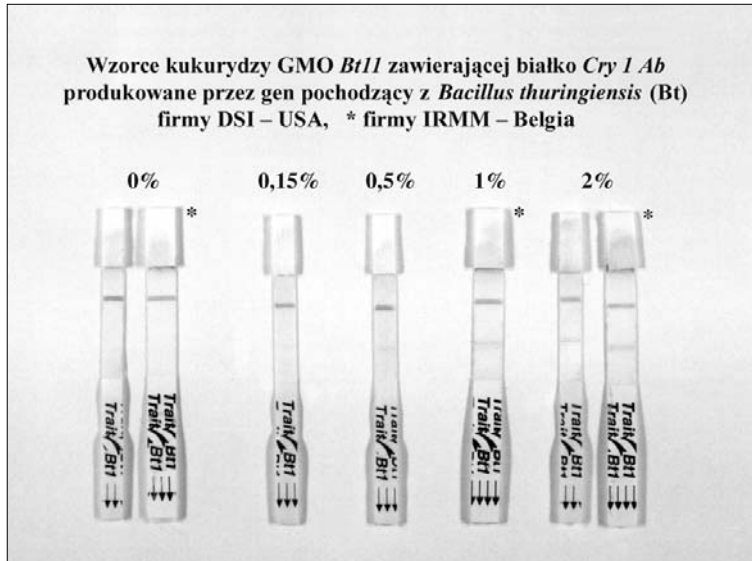


Ryc. 1. Ilustracja pozytywnych i negatywnych wyników
Positive and negative results



Ryc. 2. Paski testowe wykazujące różnicę pomiędzy A – kaszką kukurydzianą pochodzącą z kukurydzy tradycyjnej, B – kaszką kukurydzianą wykazującą obecność białka Cry 1A (b)
Test strips of market maize products. A – gruel of non GMO maize, B – gruel of GMO maize containing protein Cry 1 A (b)

Na rycinie 3 przedstawiono wzorce kontrolne nie zawierające białka GMO – pierwsze dwa paski oraz wzorce zmodyfikowanej genetycznie kukurydzy Bt 11 i Bt 1 (dwu firm), zawierające białko Cry 1A (b). Zawartość białka GMO w ilości $< 0,15\%$ nie jest wykrywana. Przy zawartości białka GMO $0,5\%$ jest lekko widoczny prążek dolny, co jest potwier-



Ryc. 3. Wzorce kukurydzy GMO zawierającej białko Cry 1A(b) produkowane przez gen pochodzący z *Bacillus thuringiensis* (Bt)
GMO maizy Flour Standard containing protein Cry 1A(b) produced by gene derived from *Bacillus thuringiensis* (Bt)

dzeniem obecności białka zmodyfikowanego genetycznie. Jest to zgodne z założeniem testu. Paski wzorców o zawartości białka GMO w ilości 1% i 2% potwierdzają wyraźnie obecność zmodyfikowanego genetycznie białka Cry 1A (b).

Uzyskane wyniki zebrano w tabeli I.

W 24 produktach pochodzących z kukurydzy tradycyjnej zastosowany test nie wykazał obecności białka Cry 1A (b) – (wyniki negatywne). W 1 próbce kaszki kukurydzianej (produkt nie deklarowany jako GMO) – stwierdzono obecność białka Cry 1A (b).

Porównując wyniki ww. kaszki z wzorcem referencyjnym należy przyjąć, że przybliżona zawartość białka GMO – Cry 1A (b) w tym produkcie wynosi < 1%.

Omawiany test immunoenzymatyczny *TRAIT Bt 1 Lateral Test User Guide Bt 1 Corn Grain Test Kit* – dla kukurydzy może być wykorzystywany jako jakościowy (tak / nie) w produktach nieprzetworzonych.

Lipp i wsp. jak również inni autorzy [8–10, 19, 20] podają, że próg wykrywalności dla białka kukurydzy modyfikowanej genetycznie, zawierającej białko BT – 176, oznaczanego metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) wynosi 0,1%. Producent testów *TRAIT* [9] deklaruje próg wykrywalności białka – Cry 1A (b) na poziomie 0,5%, co potwierdziły próby z zastosowaniem wzorców referencyjnych.

Z przeprowadzonych obecnie badań dotyczących produktów na bazie kukurydzy oraz produktów sojowych przetworzonych (praca przygotowywana do druku) – wynika, że zachodzi potrzeba przeprowadzania rutynowych kontroli żywności pod kątem zawartości białka modyfikowanego genetycznie. Niezbędne jest utworzenie laboratorium referencyjnego ds. żywności genetycznie zmodyfikowanej.

Tabela I. Obecność białka Cry 1A (b) w produktach kukurydzianych pobranych z rynku warszawskiego
Presence of Cry 1A (b) protein in market's maize products

Lp.	Nazwa produktu	Liczba próbek	Wynik	Uwagi
1.	Kukurydza w kolbach (mrożona)	7	–	
2.	Ziarno kukurydzy (mrożone)	1	–	
3.	Ziarno kukurydzy (suche)	1	–	
4.	Ziarno kukurydzy cukrowej	2	–	
5.	Ziarno kukurydzy do prażenia	2	–	
6.	Kasza kukurydziana	3	–	
7.	Kasza kukurydziana błyskawiczna nie deklarowana jako GMO *	1	+	zawartość białka GMO < 1 %
8.	Mąka kukurydziana	2	–	
9.	Płatki kukurydziane Corn Flakes	3	–	produkt poddany obróbce termicznej
10.	Płatki kukurydziane Snow Flakes	1	–	produkt poddany obróbce termicznej
11.	Chrupki kukurydziane	1	–	produkt poddany obróbce cieplnej
12.	Kukurydza prażona popcorn	1	–	produkt poddany obróbce cieplnej

+ Wynik pozytywny

– Wynik negatywny

Dla każdej próbki wykonywano po dwa do czterech powtórzeń.

* Producent nie ma obowiązku deklarowania, jeżeli produkt nie zawiera kukurydzy/soi GMO.

WNIOSKI

1. Test *TRAIT* przeznaczony do specyficznego wykrywania białka Cry 1 A (b) może być wykorzystywany jako skринingowy test jakościowy (tak/nie).

2. Potwierdzona granica wykrywalności białka GMO w kukurydzy wynosi 0,5% w przeliczeniu na suchą masę.

3. Szybkość i prostota wykonywania badania z użyciem testu *TRAIT*, a także stosunkowo niskie nakłady finansowe, upoważniają do rekomendowania go do rutynowej kontroli nieprzetworzonych produktów kukurydzianych.

B. Urbanek-Karłowska, D. Sawilska-Rautenstrauch, M. Jędra, P. Badowski

DETECTION OF GENETIC MODIFICATION IN MAIZE AND MAIZE PRODUCTS BY *ELISA* TEST

Summary

Enzyme immunoassay methods – *TRAIT* Test – was applied for detection of genetic modification in maize seeds and foodstuffs, which have been produced from this crop.

TRAIT Test is based on the identification GMO protein Cry 1Ab produced by a gene derived from *Bacillus thuringiensis* (Bt) incorporated into insect resistant corn grain.

The experiment was carried out on maize standards and foodstuffs from Warsaw market. The positive result was obtained for one maize product, which was not labelled as GMO. The presence of GMO material was approximately equal to 1%.

In conclusion, this test is proper for fast routine qualitative (yes/no) determination GMO material in maize seeds and unprocessed food products.

PIŚMIENNICTWO

1. Badania GISIPAR – Czego konsument nie wie. *Przemysł Spożywczy* 2002, 11, 45.
2. Commission Regulation No. 50/2000 of 10 January 2000, on the labelling of foodstuffs and food ingredients containing additives and flavourings that have been genetically modified or have been produced from genetically modified organisms. *Official Journal of the European Communities*, 2000, L 6, 15–17.
3. Commission Decision 97/98/EC of 23 January 1997 concerning the placing on the market of genetically modified maize (*Zea mays* L.) with the combined modification for insecticidal properties conferred by the Bt-endotoxin gene and increased tolerance to the herbicide glufosinate ammonium pursuant to Council Directive 90/220/EEC (Text with EEA relevance). *Official Journal* 1997, L 31, 69–70.
4. Commission Decision 98/292/EC: of 22 April 1998 concerning the placing on the market of genetically modified maize (*Zea mays* L. line Bt-11), pursuant to Council Directive 90/220/EEC (Text with EEA relevance). *Official Journal* 1998, L 131, 28–29.
5. Commission Decision 98/293/EC: of 22 April 1998 concerning the placing on the market of genetically modified maize (*Zea mays* L. T25), pursuant to Council Directive 90/220/EEC (Text with EEA relevance). *Official Journal* 1998, L 131, 30–31.
6. Commission Decision 98/294/EC of 22 April 1998 concerning the placing on the market of genetically modified maize (*Zea mays* L. line MON 810), pursuant to Council Directive 90/220/EEC (Text with EEA relevance). *Official Journal* 1998, L 131, 32–33.
7. Directive 2001/18/EC The European Parliament and of the Council of March 2001, on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. *Official Journal of European Communities* 2001, L 106, 1–38.
8. 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. *J. AOAC Int.* 1999, 82, 923–928.
9. Lipp M., Bluth A., Eyquem F., Kruse L., Schimmel H., Van den Eede G.: Validation of a method based on polymerase chain reaction for the detection of genetically modified organisms in various processed foodstuffs. *European Food Research and Technology* 2001, 212, 497–504.
10. Studer E., Rhyner C., Luthy J.: Quantitative competitive PCR for the detection of genetically modified soybean and maize. *Zeitschrift fuer. Lebensmittel Untersuchung und Forschung A/Food Research and Technology* 1998, 207, 207–213.
11. Sochanowicz B., Szot Z.: Żywność transgeniczna (genetycznie modyfikowana). *Żyw. Człow. Metabol.* 2001, 28, 243–253.
12. *Trait* RUR Lateral Flow Test, User Guide, RUR Bulk Soybean Test Kit. Strategic Diagnostics Inc., USA, 27.03.2000.
13. *Trait* Bt1 Lateral Flow Test, User Guide, Bt1 Corn Grain Test Kit. Strategic Diagnostics Inc., USA, 31.03.2000.
14. Urbanek-Karlowska B., Fonberg-Broczek M., Sawilska-Rautenstrauch D., Badowski P., Jędra M.: Przydatność immunoenzymatycznego testu *TRAIT* do wykrywania modyfikacji genetycznej w produktach pochodzących z soi Roundup Ready. *Roczn. PZH* 2001, 52, 313–320.
15. Urbanek-Karlowska B., Fonberg-Broczek M., Badowski P.: Dopuszczenie do obrotu produktów genetycznie zmodyfikowanych (GMO) w świetle ustawodawstwa. Materiały z sympozjum „Żyw-

- ność – Lek – Zdrowie”, Ogólnopolska Sesja Bromatologiczna Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Łódź 21–22.09.2000 r.
16. *Urbanek-Karlowska B., Fonberg-Broczek M., Badowski P.*: Badania toksykologiczne nowej żywności – problemy metodyczne i prawne w świetle przepisów Unii Europejskiej. Materiały Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego. VII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego, Międzyzdroje 31.05. – 02.06.2000 r.
 17. Ustawa o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia z dnia 11 maja 2001, Dz. U. RP Nr 63 z dn. 22.06.2001, poz. 634.
 18. Ustawa z dnia 22 czerwca 2001 r. o organizmach genetycznie zmodyfikowanych, Dz. U. RP, Nr 76 z dn. 25.07.2001r. poz. 811.
 19. *Vollenhofer S., Burg K., Schmidt J., Kroath H.*: Genetically Modified Organisms in Food – Screening and Specific Detection by Polymerase Chain Reaction. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 5038–5043.
 20. *Vollenhofer S., Burg K., Schmidt J. Kroath H.*: Short Communication: Detection of Genetically Modified Organisms in Food. *Deutsche Lebensmittel – Rundschau* 1999, 95 Jahrgang Heft 7.
 21. *Wijaszka T.*: Problemy Unii Europejskiej związane z organizmami genetycznie zmodyfikowanymi. *Medycyna Wet.* 2001, 57 (11), 848–849.

Otrzymano: 2003.03.10