

BOGUMIŁA URBANEK-KARŁOWSKA, DOROTA SAWILSKA-RAUTENSTRAUCH,
MALGORZATA JĘDRA

BADANIE OBECNOŚCI BIAŁKA ZMODYFIKOWANEGO GENETYCZNIE W PRZETWORZONYCH PRODUKTACH SOJOWYCH TESTEM *ELISA*

THE INVESTIGATION OF PRESENCE OF GENETICALLY MODIFIED PROTEIN IN PROCESSED FOODSTUFFS BY *ELISA* TEST

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

Badaniem objęto 106 produktów sojowych lub produktów zawierających preparaty białka sojowego. W celu wykrycia i identyfikacji modyfikowanego genetycznie białka soi CP₄EPSPS, poddanego działaniu temperatury wykorzystano metodę immunoenzymatyczną ELISA – zestawy analityczne „TRAIT” – II generacji, amerykańskiej firmy SDI. Badania wykonano w 2003 r.

WSTĘP

Środki spożywcze zawierające zmodyfikowaną soję lub kukurydzę znajdują się na rynkach krajów europejskich od 10 lat. W Polsce soja GMO jest dopuszczona od 1997 r. W 2002 roku Minister Środowiska wydał decyzję na wprowadzenie do kraju ziarna kukurydzy *Zea mays L* zmodyfikowanej genetycznie linii MON 810. Z chwilą wejścia Polski do Unii Europejskiej na naszym rynku może znajdować się również kukurydza linii *Bt11*, *T25* oraz *CG 0256-176* [12]. Dopuszczona soja GMO zawiera gen pochodzący z *Agrobacterium sp.* kodujący białko CP₄EPSPS. Pochodzi ona wyłącznie z jednej odmiany *Glicine max L cv* linia 40-3-2 o ściśle określonej sekwencji genów, charakteryzującej się odpornością na glifosat, aktywny składnik herbicydu Roundup Ready.

Na rynku krajowym jak i europejskim znajdują się środki spożywcze pochodzące bezpośrednio z soi lub kukurydzy oraz zawierające w składzie izolaty i koncentraty białka sojowego, stosowane głównie w przetwórstwie mięsny oraz mąki i tekstury sojowe a także mąki i kasze kukurydziane, obecne w bardzo szerokiej gamie produktów. Środki spożywcze pochodzące z soi lub kukurydzy GMO, zgodnie z ustawą o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia [14], traktowane są jako „nowa żywność” i przed wprowadzeniem na rynek wymagają udokumentowania bezpieczeństwa dla człowieka i zgłoszenia do Głównego Inspektora Sanitarnego [9, 10]. Ustawa ta nakłada na producentów obowiązek znakowania żywności zawierającej organizmy zmodyfikowane genetycznie lub ich części.

W przypadku zawartości GMO poniżej 0,9% nie ma obowiązku znakowania, o ile jest to niezamierzone zanieczyszczenie, co wymaga udokumentowania [4, 5]. Na podstawie przeprowadzonych w 2002 r. przez GISiPAR kontroli firm produkujących żywność z udziałem soi zmodyfikowanej genetycznie stwierdzono liczne uchybienia w zakresie znakowania środków spożywczych znajdujących się na rynku [1]. Przeprowadzone w 2003 roku kontrole przez Inspekcję Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych [3], w tym również środków żywienia zwierząt, pod kątem stosowania przez przedsiębiorców organizmów GMO lub ich składników oraz prawidłowości ich znakowania wykazały, że:

- w 34 kontrolowanych jednostkach stwierdzono brak informacji na temat zawartości GMO w artykułach rolno-spożywczych wprowadzanych do obrotu, a w 13 informacje te były niepełne lub błędne,

- wzrósł odsetek artykułów rolno-spożywczych, w których wykryto produkty genetycznie zmodyfikowane w ilości powyżej 1% – z 10,5% w 2002 roku do 12,4% w roku 2003.

- wśród poddanych kontroli partii artykułów zmniejszył się udział towarów, które pomimo zawartości białka GMO powyżej 1% – były znakowane jako wolne od GMO. W 2002 roku niezgodność znakowania z deklaracją ustalono w 6 na 11 skontrolowanych próbek a w 2003 roku w 6 na 17.

Fakt ten jest potwierdzeniem, że producenci nie przestrzegają przepisów i świadomie wprowadzają konsumentów w błąd. Z sondażu przeprowadzonego przez OBOP w 2003 r. wynika, że Polacy niemal powszechnie dostrzegają konieczność dodatkowego znakowania genetycznie modyfikowanej żywności (88%), mają również świadomość, że taki jest wymóg prawny (68%) ale jednocześnie nie wiedzą, czy dostępne w sprzedaży produkty żywnościowe zawierające białka GMO są specjalnie oznakowane (46%) lub uważają, że brak jest takich oznakowań [2].

Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady Nr 1829/2003 obecność przypadkowego zanieczyszczenia białkiem GMO nie może przekraczać 0,9% [4, 6, 7].

Od 2000 roku Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku PZH wykorzystuje do wykrywania białka GMO szybkie i proste skринingowe metody immunoenzymatyczne *ELISA*, polegające na reakcji sprzężonych z odczynnikiem barwnym swoistych przeciwciał dla białek pochodzących z roślin zmodyfikowanych genetycznie: soi – CP₄EPSPS [11] i kukurydzy – Cry 1A(b) [12]. W zależności od rodzaju stosowanego testu możliwa jest identyfikacja tych białek w produktach sojowych i kukurydzianych zawierających białko nieprzetworzone oraz w produktach przetworzonych, poddanych obróbce termicznej.

Celem obecnej pracy, będącej kontynuacją prac wcześniejszych, było sprawdzenie możliwości wykorzystania standardowych testów immunoenzymatycznych *ELISA* – test II generacji, do wykrywania zmodyfikowanego genetycznie białka CP₄EPSPS występującego w rynkowych produktach sojowych przetworzonych poddanych obróbce termicznej oraz w produktach zawierających preparaty sojowe: teksturaty, izolaty i mąki.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach zastosowano test immunoenzymatyczny do wykrywania zmodyfikowanego genetycznie białka CP₄EPSPS z soi – zestaw analityczny TRAIT-RUR Toasted Soy Meal Test Kit, produkcji amerykańskiej firmy Strategic Diagnostic Inc.

Zgodnie z deklaracją producenta test ten wykrywa obecność zmodyfikowanego białka w ilości powyżej 0,9%

W badaniach wykorzystano certyfikowane materiały referencyjne – GMO-FF Soy Flour Standard-Food Ingredient Testing USA: 0%; 1,25%; 2,5% GMO oraz wzorce wewnętrzne, wykonane w laboratorium; zawierały one koncentrat białka GMO dodany do matrycy (homogenat szynki wieprzowej) w ilościach od 0,4 do 4%. Wzorce poddano działaniu temp. 120°C przez 2 godz.

Zasada metody, polegająca na wykorzystaniu przeciwciał swoistych dla białka CP₄EPSPS soi Roundup Ready, które są sprzężone z odczynnikiem barwnym i unieruchomione na paskach testowych, została opisana w poprzednich pracach [11, 12].

Badaniem objęto 106 produktów przetworzonych (poddanych obróbce termicznej), zakupionych w sklepach na terenie Warszawy. Próbkę do badań stanowiły następujące grupy produktów: pieczywo, makarony, wyroby ciastkarskie, wędliny, wyroby garmazeryjne (w tym mięsne), półprodukty sojowe. Próbkę rozdrabniano i/lub suszono stosownie do potrzeb.

Uzyskane wyniki porównywano z wyżej wymienionymi wzorcami referencyjnymi oraz z wzorcami wykonanymi w laboratorium a także z posiadanym materiałem odniesienia (soja GMO Roundup Ready).

Oznaczenia wykonywano zgodnie z instrukcją podaną przez producenta testów [8].

Odważano dwie naważki równoległe po 25 g. Próbkę przenoszono do naczynia szklanego z przykrywką o poj. 250 ml., zalewano 85 ml wody destylowanej i intensywnie wstrząsano. Dodawano 0,5 ml buforu, wchodzącego w skład wyposażenia testu (*Sample Buffer Concentrate*) i ponownie wstrząsano. Następnie próbkę odstawiano na 5 min. Po rozdzieleniu się warstw 0,5 ml fazy wodnej przenoszono do probówki i wprowadzano pasek testowy. Po dziesięciu minutach dokonywano odczytu. Powstanie dwóch pasków barwnych potwierdzało obecność w próbce białka CP₄EPSPS.

WYNIKI I DYSKUSJA

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

Rycina 1 przedstawia wyniki testu wykonanego z wzorcami wewnętrznymi, zawierającymi białko CP₄EPSPS, poddanych działaniu temperatury 120°C przez 2 godz. Kolejne paski odpowiadają: 1 – 100% białka GMO, 2 – matrycy (szynka wieprzowa gotowana), od 3 do 8 – malejące stężenia białka GMO – 4%, 2%, 1%, 0,8%, 0,6% i 0,4%.

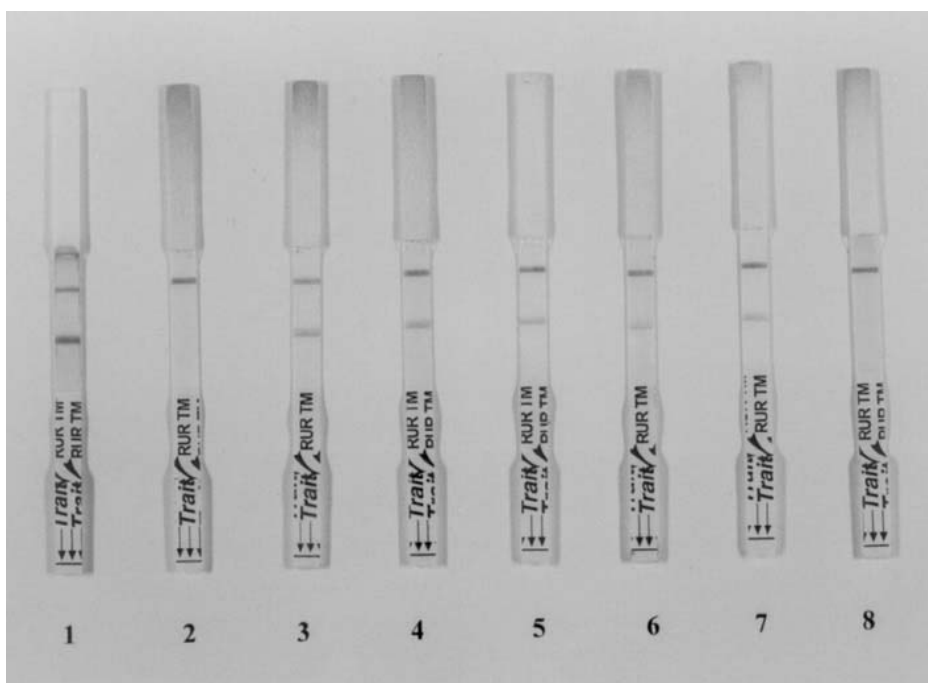
Intensywność barwy dolnego paska, powstającego w wyniku reakcji białka CP₄EPSPS z przeciwciałem, była największa w przypadku wzorca zawierającego 100% białka GMO. Wzorec zawierający 0,4% białka GMO nie dawał dającej się zaobserwować reakcji barwnej. Wyniki wskazują, że czułość testu jest większa niż deklaruje to producent, tzn. że reakcja jest widoczna w postaci barwnego paska przy badaniu materiału zawierającego 0,6% białka GMO.

Na rycinie 2 przedstawiono wyniki badania produktów spożywczych (poddanych w procesie technologicznym obróbce termicznej), w których wykazano obecność zmodyfikowanego genetycznie białka sojowego.

Intensywność różowego zabarwienia może w przybliżeniu, w porównaniu z wzorcami, wskazywać ilość białka GMO obecnego w produkcie.

W tabeli I zestawiono grupy produktów badanych na obecność soi GMO.

W 27 produktach przetworzonych poddanych obróbce termicznej (ze 106 badanych) wykryto obecność białka CP₄EPSPS. Soja GMO była w składzie 10 z 11 badanych próbek pieczywa. Należy zakładać, że jest to wynikiem powszechnego stosowania w produkcji pieczywa „polepszaczy”, w których mąka sojowa jest nośnikiem enzymów i substancji dodatkowych. Z tej samej przyczyny mąka sojowa może być składnikiem makaronów i wyro-



- 1 – białko CP₄EPSPS
- 2 – matryca: szynka gotowana wieprzowa
- 3 – 4 % białka GMO
- 4 – 2 % białka GMO
- 5 – 1 % białka GMO
- 6 – 0,8 % białka GMO
- 7 – 0,6 % białka GMO
- 8 – 0,4 % białka GMO

Dwa prążki wskazują na obecność białka GMO w ilości > 0,4%.

Ryc. 1. Wzorce wewnętrzne zawierające białko CP₄EPSPS poddane działaniu temperatury 120°C przez 2 godziny

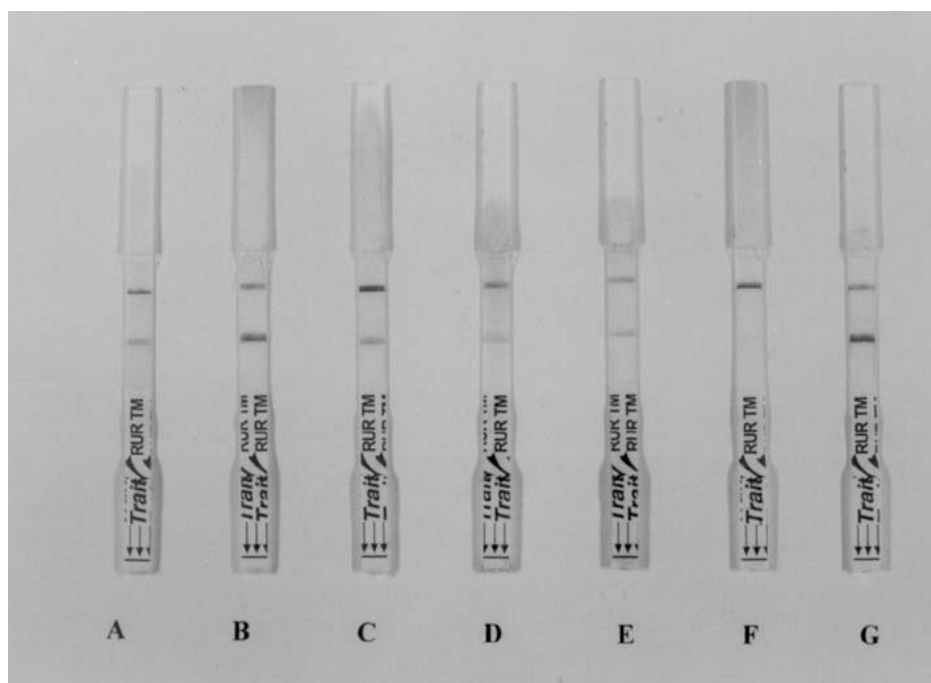
Internal standards containing GMO soy protein CP₄EPSPS after heating during 2 hours in 120°C

bów ciastkarskich. Natomiast w badanych wyrobach wędliniarskich oraz w wyrobach garmażeryjnych niemięsnych nie stwierdzono obecności białka soi GMO.

W przypadku 22 produktów, na etykietach wyrobów, nie wymieniono w składzie soi GMO. Dotyczyło to głównie pieczywa – 91% i wyrobów sojowych – 23%.

W 3 wyrobach sojowych producent nieprawidłowo podał jako składnik wyrobu soję tradycyjną podczas gdy zastosowany test wykazał obecność soi GMO.

W latach ubiegłych zbadano pod kątem obecności białka zmodyfikowanego genetycznie 34 produkty z soi i kukurydzy, które w procesie technologicznym nie były poddawane obróbce termicznej [11, 12].



- A – chleb regionalny
 B – pasztet sojowy
 C – kotlety sojowe „Minutki”
 D – pasztet „wielkopolski drobiowy”
 E – wafle o smaku śmietankowym
 F – makaron domowy „As babuni” - 0,9% białka GMO
 G – gulasz sojowy – produkt deklарowany jako GMO
 Dwa prążki wskazują na obecność białka GMO w ilości powyżej 0,9%

Ryc. 2. Wybrane produkty spożywcze poddane obróbce termicznej, zawierające zmodyfikowane białko sojowe CP₄EPSPS
 The selected processed foodstuffs containing GMO soy protein CP₄EPSPS

Wyniki tych badań przedstawia tabela II.

W tej grupie produktów stwierdzono obecność białka CP₄EPSPS w 3 z 15 zbadanych próbek ziarna i mąki sojowej. Jeśli chodzi o surowe ziarno kukurydzy oraz mąkę i kaszę kukurydzianą to z 19 zbadanych produktów tylko jeden (kasza) pochodził z kukurydzy GMO. W próbce tej kaszy stwierdzono zawartość białka GMO w ilości ok. 0,5%.

Wszystkie pozostałe produkty posiadały poprawne informacje na etykietach.

Łącznie badaniem objęto 140 środków spożywczych pobranych z rynku w latach 2001-2003. Wśród nich 26 zawierało białko GMO a jedynie 7 było znakowanych jako zawierające GMO. Należy jednak zaznaczyć, że pozytywny wynik testu nie przesądza o konieczności

Tabela I. Wyniki badania produktów poddanych obróbce termicznej na obecność białka CP₄EP-SPS pochodzącego z soi GMO
The results of presence of GMO soy protein CP₄EPSPS in processed foodstuffs

Rodzaj produktu	Liczba próbek		
	badanych	zawierających białko GMO	znakowanych jako zawierające GMO
Pieczywo	11	10	0
Makaron	13	1	0
Wyroby ciastkarskie	16	1	0
Wędliny	16	0	0
Wyroby garmażeryjne mięsne	7	1	0
Wyroby garmażeryjne niemięsne	4	0	0
Wyroby sojowe	39	14	5

Tabela II. Wyniki badania produktów nieprzetworzonych na obecność białka CP₄EPSPS pochodzącego z soi GMO oraz białka Cry 1Ab z kukurydzy GMO
The results of presence of GMO soy protein CP₄EPSPS and maize protein Cry 1Ab in unprocessed foodstuffs

Rodzaj produktu	Liczba próbek		
	badanych	zawierających białko GMO	znakowanych jako zawierające GMO
Ziarno sojowe	8	2	2
Mąka sojowa	7	1	0
Ziarno kukurydzy	6	0	0
Kukurydza w kolbach	7	0	0
Kasza kukurydziana	4	1	0
Mąka kukurydziana	2	0	0

ści znakowania, gdyż test TRAIT daje odpowiedź tak/nie. Biorąc jako porównawcze wyniki wzorców wewnętrznych (ryc. 1) można przypuszczać, że niektóre z produktów zawierały białko GMO w ilości nie wymagającej znakowania. W takiej sytuacji producent powinien to udokumentować. Wyniki testu TRAIT powinny być potwierdzone ilościową metodą PCR. Brak na etykiecie zapisu o obecności GMO można uznać za prawidłowy, jeśli partia soi lub kukurydzy została zanieczyszczona ziarnem roślin zmodyfikowanych genetycznie w sposób niezamierzony np. we wspólnym środku transportu lub w młynie.

WNIOSKI

1. Test TRAIT jest przeznaczony do specyficznego wykrywania białka CP₄ EPSPS jako test jakościowy (tak/nie) dla produktów przetworzonych poddanych działaniu temperatury. Wyniki testu wskazywały prawidłowo na próbki zawierające w składzie białko GMO oraz na próbki wolne od GMO.

2. Dysponując wzorcami referencyjnymi oraz wewnętrznymi testy TRAIT można wykorzystywać również do ilościowej kontroli produktów sojowych poddanych obróbce termicznej. Wymaga to jednak potwierdzenia metodą PCR.

3. Ze 106 zbadanych produktów 22 nie zawierały na etykiecie informacji o obecności białka pochodzącego z soi GMO.

4. Stwierdzone nieprawidłowości w znakowaniu wyrobów zawierających soję GMO – brak informacji lub podawanie błędnych informacji – potwierdzają konieczność kontroli w tym zakresie produktów spożywczych znajdujących się na rynku.

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

THE INVESTIGATION OF PRESENCE OF GENETICALLY MODIFIED PROTEIN
IN PROCESSED FOODSTUFFS BY *ELISA* TEST

Summary

The test based on immunoassay – TRAIT-RUR Toasted Soy Meal Kit was used for detection GMO-soy protein in the processed (heat treated) foodstuffs: bread, macaroni, sausages, ready-to-serve products and soya products (tofu, steaks). The threshold level is about 0,6% protein. The positive results were obtained for 27 from 106 investigated products. Only 5 foodstuffs were declared as containing GMO-soy in composition. The presence of genetically modified ingredients in foodstuffs must be controlled. The proper information should be labelled for the consumer.

PIŚMIENNICTWO

1. Badania GISiPAR – Czego konsument nie wie. Przemysł Spożywczy 2002, 11, 45.
2. *Chodkowski A.*: Zapewnienie tożsamości i dobrowolna certyfikacja artykułów rolno-spożywczych: Materiały z Konferencji „Czy chcemy żyć z GMO? Aspekty gospodarcze i etyczne stosowania produktów”, zorganizowanej przez Główny Inspektorat Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych, Polskie Stowarzyszenie Fito-Sanitarnie i Stowarzyszenie Inżynierów i Techników Rolniczych; Warszawa 24.II.2004 r.
3. *Konicka M.*: Sytuacja na polskim rynku – wyniki kontroli artykułów rolno-spożywczych pod kątem składników genetycznie zmodyfikowanych: Materiały z Konferencji „Czy chcemy żyć z GMO? Aspekty gospodarcze i etyczne stosowania produktów – zorganizowane przez Główny Inspektorat Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych, Polskie Stowarzyszenie Fito-Sanitarnie i Stowarzyszenie Inżynierów i Techników Rolniczych, Warszawa 24.II.2004 r.
4. Regulation (EC) 1829/2003 of European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed : Official Journal of the European Union: L 268/1, 18.10.2003.
5. Regulation (EC) No 1830/2003 of the European Parliament and the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC: Official Journal of the European Union: L 268/24, 18.10.2003.

6. Regulation (EC) No 1946/2003 of the European Parliament and of the Council of 15 July 2003. On transboundary movements of genetically modified organism: Official Journal of European Union: L 287/1, 5.11.2003.
7. State of play on GMO autorisation under EU law: MEMO/04/17 Bruxelles, 28 January 2004.
8. *Trait* RUR Toasted Soy Meal User Guide, RUR Toasted Meal Test *Trait* Kit. Strategic Diagnostics Inc.
9. *Urbanek-Karłowska B., Fonberg-Broczek M., Badowski P.*: Dopuszczenie do obrotu produktów genetycznie zmodyfikowanych (GMO) w świetle ustawodawstwa. Materiały z sympozjum „Żywność – Lek – Zdrowie”. Ogólnopolska Sesja Bromatologiczna Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Łódź 21-22.09.2000 r.
10. *Urbanek-Karłowska 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.
11. *Urbanek-Karłowska 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.
12. *Urbanek-Karłowska B., Sawilska-Rautenstrauch B., Jędra M., Badowski P.*: Badanie kukurydzy i produktów z niej pochodzących z rynku warszawskiego na obecność modyfikacji genetycznych testem *ELISA*. Roczn. PZH 2003, 54, 345-353.
13. *Urbanek-Karłowska B., Sawilska-Rautenstrauch D., Jędra M., Badowski P.*: Badanie obecności Białka GMO w rynkowych produktach spożywczych: Materiały z sympozjum „Wartość Zdrowotna i Zanieczyszczenia Żywności”. Ogólnopolska Sesja Bromatologiczna Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Gdańsk 18-19.09.2003 r.
14. Ustawa o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia z dn. 11.05.2001 r., Dz. U. nr 63, poz. 634 z kolejnymi zmianami: Nr 128 poz. 1408, z 2002 r. Nr 135 poz. 1145, Nr 166 poz. 1362, z 2003 r. Nr 52 poz. 450, Nr 122 poz. 1144, Nr 130 poz. 1187, Nr 199 poz. 1938, Nr 208 poz. 2020, z 2004 r. Nr 33 poz. 288, Nr 96 poz. 959.

Otrzymano: 2004.02.17