

Nachweis gentechnisch veränderter Lebensmittel

R. Greiner, U. Konietzny und K.-D. Jany
Molekularbiologisches Zentrum der Bundesforschungsanstalt für Ernährung

Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe

Poster auf dem 1. Dt. Kongreß für Praktische Umweltmedizin

[Home](#)

Seit Mai 1997 regelt die Novel Food Verordnung das Inverkehrbringen neuartiger Lebensmittel und Lebensmittelzutaten in der Europäischen Union. Sie schreibt für Erzeugnisse, die vermehrungsfähige gentechnisch veränderte Organismen enthalten oder aus solchen bestehen und für Erzeugnisse, die sich gegenüber vergleichbaren konventionellen Lebensmitteln wissenschaftlich nachweisbar unterscheiden, eine Kennzeichnung vor. Um diese Regelungen kontrollieren zu können, müssen die für die Überwachung zuständigen Lebensmitteluntersuchungsämter über entsprechende Nachweismethoden verfügen

Durch die gentechnische Modifikation unterscheidet sich der gentechnisch veränderte Organismus in mindestens einer Eigenschaft vom entsprechend nicht gentechnisch veränderten Organismus. Dieser Unterschied bzw. die durch den gentechnischen Eingriff verursachte Änderung auf DNA-Ebene kann prinzipiell zur Identifikation von Lebensmittelrohstoffen, Lebensmitteln und Lebensmittelzutaten herangezogen werden. Bisher bauen nahezu alle entwickelten Nachweisverfahren direkt auf den Nukleotidsequenzen der neueingeführten genetischen Information auf. Voraussetzungen hierfür sind, daß im Rohstoff oder Lebensmittel noch hinreichend intakte rekombinierte DNA vorhanden ist und die Kenntnis der gentechnischen Veränderung. Aufgrund ihrer hohen Sensitivität, ihrer Spezifität und Schnelligkeit ist die Polymerasekettenreaktion (PCR), die Methode der Wahl, um die neueingeführte Erbinformation auch in äußerst geringen Konzentrationen spezifisch nachzuweisen. Die PCR wird heute schon im Lebensmittelbereich erfolgreich eingesetzt. Sie dient beispielsweise zum Nachweis und zur Identifizierung pathogener Mikroorganismen in Lebensmitteln und zur Qualitätssicherung von Lebensmitteln (1-3). Auch die erfolgreiche Identifizierung von Lebensmitteln, die mit Hilfe der Gentechnik hergestellt wurden, wurde bereits beschrieben (4-12). Die deutsche Arbeitsgruppe für Entwicklung von §35 LMBG-Verfahren zum Nachweis mit Hilfe gentechnischer Verfahren hergestellte Lebensmittel erarbeitete inzwischen eine Methode zum Nachweis einer transgenen Kartoffel (13) und von Rohwurst, die mittels gentechnisch veränderten Milchsäurebakterien fermentiert wurde (14), die in die amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 aufgenommen wurden.

Entsprechend der Problematik des Nachweises des Einsatzes gentechnischer Methoden bei der Produktion von Lebensmitteln sind drei Kategorien zu unterscheiden. Stellt das Lebensmittel selbst den gentechnisch veränderten Organismus (GVO) dar (z.B. Tomate, Kürbis, Raps, Mais, Sojabohne) oder enthält das Lebensmittel GMO (z.B. Käse mit Edelschimmel, Joghurt mit Milchsäurebakterien) so sollte grundsätzlich ein Nachweis über die neueingeführte genetische Information möglich sein, da diese Lebensmittel DNA mit ausreichender Fragmentlänge enthalten. Bei verarbeiteten Lebensmitteln und isolierten Produkten aus GMO (z.B. Brot, Stärke, Käse mit Chymosin, Zucker, Tomatenketchup) ist die Möglichkeit einer Identifizierung als mit Hilfe der Gentechnik hergestellt von Fall zu Fall zu prüfen, da die Verarbeitung der Lebensmittel eine der Hauptfaktoren darstellt, die die Zugänglichkeit einer PCR-fähigen DNA-Präparation negativ beeinflussen. Während der Lebensmittelverarbeitung kann es zur Fragmentierung der DNA, z.B. durch mechanische Kräfte, durch enzymatische Prozesse und durch chemische Hydrolyse kommen. Außerdem kann die Verarbeitung zu einem vollständigen Abbau oder zur Entfernung der DNA führen. Eine weitere Schwierigkeit beim Einsatz der PCR als analytisches Verfahren besteht darin, daß eine Reihe von Lebensmittelbegleit- und Inhaltsstoffen die PCR schon in sehr geringen Konzentrationen inhibieren können. Bisher existieren nur wenige systematische Untersuchungen zur Hemmung der PCR durch Lebensmittelinhaltsstoffe. Normalerweise liegen im Lebensmittel nur wenige Substanzen in solchen Konzentrationen vor, in denen sie die PCR inhibieren. Durch das eingesetzte DNA-Extraktionsverfahren können einzelne Substanzen jedoch angereichert werden.

Lebensmittel, die mit Hilfe der Gentechnik hergestellt wurden, waren zunächst für den Aufbau eines Nachweisverfahrens nicht verfügbar. Daher sollte an Modellsystemen der Nachweis auf DNA-Ebene geführt werden. Ziel der Arbeiten war die Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Lebensmittelmatrices und der Verarbeitungstiefe des

Lebensmittels auf die Isolierbarkeit eines PCR-fähigen DNA-Präparates. Als Untersuchungsmaterialien dienen Sauerteigbrot, Bier, Sojaöl, verarbeitete Tomaten- [Ketchup, Mark (Zeneca Plant Sciences, Großbritannien), Pizzatomen, Schältoaten, Suppe) und Kartoffelprodukte [Pommes frites, Chips, Püree, Mehl, Stärke, Bratkartoffeln] sowie ein Enzympräparat [NatuphosR] wurden mittels PCR daraufhin untersucht, ob ein Nachweis des Einsatzes der Gentechnik bei ihrer Herstellung möglich ist (7,8).

Liegen keine Inhibitoren im PCR-Ansatz vor, so genügen 5-20 Zielmoleküle um eine erfolgreiche Vervielfältigung und eine anschließende Identifizierung der Zielsequenz zu ermöglichen wie mit gereinigter *Escherichia coli* DNA und mit einer reinen *Escherichia coli* Zellkultur gezeigt werden konnte. Bei Verwendung von komplexen Lebensmittelmatrices als DNA-Quelle sank die Nachweisgrenze um das 50 bis 100fache ab (7). Das kann den Schwierigkeiten bei der DNA-Extraktion aus der Lebensmittelmatrix und der negativen Beeinflussung der enzymatischen Vervielfältigung durch verschiedene Lebensmittelbestandteile zugeschrieben werden.

Die Untersuchung des Backprozesses (7) zeigte, daß bei Zusatz von *E. coli* DNA weder im fermentierten Teig noch im Brot ein PCR- oder Hybridisierungssignal zu erhalten war. Bei Zusatz von *E. coli*-Zellen ließ sich im fermentierten Teig bei mehr als 10¹⁰ cfu/g das Phytase-Gen nachweisen, während im Brot kein Nachweis mehr möglich war. Möglicherweise ist dieses Ergebnis auf Schwierigkeiten bei der DNA-Extraktion aufgrund des DNA-Adsorptionsvermögens des Teiges zurückzuführen. PCR-fähige DNA ließ sich aus Pizzatomen, Schältoaten, Pommes frites, Bratkartoffeln, Kartoffelmehl und Kartoffelchips isolieren, sodaß der Nachweis des Einsatzes der Gentechnik bei deren Herstellung möglich wird. Bestimmte Biere [Pils, Export, Nutfield lyteTM (BRF International, Großbritannien)], Sojaöl, Tomatensuppe, Kartoffelstärke, Kartoffelpüree und NatuphosR entziehen sich einem solchen Nachweis, da die PCR-Analyse keine Hinweise auf das Vorliegen von DNA in diesen Produkten ergab. Daß das durchgeführte Nachweisverfahren grundsätzlich in der Lage ist, geringe Mengen an DNA auch in diesen Produkten spezifisch nachzuweisen, wurde nach Zugabe von *Escherichia coli* DNA bestätigt. Die Nachweisgrenze für dieses zugesetzte Fremdgen wurde zu 5000 Genkopien pro Gramm Kartoffelpüree und Kartoffelmehl bestimmt. Mit Tomatensuppe, Bier und Sojaöl wurde ein PCR-Signal nach Zugabe von ca. 100 Genkopien pro Gramm Lebensmittel erhalten (8).

Die vorgestellten Untersuchungen zeigen, wie effektiv die beschriebenen Extraktionsverfahren und die PCR-Analyse sind, um (fremde) DNA in Lebensmittelproben nachzuweisen, d.h. prinzipiell sollte es möglich sein über die neueingeführte DNA den Nachweis zu führen, das ein Rohstoff oder ein wenig verarbeitetes Lebensmittel unter Einsatz gentechnischer Verfahren hergestellt wurde. Deshalb sollte das Nachweisverfahren möglichst früh im Herstellungsverfahren ansetzen. Bei stark verarbeiteten Lebensmitteln oder bei Lebensmitteln, die isolierte Produkte aus gentechnisch verarbeiteten Organismen enthalten, dürfte ein eindeutiger Nachweis des Einsatzes der Gentechnik nur in Ausnahmefällen zu führen sein.

Literatur

1. Allmann M., Höfelein Ch., Köppel E., Lüthy J., Meyer R., Niederhauser Ch., Wegmüller B., Candrian U. (1995) Polymerase chain reaction (PCR) for detection of pathogenic microorganisms in bacteriological monitoring of dairy products. *Res. Microbiol.* 146, 85-97
2. Candrian U. (1994) Die Polymerase-Kettenreaktion in der Lebensmittelanalytik. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 85, 704-718
3. Kwaga J., Iverson J.O., Misra V. (1992) Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* by polymerase chain reaction and Digoxigenin-labelled polynucleotide probes. *J. Clin. Microbiol.* 30, 2668-2673
4. Jongedijk E., de Sutter A.A.J.M., Stolte T., Van den Elzen P.A.M., Cornelissen B.J.C. (1992). Increased resistance to potato virus X and preservation of cultivar properties in transgenic potato under field conditions. *Bio/Technology* 10, 422-429
5. Lick S., Keller M., Bockelmann W., Heller K.J. (1996) Optimized DNA extraction method for starter cultures from yoghurt. *Milchwissenschaften* 51, 183-186
6. Meyer R. (1995) Nachweis gentechnologisch veränderter Pflanzen mittels der Polymerase Kettenreaktion (PCR) am Beispiel der FLAVR SAVRTM-Tomate. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 201, 583-586
7. Konietzny U., Greiner R. (1997) Model systems to develop detection methods for food deriving from genetic engineering. *J. Food Comp. Anal.*, 28-35
8. Greiner R., Konietzny U. (1997) Is there any possibility of detecting the use of genetic engineering in processed foods? *Z. Ernährungsw.* 36, 155-160
9. Ehlers B., Strauch E., Goltz M., Kubsch D., Wagner H., Maidhof H., Bendiek J., Appel B. Buhk H.-J. (1997) Nachweis gentechnischer Veränderungen in Mais mittels PCR. *Bundesgesundhbl.* 4/97, 118-121
10. Köppel E., Stadler M., Lüthy J., Hübner P. (1997) Sensitive Nachweismethode für die gentechnisch veränderte Sojabohne ?Roundup ReadyTM?. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 88, 164-175
11. Meyer R. (1995) Nachweis gentechnologisch veränderter Lebensmittel mittels Polymerasekettenreaktion (PCR). *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 86, 648-656
12. Pietsch K., Waiblinger H.U., Brodmann P., Wurz A. (1997) Screeningverfahren zur Identifizierung "gentechnisch veränderter" pflanzlicher Lebensmittel. *Dtsch. Lebensm. Rundsch.* 93, 35-38
13. BgVV (1997) Untersuchung von Lebensmitteln: Nachweis einer gentechnischen Veränderung von Kartoffeln durch Amplifizierung der veränderten DNA-Sequenz mit Hilfe der PCR (Polymerase Chain Reaction) und

Hybridisierung des PCR-Produktes mit einer DNA-Sonde. L 24.01-1. In: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG. Verfahren zur Probenahme und Untersuchung von Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenstände / BgVV. Loseblattausgabe, Stand Februar 1997, Berlin, Köln: Beuth Verlag GmbH

14. BgVV (1997) Untersuchung von Lebensmitteln: Nachweis einer gentechnischen Veränderung von *Lactobacillus curvatus* in Rohwurst durch Amplifizierung der veränderten DNA-Sequenz mit Hilfe der PCR (Polymerase Chain Reaction) und Hybridisierung des PCR-Produktes mit einer DNA-Sonde. L 08.00-44. In: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG. Verfahren zur Probenahme und Untersuchung von Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenstände / BgVV. Loseblattausgabe, Stand Februar 1997, Berlin, Köln: Beuth Verlag GmbH

[SeitenanfangHome](#)

Erstellt mit [Golive CyberStudio](#) auf [Apple Macintosh](#) . Optimiert für [Netscape Navigator 3.01](#)

Copyright 1997 Autor / medi Verlagsgesellschaft für Wissenschaft und Medizin mbH, Mattentiete 2, 20457 Hamburg, Tel.: 040 / 36 97 67-0, Fax: 040 / 36 97 67-70. Internet: <http://www.mediverlag.de>E-mail: mediverlag

Dieser Text ist urheberrechtlich geschützt, seine Nutzung dem privaten oder wissenschaftlichen Bereich vorbehalten. Ein Nachdruck oder die Übernahme in andere Datenbanken ist ohne Erlaubnis nicht gestattet - diese wird aber in der Regel gern erteilt. Anfragen bitte an den Autor oder an den [Verlag](#).