

## DETECCIÓN DE GMOS EN ALIMENTOS

E. GONZÁLEZ FERNÁNDEZ; I. BLANCO GARCÍA; L. ANDREY LÓPEZ; B. GARCÍA FRAGA; O. SÁNCHEZ CONDE & T. VILA VILA

estelgonzalez@alumnos.uvigo.es, ireblanco@alumnos.uvigo.es, martini\_vigo@hotmail.com, belengarcia@alumnos.uvigo.es, oscsanchez@alumnos.uvigo.es, tvila@alumnos.uvigo.es

Alumnos 4º Biología, Materia: Xenética Molecular (2007-2008)

Universidade de Vigo. Profesora: Paloma Morán Martínez.

**Resumen:** un organismo modificado genéticamente (GMOs) es aquel cuyo material es manipulado en laboratorios genéticos donde ha sido diseñado o alterado. En la actualidad hay alimentos que son o se componen en parte por GMOs. Mediante técnicas de detección o amplificación de ADN (PCR) y electroforesis podemos comprobar si estos alimentos son transgénicos o no. En este trabajo se realiza una descripción sobre la determinación de GMOs llevada a cabo durante las prácticas de la asignatura de Genética Molecular junto con una discusión de los resultados obtenidos.

**Resumo:** un organismo modificado xeneticamente (GMOs) é aquel no que o seu material é manipulado en laboratorios xenéticos onde foi deseñado ou alterado. Na actualidade hai alimentos que son ou se compón en parte por GMOs. Mediante técnicas de detección ou amplificación de ADN (PCR) e electroforesis podemos comprobar se estes alimentos son transxénicos ou non. Neste traballo realízase unha descrición sobre a determinación de GMOs levada a cabo durante as prácticas da asignatura de Xenética Molecular xunto cunha discusión sobre os resultados obtidos.

## INTRODUCCIÓN

El objetivo de estas prácticas es detectar la presencia de transgénicos de maíz y soja en determinados alimentos. Para ello, se realiza una extracción de ADN de un alimento. Una vez confirmada la extracción de ADN, se realiza una primera PCR para amplificar el material genético y comprobar que el alimento contiene maíz o soja. Posteriormente realizamos otra PCR para comprobar si se trata de maíz o soja transgénica.

## ALIMENTOS EMPLEADOS

Para la práctica de determinación de GMOs (Genetic Modified Organisms) cada grupo escogió al menos cinco productos alimenticios distintos que contenían soja y/o maíz:

1. Galletas de soja
2. Tiras de maíz fritas
3. Lecitina de soja
4. Semillas de soja fritas
5. Leche de soja
6. Soja en legumbre marca DIET (agricultura ecológica)
7. Galletas Fontaneda Digestive ®(con soja)
8. Galletas dietéticas con chocolate y soja, Arluy®
9. Soja estadounidense
10. Doritos ®
11. Cereales Carrefour
12. Harina de maíz marca P.A.N

De todos ellos, la lecitina de soja era la única que venía etiquetada como producto modificado genéticamente.

## PROCEDIMIENTO Y RESULTADOS

### Paso 1:

Se realizó una extracción de ADN utilizando un protocolo de fenol-cloroformo. Para poder

seguir con el protocolo es necesario que el ADN extraído tenga un tamaño de al menos 200 pb. La comprobación del tamaño se realiza mediante una electroforesis en gel de agarosa y utilizando como referencia un marcador de peso molecular.

### Resultados Grupo 1 (alimentos del 1 al 5)

Los productos de los que se extrajo más cantidad de ADN fueron las galletas de soja y la soja frita, posiblemente por ser los menos procesados en su elaboración. En la lecitina de soja la extracción fue muy baja, pero este producto se trata de un derivado de las semillas, concretamente está formado por un complejo de fosfolípidos, por lo que es muy probable que apenas haya trazas de ADN de soja en este producto. La cantidad y estado del ADN se comprobó realizando una electroforesis en gel de agarosa. Se detectó la presencia de ADN de maíz o soja en tres de nuestros alimentos. Aún así, como en todos los productos se encontró, aunque fuera muy poco, cierta cantidad de ADN, se procedió a su electroforesis en gel de agarosa para observar con más sensibilidad si existía o no ADN. En todas las calles cargadas encontramos ADN, siendo muy débil la visualización de las calles correspondientes a las tiras de maíz, lecitina de soja y leche de soja.

### Resultados Grupo 2 (alimentos del 6 al 12)

En la fotografía de la electroforesis se observa la presencia o la ausencia de ADN (Fig. 1):

- Presencia de ADN: carriles 2, 3, 5 y 7. En los carriles 2 y 7 los fragmentos de ADN en un tamaño algo inferior a 150 pb. Por otro lado, los carriles 3 y 5 presentan un rastro a lo largo del carril lo que indica que hay fragmentos de distintos tamaños.

Ausencia de ADN: carriles 1, 4 y 6. El no

tienen un tamaño algo inferior a 150 pb. Por otro lado, los carriles 3 y 5 presentan un rastro a lo largo del carril lo que indica que hay fragmentos de distintos tamaños.

- Ausencia de ADN: carriles 1, 4 y 6. El no poder observarlo por este método no quiere decir que no haya, sino que se encuentra en una cantidad inferior a 15 ng.

- En el carril 2 se observa ADN de pequeño tamaño pero no un rastro a lo largo del carril, esto quiere decir que el ADN se encuentra muy degradado.

En los carriles 4 y 6 no observamos presencia alguna de ADN, esto puede ser debido a una mala extracción, a cantidades inferiores a 15 ng o a una degradación del ADN. En el carril 5 observamos una gran "mancha" blanca debido a que hay una gran cantidad de fragmentos de ADN de pequeño tamaño.

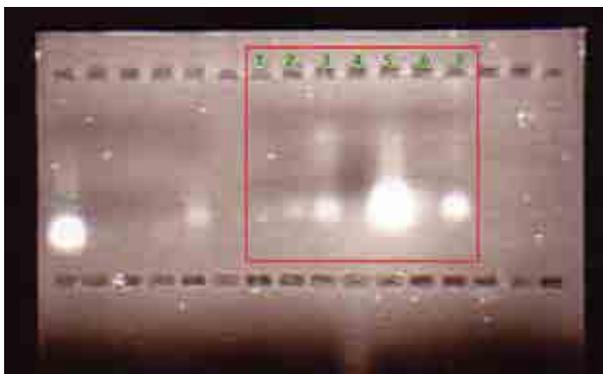


Fig. 1. Resultados de la primera electroforesis. Carril 1: harina de maíz; carril 2: soja en legumbre; carril 3: galleta de soja Fontaneda; carril 4: cereales; carril 5: galleta dietética con chocolate y soja; carril 6: Doritos; carril 7: soja estadounidense.

## Paso 2:

Amplificación del ADN extraído mediante PCR utilizando cebadores específicos de maíz y de soja.

### Resultados Grupo 1 (alimentos del 1 al 5)

Se comprobó la presencia de ADN de maíz

o soja en tres de nuestros alimentos. Para el ADN de aquellos alimentos que no conseguimos amplificar mediante esta PCR podemos decir que es debido a que estos no poseen ADN de este tipo o que, al emplear cebadores para fragmentos de 200 pb, aquellas muestras que tengan su ADN muy degradado y, por tanto, sus fragmentos muy pequeños no amplificarán.

Para comprobar si ese ADN se corresponde específicamente con soja o maíz, se realizó una PCR en la que se usaron cebadores específicos: cebadores para el gen de la lectina en el caso de la soja y cebadores para el gen de la invertasa en el caso del maíz. Estos cebadores sobrepasan los 200 pares de bases, puesto que, como el ADN de los productos está degradado, el uso de cebadores de mayor tamaño conllevarían a que, con una alta probabilidad, no se unieran al ADN a amplificar.

Los resultados de esta PCR fueron positivos para las galletas de soja y la soja frita. Esto seguramente se deba, como se dijo antes, a la alta degradación de ADN y no necesariamente a que en los restantes productos no haya soja o maíz.

### Resultados Grupo 2 (alimentos del 6 al 12)

Se realizó una PCR de 30 ciclos a una temperatura de anillamiento de 50°C para comprobar si el ADN obtenido de la extracción pertenece a maíz o a soja utilizando cebadores específicos para estos alimentos. En el caso del maíz los cebadores utilizados son de la invertasa y para la soja de la lecitina. Después realizamos una electroforesis para observar los resultados de la amplificación (Fig. 2).

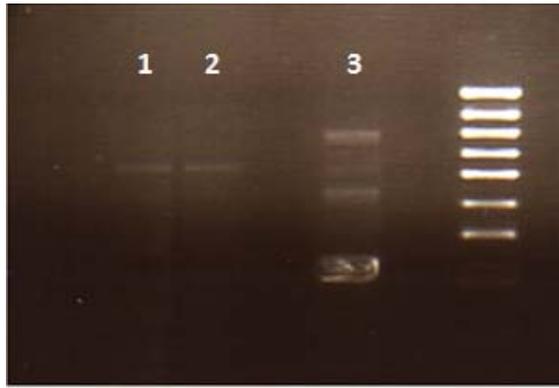


Fig. 2. Resultados de la segunda electroforesis. Carril 1: galletas dietética con chocolate y soja; carril 2: galleta soja Fontaneda; carril 3: Doritos.

### Paso 3:

Una vez que se detecta mediante PCR la presencia de maíz o de soja, se realiza una segunda tanda de PCR utilizando cebadores específicos del fragmento transgénico, bien del promotor, del terminador o del gen en si.

#### Resultados Grupo 1 (alimentos del 1 al 5)

Con los dos productos confirmados se procedió a la averiguación de si contenían soja transgénica. Para ello se realizó una PCR en la que los cebadores son específicos para productos transgénicos en general, puesto que no los hay específicos para soja transgénica. Los cebadores utilizados fueron para el promotor 35s y para el terminador NOS. Tras la amplificación se realizó una nueva electroforesis en gel de agarosa para la visualización de las bandas de ADN, comparándolas con un marcador que se cargó en otra calle.

El resultado para organismos genéticamente modificados fue negativo para ambos productos. Por tanto, el etiquetado de los mismos es correcto.

#### Resultados Grupo 2 (alimentos del 6 al 12)

Se realizó una nueva PCR para amplificar el ADN de los tres alimentos en los que

detectamos la presencia de maíz o soja. Para ello utilizamos, como cebadores 35S y NOS para la soja y 35S, Cry y NOS para el maíz. El objetivo de este último punto es poder comprobar si son alimentos transgénicos o no.

Aunque parece que ninguna de estas tres

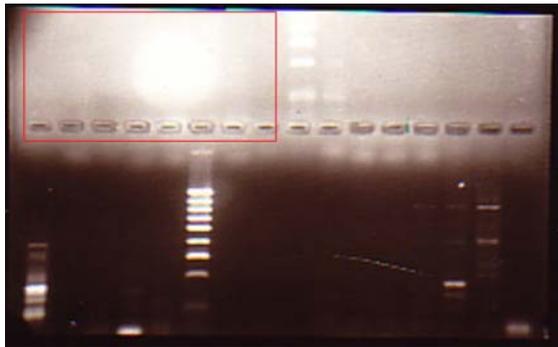


Fig. 3. Resultado de la tercera electroforesis

muestras pertenece a un alimento transgénico realizamos otra PCR de comprobación ya que los resultados no son del todo claros (Fig. 3).

En esta PCR de comprobación modificamos la temperatura de anillamiento de 50°C a 53°C para aumentar la especificidad de la



Fig. 4. Comprobación de la tercera electroforesis.

prueba.

Con esta segunda PCR verificamos que entre nuestros alimentos no hay ningún transgénico (Fig. 4).

### PROPUESTAS DE MEJORA DEL PROTOCOLO DE DETECCIÓN DE GMOS

1. Realización de un control negativo: para comprobar cómo sería un resultado negativo para transgénicos, hacemos las mismas pruebas con las mismas disoluciones pero sin añadir ADN.
2. Realizar un control positivo: para comprobar cómo sería un resultado positivo para transgénicos, realizamos las mismas pruebas con las mismas disoluciones añadiendo ADN de algún alimento que sepamos, de antemano, que es verdaderamente transgénico.
3. Disminuir la temperatura de anillamiento de la primera PCR para obtener resultados más genéricos y detectar, así, presencia de maíz o soja en algún alimento más.

### POSIBLES FALLOS COMETIDOS EN ESTAS PRÁCTICAS

- Error en el pipeteo.
- Mala extracción del ADN.
- Que los alimentos estén en condiciones

inadecuadas para la realización de estas prácticas. Por ejemplo el proceso industrial que sufre el maíz para obtener harina de maíz.

- Dificultades en la extracción de ADN.

En el caso del maíz se han registrado numerosos falsos negativos debido a la dificultad de la extracción del ADN causado por la acción inhibitoria sobre la PCR de sustancias como el almidón y polisacáridos acidificados (Porcar et al., 2007). Por ello, quizás la extracción de ADN en maíz debió haberse realizado con otro procedimiento como el que llevaron a cabo en su estudio Porcar et al. (2007).

En el caso de la leche de soja y la lecitina de soja, también existe bibliografía en la que se pone de manifiesto la dificultad de la extracción de ADN debido a los procesos que sufren durante su elaboración. Así se pone de manifiesto en el estudio realizado por Vrodet et al. (2007) en el que a pesar de realizar tres tipos distintos de procedimientos, todos los resultados en estos productos fueron muy bajos (Fig. 5).

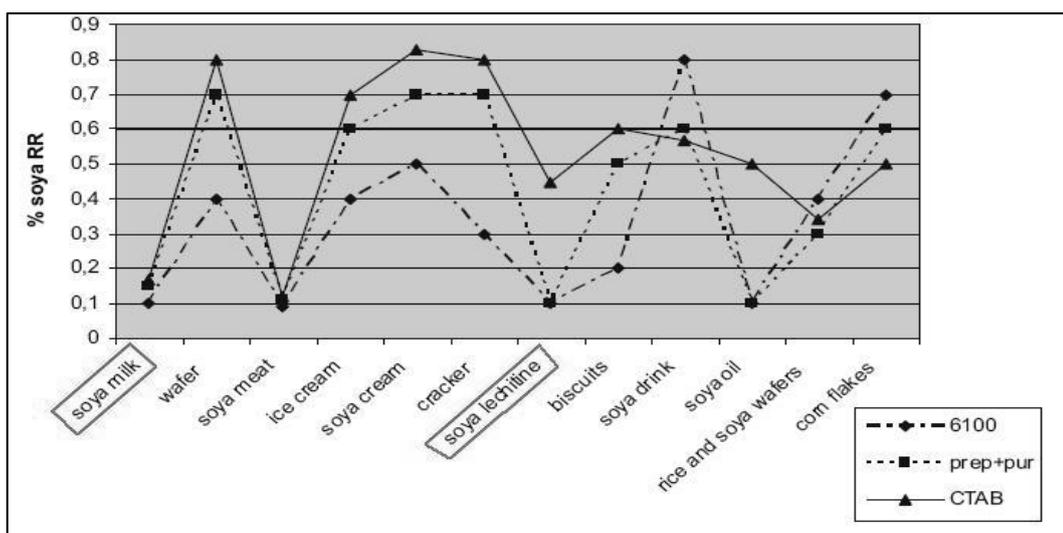


Fig. 5. Gráfica que muestra como los resultados en la extracción de ADN de la leche de soja y la lecitina de soja son bajos con respecto a los resultados obtenidos con otros alimentos.

### BIBLIOGRAFÍA

BARAHONA ECHEVARRÍA, A. 2004. *Ingeniería Genética: origen y desarrollo*. En Muñoz Rubio, Julio (Coord). Alimentos transgénicos: ciencia, ambiente y mercado: un debate abierto. Siglo XXI Editores. 1º ed. México, D. F.

HELLER, K. 2003. *Genetically engineered food: methods and detection*. Wiley-VCH Weinheim.

PEDAUYÉ, J. 2000. *Alimentos transgénicos: la nueva revolución verde*. McGraw-Hill/

Interamericana, España.

PORCAR, M., RAMOS, S. & LATORRE, A. 2007 *A simple extraction method suitable for PCR detection of genetically modified maize*. JSFA. Vol. 37, pp. 2728-2731.

VODRET, B., MILIA, M., ORANI, M.G., SERRATRICE, G. & MANSUCO, M.R. 2007. *Detection of Genetically Modified Organisms* En Food: Comparison Among Three Different Extractions Methods. Vet. Res. Comm. 31: 385-388.