

QUANTIFICATION OF GENETICALLY MODIFIED MAIZE MON 810 IN PROCESSED FOODS

Eva Bergerová, Zuzana Godálová, Peter Siekel

ABSTRACT

Maize MON 810 (*Zea mays* L.) represents the majority of genetically modified food crops. It is the only transgenic cultivar grown in the EU (European Union) countries and food products with its content higher than 0.9 % must be labelled. This study was aimed at impact of food processing (temperature, pH and pressure) on DNA degradation and quantification of the genetically modified maize MON 810. The transgenic DNA was quantified by the real-time polymerase chain reaction method. Processing as is high temperature (121 °C), elevated pressure (0.1 MPa) and low pH 2.25 fragmented DNA. A consequence of two order difference in the species specific gene content compared to the transgenic DNA content in plant materials used has led to false negative results in the quantification of transgenic DNA. The maize containing 4.2 % of the transgene after processing appeared to be as low as 3.0 % (100 °C) and 1.9 % (121 °C, 0.1 MPa). The 2.1 % amount of transgene dropped at 100 °C to 1.0 % and at 121 °C, 0.1 MPa to 0.6 %. Under such make up the DNA degradation of transgenic content showed up 2 or 3 time higher decrease a consequence of unequal gene presence. Such genes disparity is expressed as considerable decrease of transgenic content while the decrease of species specific gene content remains unnoticed. Based on our findings we conclude that high degree of processing might have led to false negative results of the transgenic constituent quantification. Determination of GMO content in processed foods may leads to incorrect statement and labelling in these cases could misleads consumers.

Keywords: processed food, MON 810 maize, PCR quantification

ÚVOD

Už více jak 10 let je v centru odborné pozornosti, ale i laické veřejnosti problematika využívání geneticky modifikovaných (GM) plodin, potravin a krmiv. Součástí potravin jsou především složky pocházející z geneticky modifikovaných organismů (GMO), přičemž kukuřice a sója jsou nejvíce používané geneticky upravené rostliny (Mazzara et al., 2009). V EU je autorizovaných celkem 30 především rostlinných produktů a z nich 12 kultivarů GM kukuřice. Legislativa EU vyžaduje označování uvedených potravin v případě, že obsah GM složky je vyšší než 0,9 %, a to za předpokladu, že je tento obsah náhodný či technologicky nevyhnutelný (Regulation (EC) No 1830/2003). Na stanovení množství transgenní složky v potravinách jsou dostupné bioanalytické metody založené na analýze DNA a proteinů. V současné době se uplatňuje zejména metoda PCR (polymerázová řetězová reakce), zaměřená na sledování přítomnosti GMO. Validované postupy, dostupné v EU, jsou optimalizované pouze pro suroviny a technologicky neopracované potraviny a jejich složky (Directive 2003/89/EC; Rodríguez-Lazáro et al., 2007). Při úpravě potravin vznikají změny analytických komponentů, významná je především degradace DNA jak cereálních (Gryson et al., 2007; Hrnčířová et al., 2008; Bergerová et al., 2010; Bergerová et al., 2011), tak i jiných rostlinných materiálů vyskytujících se např. v masových, resp. pekárenských výrobcích (Meyer et al., 1996). Na citlivost vzpomínané

PCR metody poukázal Hird a i. (Hird et al., 2006) ve své práci, která byla zaměřená na vliv velikosti amplifikované DNA v opracovaných masových výrobcích. Zjistili, že PCR produkty o velikosti 351 bp byly detekovatelné lépe, než specifické a běžně používané menší amplikony (80 – 121 bp). Technologické zpracování potravin se může podílet na ovlivnění kvality dosažených výsledků získaných po PCR z pohledu kvalitativní analýzy a i kvantifikace složek potravin (Bergerová et al., 2011; Berdal & Holst-Jensen, 2001). Názory a publikované výsledky v tomto směru však nejsou jednoznačné. Zatímco Debode a i. (Debode et al., 2007) nezjistili žádný rozdíl mezi obsahem transgenní složky DNA po technologickém ošetření, další autoři rozdíl zjistili (Yoshimura et al., 2005).

Nejnámějším zástupcem transgenní kukuřice je rostlina obsahující bakteriální gen z *Bacillus thuringiensis*, ssp. *kurstaki* HD-1, která byla modifikována na produkci proteinu CRY1A(b) (Querci et al., 2004), který je toxický a působí vůči specifickým druhům hmyzích škůdců. V České i Slovenské republice v současné době patří k povoleným i komerčně pěstovaným plodinám kukuřice MON810, která díky vlastní produkci uvedeného toxinu umožňuje velmi efektivní ochranu proti zavíječi kukuřičnému (*Ostrinia nubilalis*), jehož housenky závažně poškozují rostlinu a následně se zvyšuje napadení zrn v palici houbovými chorobami (plísněmi produkujícími

mykotoxiny), takže dochází k poklesu množství i kvality sklizeného produktu (Knowles, 1994).

V práci jsme se zaměřili na sledování účinků technologického zpracování GM kukuřice MON 810 a konvenční kukuřice, kdy jsme pomocí sterilizace společně působení teploty, pH a tlaku navodili podobné podmínky, kterými se upravují některé konzervované potraviny. Experimenty byly založené na stanovení množství a degradace transgenní složky v technologicky opracovaných potravinových maticích.

MATERIÁL A METODY

Rostlinný materiál

Zrna konvenční kukuřice (*Zea mays* L.) byly získány z místní obchodní sítě (Mariana, Ivanka pri Dunaji, Slovensko). Vzorky modifikované kukuřice MON 810 (4,2 a 2,1 %) byly získány z České republiky (Agrokomplex Kunovice) a ze Slovenska (Merkanta International, Bratislava). Jako kontrola nám posloužily reálné vzorky konzervované kukuřice z obchodních sítí: Tesco, Billa (Novofrukt, Nové Zámky, Slovensko) a jako pozitivní kontrolu PCR jsme použili technologicky neopracovaný (nativní) vzorek konvenční kukuřice a MON 810, tedy DNA ze zelené části rostlin.

Podmínky konzervace: sterilizace

Zrna kukuřice byly konzervované ve třech různých nálevech: slaný (kontrolní) a dva druhy sladko-kyselého nálevu. Slaný nálev (pH 7,6) obsahoval 20 g soli v 1 l pitné vody. První sladkokyselý nálev (pH 2,25) obsahoval 20 g soli, 100 g cukru, 250 ml 8 % octu a 1 l pitné vody. Druhý sladko-kyselý nálev (pH 4,25) měl to stejné složení jako předcházející nálev, pouze obsahoval 3 ml octu. Vzorky kukuřičných zrn byly konzervované s využitím tlaku (120 °C; 2 min, 5 min a 10 min, 0,1 MPa) a sterilizací ve vodní koupeli (100 °C; 10 min, 20 min a 30 min), ponechány tři týdny v těchto nálevech a poté sušeny na vzduchu při pokojové teplotě.

Extrakce DNA

Konzervované vzorky byly homogenizovány na mouku pomocí mixeru AY47R1 (Moulinex, Barcelona, Španělsko). Mouka byla dále osetá přes síta poskytující velikost částic v oblasti 0,2-0,8 mm. DNA byla poté izolována v triplexu pomocí extrakční metody cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB); (ISO 21571:2005), nebo pomocí komerční soupravy GeneSpin kit (GeneScan, Teltow, Německo). DNA ze zelených částí rostliny (pozitivní kontrola) byla extrahována pomocí DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen, Kalifornie, USA) Množství DNA jsme určili spektrofotometricky (SmartSpec™ Plus spektrofotometr, BioRad, Hercules, Kalifornie, USA).

Monitorování degradace DNA

Degradaci DNA jsme monitorovali pomocí metody PCR použitím cyklieru BioRad (iCycler Thermal Cycler, Sergate, Itálie), protokol PCR: Úvodní denaturace 95 °C 5 min., 40 cyklů: Denaturace 95 °C 30 s., Anelace 65 °C 30 s., Polymerizace 72 °C 1 min. a závěrečná polymerizace 72 °C 10 min.. PCR reakční směs ve 25 µl obsahovala: 1x koncentrovaný PCR roztok (Qiagen, Hieden, Německo); 2,5 mmol.l⁻¹ MgCl₂; 200 µmol.l⁻¹ dNTP (Invitrogen, Carlsbad, Kalifornie, USA); 0,3 µmol.l⁻¹ primerů, dále 1 U HotStar Taq polymerázy (Qiagen) a 2,5 µl DNA. Primery pro jednotlivé sekvence

druhově specifických genů high mobility group (*hmg*) a invertázového genu (*ivn*), jako i transgenu *cryIAb* a sondy, se kterými jsme pracovali, byly navrhnuté pomocí GeneBank (National Center for Biotechnology Information, Bethesda, Maryland, USA) a optimalizované použitím speciálního programu Primer 3 (Whitehead Institute Nine Cambridge Center, Cambridge, Massachusetts, USA). Amplikony byly analyzovány elektroforézou v 1,5 % agarózovém gelu. Jako pozitivní kontrolu PCR reakce jsme použili DNA extrahovanou ze zelené části transgenní a technologicky nezatižené (nativní) rostliny. Negativní kontrola obsahovala pouze PCR reakční směs doplněná o vodu bez přidání templátu.

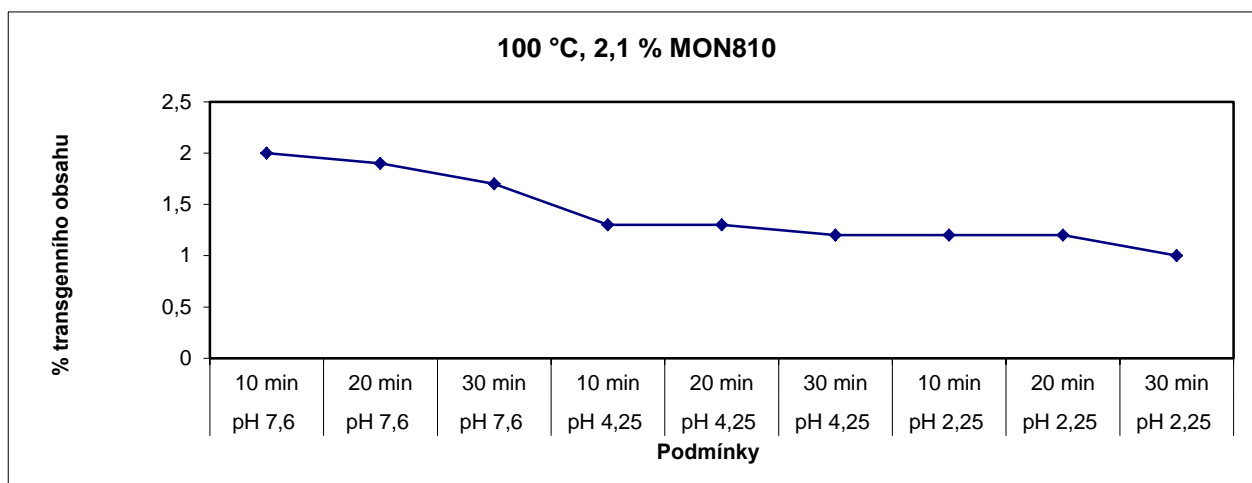
Kvantitativní analýza transgenní DNA

Pro zjištění přítomnosti množství (%) transgenní složky DNA v kukuřičných vzorcích MON 810 jsme použili metodu real-time PCR pomocí cyklieru GeneAmp® PCR System 7900 (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornie, USA) a BioRad iCycler (Thermal Cycler, Sergate, Itálie). PCR reakční směs ve 25 µl obsahovala: 1x koncentrovaný PCR roztok (Qiagen, Hieden, Německo); 2,5 mmol.l⁻¹ MgCl₂; 200 µmol.l⁻¹ dNTP (Invitrogen, Carlsbad, Kalifornie, USA); 0,3 µmol.l⁻¹ primerů, 10 mmol.l⁻¹ sondy značenou FAM, dále 1 U HotStar Taq polymerázy (Qiagen) a 2,5 µl DNA¹⁶. Jako pozitivní kontrolu jsme použili vzorek konvenční nativní kukuřice a nativní MON 810. Negativní kontrola obsahovala pouze reakční PCR směs doplněnou o vodu bez přidání templátu. Množství extrahované a v reakci použité DNA z transgenní i netransgenní kukuřice pomocí metody CTAB bylo 40 ng.µl⁻¹ o objemu 2,5 µl DNA na reakci. Amplifikované části *hmg* genu kukuřice (79 bp) a *cryIAb* genu (92 bp) byly použity pro DNA kvantitativní analýzu. Kalibrační křivka reakce byla vytvořena softverovým vyhodnocením přístroje s parametry korelačního koeficientu R²: 0,98 – 1,0 korespondující s účinností reakce E: 99,1 – 99,8 % a slope: -2,3 – -2,4.

Pro vytvoření kalibrační křivky byl použit referenční materiál (IRMM, Geel Belgie). Obsah transgenní DNA složky byl stanoven na základě kalibrační čáry a amplifikační křivky a hodnocen vzhledem k množství transgenu k druhově specifickému genu. Každý analyzovaný vzorek byl kvantifikován osmkrát. Všechny výsledky týkající se problematicky vlivu technologických účinků na degradaci transgenní složky DNA jsou statisticky vyhodnoceny.

VÝSLEDKY

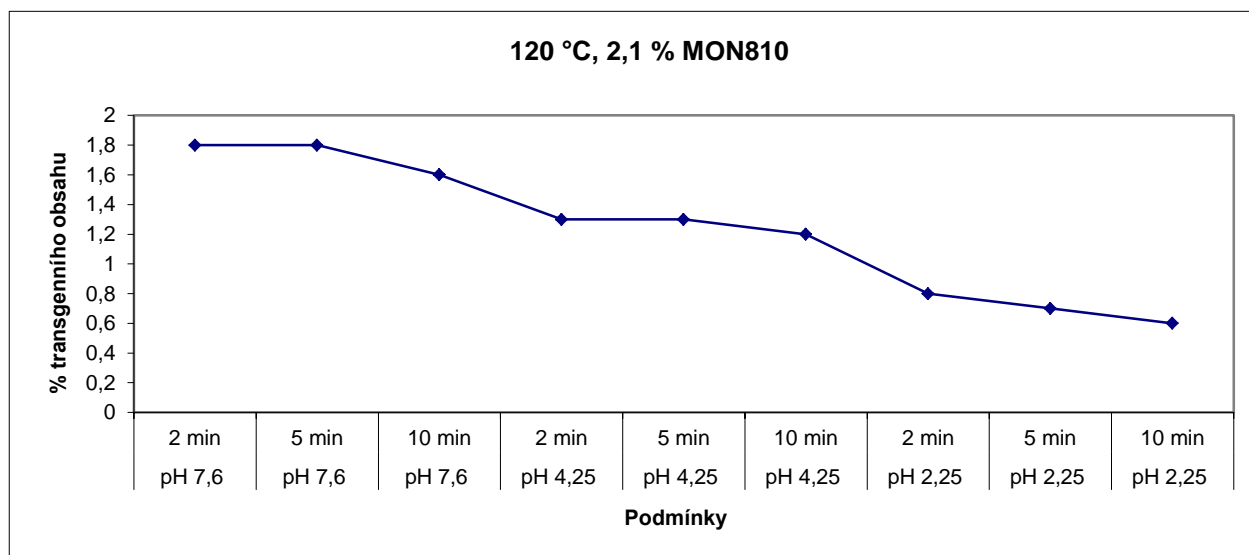
DNA byla po homogenizaci extrahována dvěma různými způsoby: CTAB a GeneSpinem. Pro pozitivní kontrolu jsme zvolili extrakci DNA pomocí komerčního kitu DNAeasy. Optimální metodou pro extrakci DNA z našich technologicky ošetřených i syrových vzorků byla metoda CTAB, pomocí které se nám podařilo získat dostatečné množství i kvalitu nukleových kyselin pro analýzu PCR (Bergerová et al., 2011). V případě komerčního kitu GeneSpinu, jsme získali sice DNA o vhodné kvantitě, ale čistota nebyla optimální. Vliv technologického zpracování potravin na degradaci DNA jsme dále analyzovali pomocí PCR a vizualizovali elektroforézou v agarózovém gelu (1,5 %). Čím jsou nastoleny přísnější podmínky sterilizace nebo konzervování (tj. vyšší stupeň degradace DNA), tím



Obr. 1A Pokles obsahu transgenní složky kukuřice 2,1 % MON 810 při nízkém pH a zvýšené teplotě

se hodnoty Ct u PCR výrazně zvýší a ve vzorcích je detekována přítomnost menšího množství intaktní DNA (Moreano et al., 2005). V naší práci jsme zaznamenali degradaci u všech větších ampliconů DNA v jednotlivých maticích po technologickém zpracování. Jednoznačně byla degradována DNA pro velké amplicony (401 bp, 696 bp) invertázového genu konvenční kukuřice i MON 810. Naopak menší amplicony (79 bp, 92 bp, 124 bp) genu *hmg* nebo *cryIA(b)* u MON 810 bylo ještě možné identifikovat. Pro kvantifikaci transgenního obsahu DNA ve vzorcích technologicky ošetřené kukuřice MON 810 jsme použili metodu real-time PCR (Bergerová et al., 2010; Bergerová et al., 2011). V případě vzorku MON 810 s

obsahu 4,2 % GM se po technologickém ošetření snížilo v průměru na 3,5 % při 100 °C (Obr. 1C) a na 2,93 % GM při 120 °C; 0,1 MPa (Obr. 1D). Konkrétně v případě 4,2 % GM kukuřice, tedy transgenní obsah DNA se snížil o 43,5 % při 120 °C, v podmínce pH 2,25 a u 2,1 % vzorků MON 810 se transgenní obsah DNA snížil o 65 % ve stejné podmínce. Dokázali jsme, že jen určitý stupeň technologického procesu potravin má vliv na snížení stanovitelného množství transgenního obsahu DNA. Větší vliv na stanovení transgenní DNA byl sledován v kombinaci s účinky teploty a tlaku (120 °C a 0,1 MPa) ve srovnání se sterilizací při 100 °C. Je také zřejmé, že snížení stanovitelného obsahu transgenní složky nastalo

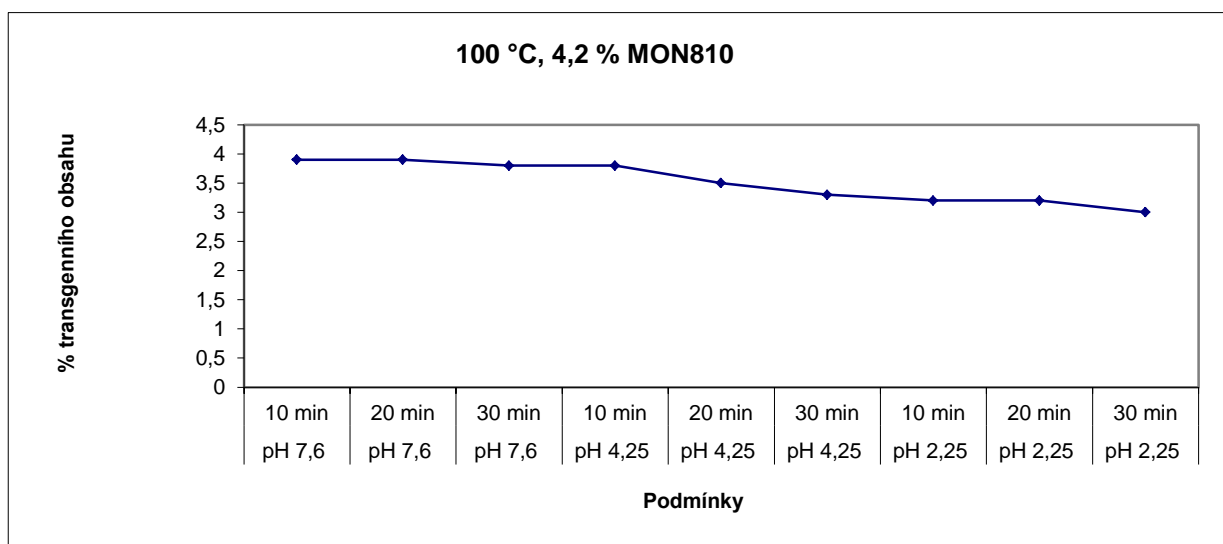


Obr. 1B Pokles obsahu transgenní složky kukuřice 2,1 % MON 810 při nízkém pH, zvýšeném tlaku a zvýšené teplotě

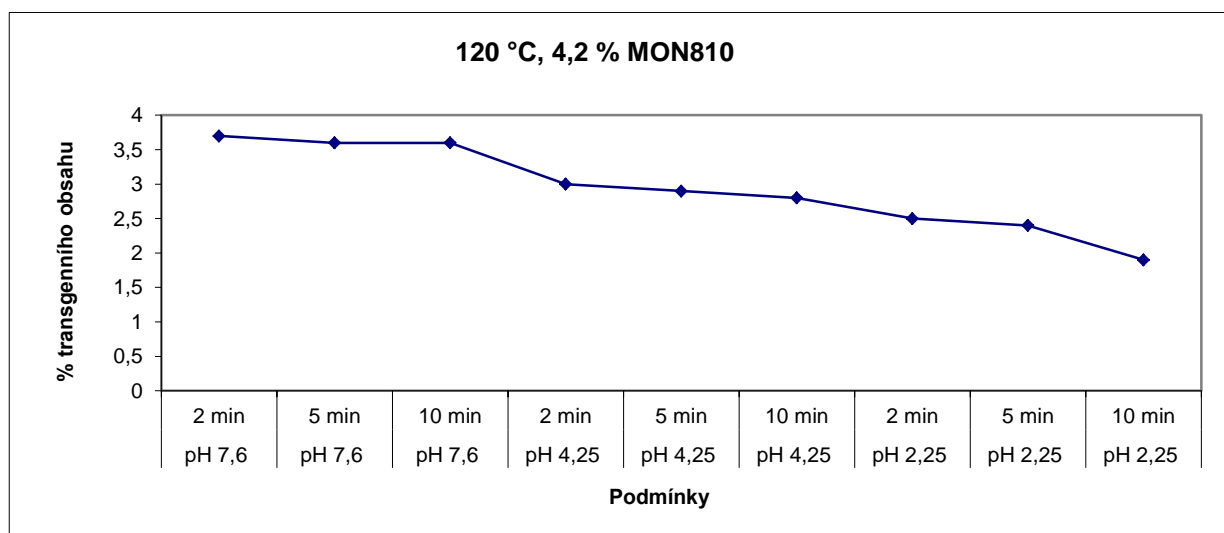
obsahem 4,2 % a 2,1 % transgenní složky (Bergerová et al., 2010) jsme zjistili, že některé technologické procesy mají značný vliv na degradaci DNA a nezávisí na druhu matrice. Podobně jsme dle získaných výsledků dosáhly toho, že množství transgenní DNA u kukuřice MON 810 o

v uvedených podmínkách, na rozdíl od vzorků, které nebyly technologicky ošetřeny (Bergerová et al., 2010).

Vzorek MON 810, který obsahoval 2,1 % transgenu, tedy jeho GM obsah poklesl průměrně na 1,41 % při 100 °C (Obr. 1A) a při 120 °C; 0,1 MPa na 1,23 % (Obr. 1B).



Obr. 1C Pokles obsahu transgenní složky kukuřice 4,2 % MON 810 při nízkém pH a zvýšené teplotě



Obr. 1D Pokles obsahu transgenní složky kukuřice 4,2% MON 810 při nízkém pH, zvýšeném tlaku a zvýšené teplotě

Podobně jsme dle získaných výsledků dosáhly toho, že množství transgenní DNA u kukuřice MON 810 o obsahu 4,2 % GM se po technologickém ošetření snížilo v průměru na 3,5 % při 100 °C (Obr. 1C) a na 2,93 % GM při 120 °C; 0,1 MPa (Obr. 1D).

Konkrétně v případě 4,2 % GM kukuřice, tedy transgenní obsah DNA se snížil o 43,5 % při 120 °C, v podmínce pH 2,25 a u 2,1 % vzorků MON 810 se transgenní obsah DNA snížil o 65 % ve stejné podmínce. Dokázali jsme, že jen určitý stupeň technologického procesu potravin má vliv na snížení stanovitelného množství transgenního obsahu DNA. Větší vliv na stanovení transgenní DNA byl sledován v kombinaci s účinky teploty a tlaku (120 °C a 0,1 MPa) ve srovnání se sterilizací při 100 °C. Je také zřejmé, že snížení stanovitelného obsahu transgenní složky nastalo v uvedených podmínkách, na rozdíl od vzorků, které nebyly technologicky ošetřeny (Bergerová et al., 2010).

DISKUSE

Potraviny jsou často při svém zpracování a výrobě vystavené různým technologickým podmínkám, např. pH (kyselé a alkalické), teplota, tlak, UV-záření atd. Při těchto procesech dochází k postupné fragmentaci DNA (Bergerová et al., 2011). K podobnému závěru dospěly i další práce (Bergerová et al., 2010; Meyer et al., 1996; Gryson et al., 2002). Analýza PCR vzorků sterilizovaných (100 °C) nebo autoklávovaných (120 °C) odhalila snížení extrahované DNA v závislosti na velikosti amplifikované DNA a časovému intervalu daných technologických podmínek (pH, tlak); (Obr. 1). Toto zjištění koreluje s dřívějšími pracemi (Gryson et al., 2007; Gryson et al., 2008; Hird et al., 2006; Hrnčířová et al., 2008; Moreano et al., 2005).

V předložené práci jsme se snažili posoudit účinek technologických procesů vzhledem na změnu transgenního obsahu (%) DNA v geneticky modifikovaných matricích rostlinného původu prostřednictvím metody real-time

PCR, čemuž předcházelo sledovat i uvedený efekt vzhledem na degradaci DNA pomocí PCR. Celkový obsah DNA a kvalita potravin závisí na stupni technologického zpracování, během něhož dochází k postupnému fragmentaci nukleové kyseliny (Hrnčířová et al., 2008; Bergerová et al., 2010; Bergerová et al., 2011; Trifa & Zhang, 2004). I když legislativa EU vyžaduje označování transgenního obsahu v GM potravinách, jsou analytické metody vyvinuté pouze pro syrové rostlinné materiály (Regulation (EC) No 1830/2003; Directive 2003/89/EC). Zpracování potravin a s ní související degradace DNA, může ovlivnit kvalitu i kvantitu analytických výsledků. Bylo zjištěno, že stupeň technologického zpracování potravin má vliv na množství stanovené transgenní složky DNA v potravine. Tím pádem může být nesprávně hodnocen obsah GM složky potravin (Berdal & Holst-Jensen, 2001), což může uvést spotřebitele v omyl. V některých studiích byly prokázány statisticky významné rozdíly při kvantifikaci obsahu transgenní DNA mezi syrovými a technologicky opracovanými potravinami (Yoshimura et al., 2005). Naopak, další výsledky ukázaly, že fyzikální degradace DNA neprokázala žádný vliv na detekci (Hurst et al., 1999) a relativní kvantifikaci transgenního obsahu DNA (Debode et al., 2007). Avšak např. Engel s kolektivem (Engel et al., 2006) požadovali další experimentální důkazy, které by přispěly k závěru, že ani složení potravin, ani jejich zpracování neovlivnily správnost vyhodnocení relativní kvantifikace geneticky modifikovaných potravin. V naší práci jsme se i z tohoto důvodu zaměřili na technologicky zpracované vzorky, které byly vystaveny různým podmínkám sterilizace (teplota, tlak, pH) a v různých časových intervalech. Z uvedeného vyplývá, že hlavní roli při degradaci DNA v technologicky ošetřených potravinách sehrává především spolupůsobení teploty, tlaku a pH a je časově závislé.

ZÁVER

Vliv technologického působení při opracování vzorků vzhledem na degradaci DNA a kvantitu transgenního obsahu v potravinách byl monitorován pomocí PCR/ real-time PCR. Zjistili jsme, že velikost amplikonů, stupeň a doba technologického opracování vzorků za spoluúčasti tlaku a pH mohou ovlivnit detekci ale i kvantifikaci DNA v modifikovaných a nemodifikovaných potravinách rostlinného původu. Na rozdíl od procesu, kdy byla matrice vystavena pouze tepelné úpravě a kde se neprojevil jednoznačný pokles GM obsahu DNA, tedy tepelné opracování nemělo praktické důsledky pro kvantifikaci transgenního obsahu v potravinách. Teplota, čas procesu, nízké pH a zvýšený tlak (120 °C a 0,1 MPa) však už značně ovlivňují kvantifikaci transgenní DNA. V uvedených experimentech byl zjištěn 2 – 3 násobný pokles obsahu transgenní složky. Domníváme se, že stanovení nižšího obsahu transgenní DNA oproti vzorkům před zpracováním, je zapříčiněno kromě stupně a doby technologického opracování i rozdílným počtem kopií druhově specifického genu vůči transgenu. Transgenu se vyskytuje v analyzovaných vzorcích o dva řády méně. Tento jev by mohl být způsoben zřetelnějším úbytkem transgenní DNA a zanedbatelným poklesem množství druhově specifického genu. Navíc se musí brát do úvahy i to, že typ kvantifikace transgenní složky je relativní.

LITERATURA

- BERDAL, K. H., HOLST-JENSEN, A. 2001. Roundup Ready soybean event-specific real-time quantitative PCR assay and estimation of the practical detection and quantification limits in GMO analyses. In *Eur. Food Research Technol.*, vol. 213, p. 432-438.
- BERGEROVÁ, E., GODÁLOVÁ, Z., SIEKEL, P. 2011. Combined effect of temperature, pressure and low pH on the DNA amplification of plant derived foods. In *CJFS*, vol. 29, p. 337-345.
- BERGEROVÁ, E., HRNČÍROVÁ, Z., STANKOVSKÁ, M., LOPAŠOVSKÁ, M., SIEKEL, P. 2010. Effect of Thermal Treatment on the Amplification and Quantification of Transgenic and Non-transgenic Soybean and Maize DNA. In *Food Analytical Methods*, vol. 3, p. 211-218.
- DEBODE, F., JANSSEN, E., BERBEN, G. 2007. Physical degradation of genomic DNA of soybean flours does not impair relative quantification of its transgenic content. In *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 226, p. 273-280.
- DIRECTIVE 2003/89/EC of the European Parliament and of the Council of 10 November 2003 amending Directive 2000/13/EC as regards indication of the ingredients present in foodstuffs. 2003. In *Official Journal of the European Union*, L308, p. 15.
- ENGEL, K. H., MOREANO, F., EHLERT, A., BUSCH, U. 2006. Quantification of DNA from genetically modified organisms in composite and processed foods. In *Trends in Food Sci. Technol.*, vol. 17, p. 490-497.
- GRYSON, N., MESSENS, K., DEWETTINCK, K. 2007. Influence of cocoa components on the PCR detection of soy lecithin DNA. In *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 226, p. 247-254.
- GRYSON, N., MESSENS, K., DEWETTINCK, K. 2008. PCR amplification of soy ingredients in bread. In *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 227, p. 345-351.
- GRYSON, N., RONSSSE, F., MESSENS, K., DE LOOSE, M., VERLEYEN, T., DEWETTINCK, K. 2002. Detection of DNA during the refining of soybean oil. In *JAACS*, vol. 79, p. 171-174.
- HIRD, H., CHISHOLM, J., SANCHEZ, A., HERNANDEZ, C., GOODIER, R., SCHNEEDE, K., BOLTZ, C., POOPING, B. 2006. Effect of heat and pressure processing on DNA fragmentation and implications for the detection of meat using a real-time polymerase chain reaction. In *Food Addit. Contam.*, vol. 23, p. 645-650.
- HRNČÍROVÁ, Z., BERGEROVÁ, E., SIEKEL, P. 2008. Effects of technological treatment on DNA degradation in selected food matrices of plant origin. In *JFNR*, vol. 47, p. 23-28.
- HURST, C. D., KNIGHT, A., BRUCE, I. J. 1999. PCR Detection of Genetically Modified Soya and Maize in Foodstuffs. In *Mol. Breeding*, vol. 5, p. 579-586.
- KNOWLES, B. H. 1994. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal delta endotoxins. In *Adv. Insect Physiol.*, vol. 24, p. 275-336.
- MAZZARA, M., GRAZIOLI, E., SAVINI, C., VAN DEN EEDE, G. 2009. Report on the Verification of the Performance of a MON810 Event-specific Method on Maize Line MON810 Using Real-time PCR. In *Office for Official Publications of the European Communities*, Luxembourg.
- MEYER, R., CHARDONNENS, F., HÜBNER, P., LÜTHY, J. 1996. Polymerase Chain Reaction (PCR) in the Quality and Safety Assurance of Food: Detection of Soya in Processed Meat Products. In *Zeit Lebensm. Unters. Forsch.*, vol. 203, p. 339-344.

MOREANO, F., BUSCH, U., ENGEL, K. H. 2005. Distortion of genetically modified organisms quantification in processed foods: Influence of particle size composition and heat-induced DNA degradation. In *J. Agr. Food Chem.*, vol. 53, p. 9971-9979.

QUERCI, M. JERMINI, M., VAN DEN EEDE G. 2004. The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms, User manual. European Commission, Joint Research Centre, 114, ISBN-92-79-02242-3.

REGULATION (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of 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. 2003. In *Official Journal of the European Union*, L 268/24.

RODRÍGUES-LAZÁRO, D., LOMBARD, B., SMITH, H., RZEZUTKA, A., D'., AGOSTINO, M., HELMUTH, R., SCHROETER, A., MALORNY, B., MIKO, A., GUERRA, B., DAVIDSON, J., KOBILINSKY, A., HERNÁNDEZ, M., BERTHEAU, Y., COOK, N. 2007. Trends in analytical methodology in food safety and quality: monitoring microorganisms and genetically modified organisms. In *Trends Food Sci. Tech.*, vol. 8, p. 306-319.

TRIFA, Y., ZHANG, D. 2004. DNA content in embryo and endosperm of maize kernel *Zea mays* L: Impact on GMO quantification. In *J. Agr. Food Chem.*, vol. 52, p. 1044-1048.

YOSHIMURA, T., KURIBARA, H., MATSUOKA, T., KODAMA, T., IIDA, M., WATANABE, T., AKIYAMA, H., MAITANI, T., FURUI, S., HINO, A. 2005. Applicability of

the quantification of genetically modified organisms to foods processed from maize and soy. In *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, p. 2052-2059.

Acknowledgments:

This study was supported by the research project "The use of scientific knowledge for quality and healthy food", ITMS project no. 262402213 The project was financed by the European Regional Development Fund, the measure for the transfer of knowledge to prax.

Contact address:

RNDr. Eva Bergerová, PhD., SPUR a.s., Tř. T. Bati 299, 764 22 Zlín, ČR. E mail: eva.bergerova@spur.cz

Mgr. Zuzana Godálová, Department of Microbiology, Molecular Biology and Biotechnology, Food Research Institute, Priemysel'ná 4, 324 75 Bratislava, Slovakia, E-mail: godalova@vup.sk

doc. RNDr. Peter Siekel, CSc., Department of Microbiology, Molecular Biology and Biotechnology, Food Research Institute, Priemysel'ná 4, 324 75 Bratislava, Slovakia, E-mail: siekel@vup.sk