

## Análisis del contenido de ADN en las distintas etapas del proceso de obtención de materias primas a partir de maíz genéticamente modificado

Pozo, L.<sup>(i)</sup>; Cappa M.<sup>(i)</sup>; París G.<sup>(ii)</sup>; Bruni N.<sup>(ii)</sup>

<sup>(i)</sup> Centro de Investigación de Tecnologías de Industrialización de los Alimentos (CEIAL)

<sup>(ii)</sup> Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB) - Universidad Nacional de San Martín (UNSAM)

### INTRODUCCIÓN

El análisis de detección de OGM (Organismos Genéticamente Modificados) consiste en una extracción del ADN (Acido desoxirribonucleico) seguida de una reacción de PCR (Polymerase Chain Reaction) utilizando primers específicos.

Para que la reacción de PCR se lleve a cabo, el ADN extraído debe encontrarse en condiciones y cantidad adecuadas. Estas condiciones implican que no esté degradado o acompañado de sustancia inhibitorias de la PCR.

Factores físico-químicos del procesamiento de molienda húmeda del grano de maíz<sup>[1]</sup>, pueden afectar las uniones fosfato degradando el ADN.

En el proceso de obtención de jarabe de maíz de alta fructosa, gluten, germen y almidón a partir del maíz, las condiciones físico-químicas (pH y temperatura) que se utilizan afectan la integridad del ADN además de las separaciones físicas intrínsecas del proceso, llevando a una detección errática del mismo.

Por otro lado, la detección de ADN utilizando la PCR es de gran sensibilidad, lo que permite detectar cantidades mínimas del mismo. Al presente es el único método que detecta OGM en productos procesados.

### OBJETIVO

El objetivo del siguiente estudio fue determinar en qué pasos del proceso de molienda húmeda del grano de maíz, el ADN se pierde, ya sea por degradación o por separación física del mismo

Se realizó un estudio exhaustivo de este proceso utilizando maíz genéticamente modificado. Para esto se obtuvieron muestras en distintos puntos del proceso.

Se descubrió que a lo largo de las distintas etapas del proceso la cantidad de ADN extraíble fue decayendo, observándose una importante caída de la detección entre el grano de maíz proveniente del silo y el maíz proveniente del proceso de maceración, posteriormente se observó que el germen arrastra la mayor cantidad de ADN, dejando solo trazas en el resto del proceso. En las últimas etapas del proceso (gluten) no es posible detectar la presencia de ADN y por tanto no es posible determinar la presencia de OGM a partir de dichas muestras.

### MATERIALES Y MÉTODOS:

Las muestras investigadas se denominaron como se indica a continuación:

**M1:** granos que provienen del silo de almacenamiento e ingresan al macerador, **M2:** Líquido que se separa luego de la maceración conteniendo proteínas, **M3:** grano macerado que ingresa a la molienda gruesa, **M4:** germen, separado en el tamizado, **M5:** muestra de lechada, proviene de la molienda fina del proceso e ingresa a la centrífuga, **M6:** Fracción enriquecida en almidón, separada en la centrifugación, **M7:** fracción enriquecida con gluten, que continúa en el proceso luego de la filtración, **M8:** líquido separado en el filtro, **M9:** Gluten luego de pasar por el horno de secado.

Durante el muestreo se tomaron 250 g de muestra, se las acondicionó a -15°C y así se las mantuvo hasta su procesamiento.

A las muestras se les realizó una extracción fenol/cloroformo y en forma alternativa una reextracción por columnas empleando el método de Wizard

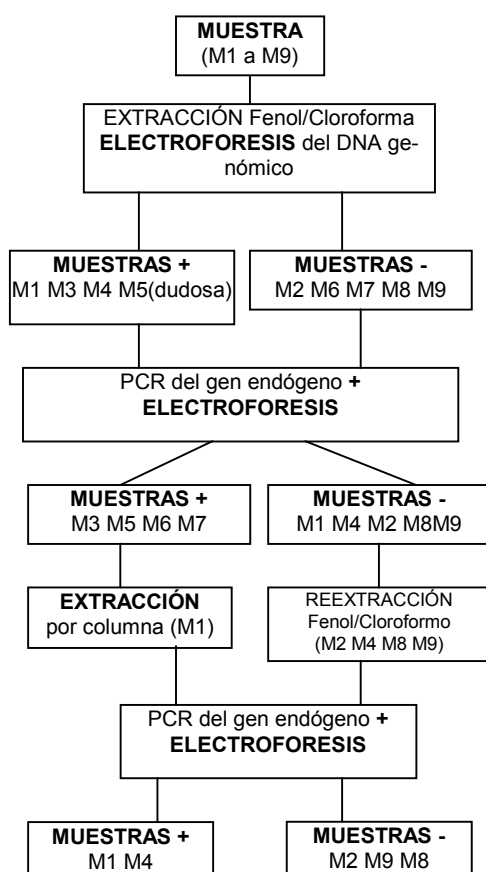
Se estableció una metodología adecuada de análisis utilizando técnicas de electroforesis y PCR del gen endógeno y/o gen modificado<sup>[2]</sup>

## RESULTADOS

Las muestras que dieron Negativas a través de la primera PCR (PCR<sub>1</sub>) fueron sometidas a una nueva extracción del DNA por columna de extracción o a una reextracción por fenol/cloroformo. Estas muestras repurificadas fueron sometidas a una segunda PCR del gen endógeno (PCR<sub>2</sub>)

El análisis de contenido de OGM mediante la detección del transgen dio un resultado positivo, en las muestras que dieron positivas la determinación del gen endógeno.

Esquema de realización del ensayo



## CONCLUSIONES

De acuerdo al muestreo ( de M1 a M9) que se realizó sobre la base del diagrama del proceso " The corn wet milling process" entregado por el cliente se observa una disminución paulatina de la detección del DNA desde la muestra M1 hacia la muestra M9. La mayor disminución se observa entre la muestra **M1** y **M3** (positivas), como la **M2** (negativa) es la fase acuosa del macerado y en la misma no se detecta DNA; esta disminución puede deberse a una pérdida del DNA por degradación del mismo dada las condiciones fisicoquímicas del proceso en esta etapa (maceraación durante 48 h. a temperatura 50 °C y pH:2,5-3,5.). Por lo tanto a partir de la muestra **M3** la cantidad de DNA es menor y esto va a limitar la detección en las muestras de las etapas siguientes.

Durante la separación del germen el DNA se concentra en la **M4** (positiva), germen la cual se separa definitivamente del proceso. Esta separación sigue provocando una disminución del DNA detectable en el proceso de M5 en adelante.

En las muestras **M5, M6 y M7** (positivas) el DNA se encuentra en cantidades escasas (trazas) ; sólo una técnica altamente sensible, como la PCR, pudo detectarlo. En la muestra **M9** no se detectó DNA cuando se hizo la detección por PCR a partir de una extracción de 0,3 g. Se repitió el método partiendo de 5 g. En ambos casos se detectó la presencia de inhibidores termo resistentes de la PCR en la muestra. En la última extracción se pudo eliminar la interferencia del inhibidor. Sin embargo tampoco se detectó presencia de ADN.

Es posible detectar la presencia de OGM en varias etapas del proceso . Sin embargo a medida que avanzamos en el mismo las condiciones fisicoquímicas degradan el ADN y limitan la posibilidad de detección de OGM.

## Referencias

[1] Corn.: Chemistry and Technology, Watson SA Ramstad PE, 1987

[2]IUPAC Collaborative Trial Study of a Method to Detect Genetically Modified Soy Beans and Maize in Dried Powder, Markus Lipp, Peter Brodmann, Klaus Pietsch, Jean Pauwels, Elke Anklam.

Para mayor información conectarse con:

Larisa Pozo - [larapozo@inti.gov.ar](mailto:larapozo@inti.gov.ar)

Maria de los Angeles Cappa - [mariang@inti.gov.ar](mailto:mariang@inti.gov.ar)

[Volver a página principal](#) ◀