

## **Novel Food Verordnung (EC) Nr. 258/97** **Kennzeichnung und Nachweisverfahren von neuartigen Lebensmitteln**

Kl.-D. Jany\*, C. Kiener, G. Tomicic und R. Greiner\*

Molekularbiologisches Zentrum der Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe

\* Wissenschaftlerkreis Grüne Gentechnik

### **Einleitung**

Die Gentechnik hat in den letzten beiden Jahrzehnten die Biotechnik innovativ weiterentwickelt. In einigen Wirtschaftsbereichen, wie z.B. Pharma und Chemie, werden gentechnische Verfahren in Produktionsverfahren bereits erfolgreich eingesetzt. Weltweit findet die Gentechnik gegenwärtig in zunehmendem Maße Eingang in die Lebensmittel- und Agrarproduktion. Nach allen Schätzungen wird sie hier ihr größtes Anwendungsgebiet finden, aber gerade in der Bundesrepublik Deutschland wird kaum ein Thema so kontrovers diskutiert wie der Einsatz der Gentechnik im Ernährungsbereich.

Verbraucher haben ein großes Informationsbedürfnis und das Recht zu erfahren, wie ihre Lebensmittel hergestellt werden und was sie enthalten. Verbraucher erwarten und fordern deshalb, daß unter Einsatz der Gentechnik hergestellte Lebensmittel und Lebensmittelzutaten umfassend gekennzeichnet werden. In der Diskussion zum Inverkehrbringen gentechnisch modifizierter Lebensmittel und Lebensmittelzutaten stehen Kennzeichnungspflicht und Nachweis im Vordergrund.

### **Novel Food Verordnung**

Die Novel Food Verordnung, *Verordnung (EG) Nr. 258/97 des Europäischen Parlaments und des Rates über neuartige Lebensmittel und Lebensmittelzutaten*, die am 15. Mai 1997 in Kraft trat und direkt in nationales Recht übergang, regelt in der Europäischen Union das **Inverkehrbringen neuartiger Lebensmittel und Lebensmittelzutaten**. Mit der Verordnung werden einerseits für das Inverkehrbringen einheitliche Bewertungsmaßstäbe für die gesundheitliche Unbedenklichkeit der Erzeugnisse angewandt sowie ein umfassender vorbeu-

gender Verbraucherschutz gewährleistet. Die Novel Food VO umfaßt 15 Artikel und kann in die Bereiche

- **Anwendung,**
- **Inverkehrbringen** und
- **Etikettierung** unterteilt werden.

### **Anwendungsbereich**

Lebensmittel und Lebensmittelzutaten, die unter den Anwendungsbereich der Novel Verordnung fallen, müssen zwei Kriterien entsprechen: Sie dürfen im EU-Raum noch nicht im nennenswerten Umfang für den menschlichen Verzehr verwendet worden sein und sie müssen zusätzlich unter eine von sechs definierte Gruppen von Erzeugnissen fallen (Art. 2). Es sind Lebensmittel und Lebensmittelzutaten,

- a) die lebende gentechnisch veränderte Organismen im Sinne der Richtlinie 90/220/EWG enthalten oder aus solchen bestehen;
- b) die aus gentechnisch veränderten Organismen gewonnen werden, jedoch diese nicht mehr enthalten;
- c) die neue oder gezielt veränderte primäre Molekülstrukturen aufweisen;
- d) die aus Mikroorganismen, Pilzen oder Algen bestehen oder aus diesen isoliert worden sind;
- e) die aus Pflanzen bestehen oder aus Pflanzen isoliert worden sind, und aus Tieren isolierte Lebensmittelzutaten, außer solchen, die mit herkömmlichen Vermehrungs- oder Zuchtmethoden gewonnen wurden und die erfahrungsgemäß als unbedenklich gelten können;
- f) bei deren Herstellung ein nicht übliches Verfahren angewandt worden ist und bei denen dieses Verfahren eine bedeutende Veränderung in ihrer Zusammensetzung oder Struktur bewirkt hat, was sich auf ihren Nährwert, ihren Stoffwechsel oder auf die Menge an unerwünschter Stoffen im Lebensmittel auswirkt.

**Tab. 1:** Kategorien von neuartige Lebensmittel und Lebensmittelzutaten

Gruppe von Lebensmittel	Beispiele
Gentechnisch-hergestellte Lebensmittel (Gruppe a)	Tomaten, Maiskörner, Äpfel, Käse mit GV*-Edelschimmel, Joghurt mit GV*-Milchsäurebakterien
(Gruppe b)	Enzyme, Aminosäuren, Vitamine, Hormone, Stärken, Öle, Zucker
Zutaten mit neuen Strukturen (Gruppe c)	Fettersatzstoffe, Süßungsmittel, nicht übliche Kohlenhydrate
Lebensmittel aus nicht traditionellen Rohstoffen (Gruppe d)	Single Cell Proteine, Algen, Plankton, Lupinenmehl
Produkten aus fremden Kulturkreisen (Gruppe e)	Geröstete Heuschrecken, Käferlarven, exotische Meeresfrüchte oder Obst und Gemüse
Neue technische Verfahren an traditionellen Lebensmitteln (Gruppe f)	Hochdruckpasteurisierung, Oberflächensterilisierung durch energiereiche Lichtblitze

GV - gentechnisch verändert

In Tabelle 1 sind die Gruppen der neuartigen Lebensmittel mit einigen Beispielen aufgeführt. Die Novel Food VO stellt kein neues EU-Gesetz für gentechnisch hergestellte Lebensmittel dar, sondern regelt das Inverkehrbringen einer großen Palette unterschiedlichster Lebensmittel und -zutaten.

Nicht unter die Novel Food VO fallen Zusatzstoffe (RL 89/107/EWG), Aromen zur Verwendung bei Lebensmitteln (RL 88/388/ EWG) sowie Extraktionslösungsmittel zur Herstellung / Verarbeitung von Lebensmitteln (RL 88/344/ EWG); sie werden noch durch die aufgeführten EU-Richtlinien geregelt. Für das Inverkehrbringen dieser Erzeugnisse müssen jedoch die gleich hohen Sicherheitsstandards wie sie in der Novel Food VO gefordert sind, eingehalten werden. Diese Erzeugnisse waren somit auch von der Kennzeichnungsregelung (Art. 8) ausgenommen. Mit Inkrafttreten der Verordnung (EC) Nr. 50/2000 im Frühjahr 2000 werden jedoch nun Zusatzstoffe und Aromen auch von den Etikettierungsvorschriften nach der Novel Food Verordnung erfaßt.

### Verfahren zum Inverkehrbringen

Auf die Verfahren zum Inverkehrbringen soll hier nicht näher eingegangen werden. Die Novel Food Verordnung unterscheidet entsprechend der Verhältnismäßigkeit und der möglichen Gefährdungspotentiale zwischen einem Anmelde- und Zulassungsverfahren (Notifizierung und Genehmigung). In beiden Verfahren sind die Regularien einzuhalten. Neuartige Lebensmittel und Lebensmittelzutaten dürfen nur dann in Verkehr gebracht werden, wenn sie,

- **keine Gefahr für den Verbraucher darstellen,**
- **keine Täuschung des Verbrauchers bewirken, und**
- **sich von traditionellen Produkten, die sie ersetzen sollen, nicht so unterscheiden, daß ihr normaler Verzehr Ernährungsmängel für den Verbraucher mit sich brächte. (Art. 3)**

## Etikettierung

In Artikel 8 sind die speziellen Etikettierungsanforderungen festgelegt. Sie gelten natürlich für alle neuartigen Lebensmittel; **sie sind nicht speziell auf gentechnisch modifizierte Erzeugnisse ausgerichtet**. In Tabelle 2 sind die Kennzeichnungskriterien aufgelistet.

**Tab. 2:** Kennzeichnung neuartiger Lebensmittel und Lebensmittelzutaten

<p>Gekennzeichnet werden Erzeugnisse,</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• die lebende GVO darstellen oder enthalten</li> <li>• die Allergien verursachen können</li> <li>• gegen die ethische Bedenken bestehen</li> <li>• die keine Gleichwertig zu vergleichbaren traditionellen Produkte             <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ in der Zusammensetzung,</li> <li>➤ im Nährwert, in der nutritiven Wirkung,</li> <li>➤ im Gebrauch, usw.</li> </ul> </li> </ul> <p>aufweisen.</p> <p>Informiert werden Verbraucher über die Veränderung und das Verfahren.</p> <p>Die Etikettierung gilt sowohl für verpackte als auch für offene Ware sowie für Lebensmittel aus der Gemeinschaftsverpflegung</p>
---

Grundsätzlich müssen alle Lebensmittel und Lebensmittelzutaten gekennzeichnet werden, die lebende GVO sind oder solche enthalten. Die ursprünglich vorgesehene Ausnahmeregelung für agronomische Merkmale wurde gestrichen. Somit müssen insektenresistente Kartoffeln oder herbizidtoleranter Weizen als GVO kenntlich gemacht werden, wenn sie auf den gemeinsamen Europäischen Markt kommen.

Lebensmittel und -zutaten müssen gekennzeichnet werden, die sich von vergleichbaren traditionellen Lebensmitteln unterscheiden, d. h. wenn sie nicht gleichwertig sind (Artikel 8, Absatz 1a). Die Verbraucher sind zu informieren über „*alle Merkmale oder Ernährungseigenschaften, wie Zusam-*

*mensetzung, Nährwert oder nutritive Wirkungen, Verwendungszweck des Lebensmittels, die dazu führen, daß ein neuartiges Lebensmittel oder -zutat nicht mehr einem bestehenden Lebensmittel oder -zutat gleichwertig ist.*

*Ein neuartiges Lebensmittel oder -zutat gilt als nicht mehr gleichwertig im Sinne des Artikels, wenn durch eine wissenschaftliche Beurteilung auf Grundlage einer angemessenen Analyse der vorhandenen Daten nachgewiesen werden kann, daß die geprüften Merkmale Unterschiede gegenüber konventionellen Lebensmitteln oder -zutaten aufweisen, unter Beachtung der anerkannten Grenzwerte für natürliche Schwankungen dieser Merkmale.*

Als nicht mehr gleichwertig werden nach diesem Artikel Lebensmittel angesehen, bei denen Unterschiede zu den vergleichbaren traditionellen Erzeugnissen bestehen. Die Unterschiede müssen sich analytisch nachweisen lassen und /oder auf der Basis einer wissenschaftlichen Beurteilung festgestellt werden. Offen ist allerdings die Frage nach den Kriterien für die Gleichwertigkeit und den Analysenmethoden. Gerade die Analysenmethoden müssen im Zusammenhang mit der Kennzeichnung gesehen werden, denn aus dem Vergleich von Analysendaten (traditionelles / gentechnisch modifiziertes Produkt) wird die Nichtgleichwertigkeit festgestellt.

Entscheidend für die Kennzeichnung ist die Nichtgleichwertigkeit, der nachweisbare Unterschied im Lebensmittel bzw. in der Zutat oder dem Zusatzstoff. In Bezug auf gentechnisch modifizierte Erzeugnisse bedeutet dies, daß der Unterschied ursächlich auf dem gentechnischen Verfahren beruhen muß. Unterschiede, die sich lediglich aus der biologischen Schwankungsbreite ergeben, brauchen nicht kenntlich gemacht werden.

Keine Kennzeichnung ist für Erzeugnisse erforderlich, die sich als gleichwertig zu den konventionellen

Produkten erwiesen haben, d.h. es lassen sich keine stofflichen oder ernährungsphysiologischen Unterschiede zwischen den Produkten feststellen. Aus diesem Grunde ist auch für das nach der Novel Food VO zugelassene raffinierte Öl aus transgenem Raps, Mais oder transgenen Soja keine Kennzeichnung erforderlich; es wurde sowohl in der Sicherheitsbeurteilung auch als in der stofflichen Zusammensetzung als gleichwertig zu den jeweiligen traditionellen Ölen bewertet.

In der Novel Food VO wird eine produkt- und verfahrensspezifische Kennzeichnung vorgeschrieben; diese kommt der notwendigen Verbraucherinformation näher als die oft geforderte alleinige verfahrensspezifische Etikettierung.

In der Präambel zur Novel Food Verordnung wird ausdrücklich darauf hingewiesen, daß auch eine Kennzeichnung derart erfolgen kann, daß das Lebensmittel oder die Zutat kein neuartiges Erzeugnis im Sinne der Verordnung darstellt. Auch eine Auslobung mit „Gentechnikfrei“ wäre möglich. Diese Kenntlichmachung kann jedoch problematisch werden. Bis heute sind die Begriffe „Gentechnikfrei“ oder „Ohne Gentechnik“ in der Europäischen Union noch nicht einheitlich definiert und es fehlen eine gesetzliche EU-Regelung. Gegenwärtig werden die Begriffe sehr restriktiv verstanden. Deutschland, Österreich, die Niederlande und die Schweiz haben nationale Regelungen eingeführt. Der Produzent / Vertreiber muß lückenlos nachweisen können, daß in keinem Herstellungsschritt - vom Rohstoff bis zum Endprodukt - die Gentechnik in keinerlei Weise bei dem Lebensmittel eine Rolle gespielt hat, damit das Produkt als gentechnikfrei bzw. "Ohne Gentechnik" etikettiert werden kann.

Im Laufe der Zeit wurden weitere Verordnungen und Richtlinien zur Etikettierung erlassen. Dies war insbesondere durch die allgemeine Verkehrsfähigkeit von verarbeiteten Soja- und Maisprodukten aus den entsprechenden transgenen Pflanzen notwendig geworden. Hier ist die Ergänzungsverordnung (EG) Nr. 1813/97 und die Ablöseverordnung

(EG)1139/98 hervorzuheben. Beide Verordnungen beziehen sich zwar nur auf die Etikettierung von Erzeugnissen aus RR-Sojabohnen und aus Bt-176 Mais, aber sie sind richtungsweisend für alle weiteren Produkte, die nach der Novel Food Ordnung zugelassen werden.

Richtungsweisend für die wissenschaftliche Beurteilung der Nichtgleichwertigkeit zwischen neuartigen und konventionellen Lebensmitteln und Lebensmittelzutaten sind die Ausführungen zum DNA- und Proteinnachweis. Hiernach soll primär das Vorhandensein der rDNA das Kriterium der Nichtgleichwertigkeit erfüllen. Hierdurch werden ganz im Sinne der Verbraucherinformation eine sehr große Anzahl von Lebensmitteln und Lebensmittelzutaten erfaßt.

Erst wenn die Identifikation der rDNA versagt, soll das Proteinkriterium zum Tragen kommen. Da DNA in Verarbeitungsprozessen recht leicht chemisch/enzymatisch hydrolysiert werden kann, würde die Proteinanalytik den Etikettierungsumfang erheblich erweitern.

Lebensmittel oder Lebensmittelzutaten aus gentechnisch verändertem Soja oder Mais müssen immer dann gekennzeichnet werden, wenn sich das neueingeführte Protein oder die neueingeführte DNA im Endprodukt nachweisen läßt. In diesen Fällen muß eine Kennzeichnung mit „aus genetisch veränderten Sojabohnen hergestellt“ bzw. „aus genetisch veränderten Mais hergestellt“ erfolgen. Die Kennzeichnung muß im Rahmen der Zutatenliste erfolgen und die Schriftgröße des Kennzeichnungswortlauts muß der Schriftgröße der Zutatenaufzählung entsprechen.

Es müssen nicht beide neuen Komponenten nachgewiesen werden. Aber falls sich die neueingeführte DNA nicht nachweisen läßt, muß noch nachgewiesen werden, daß in dem Produkt nicht doch noch das neue Protein enthalten ist. Erst wenn mit beiden Nachweisverfahren keine der beiden Komponenten nachgewiesen werden kann, entfällt eine Kennzeichnungspflicht. Dies bedeutet, daß ein Lebens-

mittelhersteller ein Endprodukt nicht kennzeichnen muß, wenn er einen Rohstoff z.B. aus Roundup-Ready-Soja in technischen Verfahren so modifiziert, daß weder das neue Protein noch die neue DNA nachweisbar sind. Dies würde für ein salzsäurehydrolysiertes Sojaprotein als Würze zutreffen; es müßte somit nicht gekennzeichnet werden. Das gleiche Sojaprotein müßte aber gekennzeichnet werden, wenn es schonend mit Hilfe von Enzymen in Bruchstücke gespalten würde.

In der Ablöseverordnung (EG) Nr. 1139/98 wurde die Einführung eines Schwellenwertes für die Auslösung der Kennzeichnungspflicht für Soja- und Maisprodukte angekündigt. Ende Oktober 1999 wurde ein Schwellenwert von 1% gentechnisches „Material“ bezogen auf eine einzelne Lebensmittelzutat oder Lebensmittel aus/mit einer einzigen Zutat für eine zufällige unbeabsichtigte oder technologisch unvermeidbare Kontamination mit GVO-Bestandteilen festgelegt. Für die Kontamination mit GVO-Material muß der Inverkehrbringer glaubhaft nachweisen, daß die „Verunreinigungen“ tatsächlich technologisch unvermeidbar waren bzw. zufällig

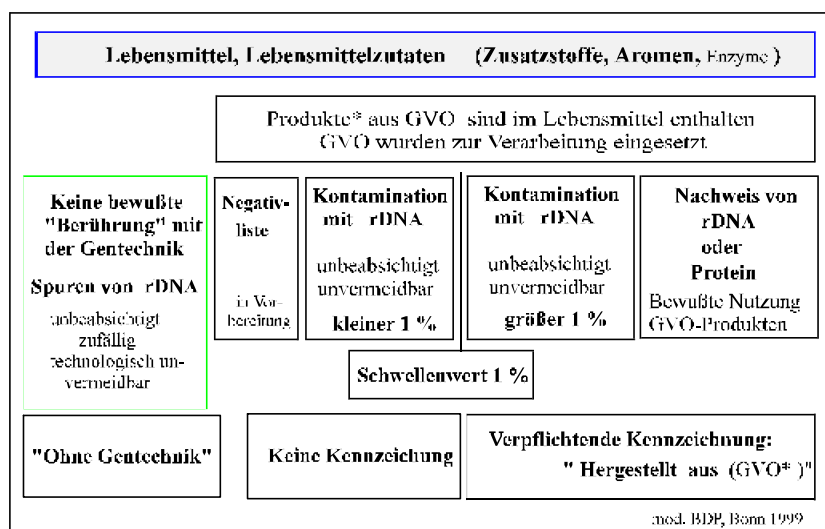
und unbeabsichtigt in das Lebensmittelerzeugnis gelangt sind.

Der Schwellenwert von 1% soll auch für alle weiteren -Produkte aus GVO gelten, die entsprechend der Novel Food Verordnung später zugelassen werden. Die Verordnung zum Schwellenwert von 1% hat seit April 2000 Rechtskraft. (Verordnung (EC) Nr.49/2000). Für Zusatzstoffe und Aromen gilt Verordnung (EC) 50/2000. Hier ist der Schwellenwert nicht ausdrücklich aufgeführt.

Für die Vermeidung der Kennzeichnung muß nun der Inverkehrbringer den Schwellenwert einhalten und **zusätzlich** den Nachweis erbringen, daß die rDNA (Protein) unbeabsichtigt bzw. technologisch unvermeidbar in das Endprodukt gelangt ist. Damit fällt allerdings die bewußte Nutzung von GVO-Ausgangsmaterial nicht unter die Schwellenwertregelung von 1% und entbindet nicht von einer Kennzeichnungspflicht. Für eine erhöhte Rechtssicherheit wäre jedoch für alle Produkte ein Schwellenwert von 1% angebracht gewesen.

In Tab. 3 ist die Kennzeichnungsproblematik entsprechend der Rechtslage zusammengefaßt.

Tab.3: Kennzeichnung von Lebensmitteln



### Kennzeichnung „Ohne Gentechnik“

Nach der Novel Food Verordnung ist auch eine Etikettierung „gentechnikfrei“ möglich. Einer solchen freiwilligen Kenntlichmachung stehen grundsätzlich keine gesetzlichen Hindernisse entgegen. Eine rasche Klärung des Begriffes „gentechnikfrei“ durch die EU-Kommission wäre notwendig. Die Definition und die Bedeutung von „gentechnikfrei“ wird stark von der Einstellung der Öffentlichkeit zur Gentechnik abhängen. Unter „gentechnikfrei“, könnte verstanden werden, daß das Lebensmittel

- a) während seiner Genese in keiner Weise mit der Gentechnik in Berührung gekommen ist,
- b) keine isolierten Produkte oder Bestandteile aus GVO enthält,
- c) keine rekombinierte DNA enthält.

Der Punkt c) ist zwar leicht überprüfbar, aber würde der Bedeutung von „gentechnikfrei“ nicht genügeleisten und sehr leicht an die Grenze der Verbrauchertäuschung führen. So könnte z.B. durch eine technische Bearbeitung ein Proteinisolat oder Lecithin aus transgenen Sojabohnen frei von rDNA gemacht werden, aber das Erzeugnis wäre kein Produkt „Ohne Gentechnik“. Ähnliches würde für Käse gelten, bei dem die Milch mit Chymosin aus GVO dickgelegt wurde. Bei noch weiterem Ausbau der PCR-Empfindlichkeit werden sich in naher Zukunft generell in allen Lebensmitteln Spuren von rDNA nachweisen lassen können.

Punkt b) bezieht sich auf alle mit oder aus GVO gewonnenen Produkte (Enzyme, Vitamine, Aminosäuren, Stärke, Zucker, Öl, Protein, Lecithin). Alle diese Produkte entsprechen gegenwärtig den traditionellen Erzeugnissen; sie sind nicht gentechnisch verändert. Eine Absicherung, daß solche Produkte nicht aus GVO stammen, könnte durch eine aufwendige, strenge, behördliche Überwachung und technische Verfahrensumstellungen mindestens teilweise erreicht werden. Dennoch kann kaum jemand eine Garantie für die Richtigkeit der Kennzeichnung „gentechnikfrei“ abgeben.

Punkt a) käme den Vorstellungen vielen Verbrauchern und Kritikern der Gentechnik sicherlich am nächsten. Allerdings ist eine solche Forderung kaum realisierbar. Kühe, die mit einem Futter gefüttert werden, das Anteile von transgenen Pflanzen (z.B. Soja-, Mais-, Rapsschrot) enthält, liefern traditionelle(s), nicht gentechnisch veränderte(s) Milch oder Fleisch. Sie und die davon abgeleiteten Erzeugnisse sind gentechnisch unmodifiziert. Eine ähnliche Sachlage ergibt sich für die fermentative Gewinnung von Enzymen aus konventionellen Mikroorganismen. Die meisten Fermentationsmedien enthalten heute isolierte Produkte aus GVO. Die Produktionsorganismen verstoffwechseln diese und integrieren sie in zelleigene Komponenten, z.B. als Aminosäuren in Proteine. Weder die Produktionsorganismen noch die Enzyme sind gentechnisch modifiziert und erst recht nicht Lebensmittel, die mit solchen konventionellen Enzymen verarbeitet wurden. Hier stellt sich zwingend die Frage, ob konventionelle Enzyme als „gentechnikfrei“ bezeichnet werden dürfen. Ähnliches würde auch für Maisstärkehydrolyseprodukte gelten, die Lebensmitteln zugesetzt werden. Ein Erfrischungsgetränk mit solchem Fructosesirup ist kein gentechnisch modifiziertes Getränk. Es wäre vom wissenschaftlichen Standpunkt als „gentechnikfrei“ zu bezeichnen. Dennoch sind diese Produkte irgendwie mit der Gentechnik in Berührung gekommen und dürfen, im Sinne der Vermeidung von Verbrauchertäuschung, nicht als „Ohne Gentechnik“ gekennzeichnet werden.

Im Oktober 1998 trat die nationale Verordnung zur Änderung der Neuartigen Lebensmittel- und Lebensmittelzutaten Verordnung in Kraft. Nach dieser Verordnung dürfen nur Lebensmittel, die auf keiner Stufe der Herstellung nachweislich mit der Gentechnik in Berührung gekommen sind, mit „Ohne Gentechnik“ gekennzeichnet werden. Eine Auslobung mit „gentechnikfrei“ ist nicht statthaft. „Ohne Gentechnik“ bedeutet hier, daß weder Rohstoffe aus transgenen Pflanzen, noch Enzyme oder Zu-

satzstoffe, Aromen usw. aus gentechnisch veränderten Mikroorganismen für die Lebensmittelherstellung verwendet werden dürfen.

Wie bereits erwähnt, werden bei der Fermentation von konventionellen Hefen und Mikroorganismen Aminosäuren, Vitamine und andere Produkte aus GVO als Nährstoffe eingesetzt. Diese Organismen sind damit mit der Gentechnik in Berührung gekommen und somit auch alle weiteren Folgeprodukte. Dies bedeutet, daß z. B. Bier und Hefeteigwaren nicht mit „Ohne Gentechnik“ ausgelobt werden dürfen, auch wenn alle anderen Rezepturbestandteile nicht aus der Gentechnik stammen. Am Beispiel Bier soll dies verdeutlicht werden. Bislang können Brauereien keine transgene Hefe, Gerste oder transgenen Hopfen einsetzen, da diese Grundstoffe noch nicht zur Verfügung stehen. Das Bier kann jedoch nicht als „Ohne Gentechnik“ gekennzeichnet werden, da die Brauherfe während der Fermentation mit der Gentechnik in Berührung gekommen ist; das Bier ist und darf auch nicht als ein gentechnisch verändertes Getränk angesehen werden.

Auch in der Tierhaltung dürfen keine Futtermittel oder Futtermittelzutaten aus GVO Organismen eingesetzt werden. Ähnliches wie beim Bier gilt sicherlich auch für Lebensmittel, die Milch- oder Eiprodukte enthalten, da seit 1996 im zunehmenden Maße Tierfutter mit transgenem Soja (Schrot, Ölpresskuchen), Mais (Corn gluten) und Rapsölpresskuchen verwendet wird.

Die Verwendung von Arznei- oder Impfmitteln aus GVO für die Gesunderhaltung des Tierbestandes haben grundsätzlich keinen negativen Einfluß auf die Kennzeichnung. Ein chemischer Nachweis des Einsatzes von transgenem Futter ist im tierischen Endprodukt nicht möglich. Hier muß man sich auf die Aufzeichnungspflicht des Landwirts und den Erklärungen der Futtermittellieferanten verlassen. Der Landwirt ist nicht verpflichtet, DNA-Nachweise für die Futtermittel durchführen zu lassen. Solange ein Landwirt seine Nutztiere mit Futter aus nach-

weislich nicht transgenen Pflanzen oder mit Zusätzen von Enzymen, Vitaminen oder Aminosäuren aus Nicht-GVO füttert, kann er die Erzeugnisse mit „Ohne Gentechnik“ ausloben.

Spuren von neu eingeführter DNA dürfen aber auch in Lebensmitteln „Ohne Gentechnik“ vorhanden sein, solange nachgewiesen werden kann, daß diese rDNA unbeabsichtigt oder aufgrund unvermeidbarer technischer Gegebenheiten in das Produkt gelangt ist. Letztes wäre z. B. beim Sammeln und Transport von konventionellem Soja in Silos und Schiffen, die zuvor transgenen Soja enthielten, der Fall. Hier ist es unter wirtschaftlichen Bedingungen technologisch unmöglich, eine Reinigung zu erzielen, die eine „Gentechnikfreiheit“ garantieren würde.

Nur bei lückenlosem Nachweis, daß alle Lebensmittelbestandteile oder Zutaten usw. nie mit der Gentechnik in Berührung gekommen sind, ist eine Auslobung mit „Ohne Gentechnik“ erlaubt. Bereits bei begründeten Zweifeln der Gentechnikfreiheit von Zutaten kann die Kennzeichnung „Ohne Gentechnik“ untersagt werden.

Das unbeabsichtigte Einbringen von Spuren von rDNA bzw. der Spurennachweis wird eine besondere Bedeutung für Lebensmittel erhalten, bei denen rDNA z.B. über Pollenflug, Staubübertragung, Verarbeitungswege usw. eingetragen wurde.

Gegenwärtig sind kaum Erzeugnisse mit der Kennzeichnung „Ohne Gentechnik“ auf dem deutschen Markt aufgetaucht. Offensichtlich kann kein Rohstofflieferant oder Lebensmittelhersteller eine Garantie abgeben, daß seine Produkte absolut frei von „Gentechnik“ sind. Vereinzelt wurden in Handelsketten und Wochenmärkten Kartoffeln, Zwiebeln, Äpfel, Kopfsalat usw. mit der Auslobung „Ohne Gentechnik“ vertrieben. Diese Etikettierung ist jedoch nicht zulässig, da solche vergleichbaren gentechnischen Produkte entweder nicht auf dem europäischen Markt erhältlich sind oder überhaupt bislang existieren. Diese Auslobung „Ohne Gentechnik“ stellt eine Bewerbung mit einer Selbstverständ-

lichkeit dar. Hier kann sich der Verbraucher **nur** für das bekannte konventionelle Gemüse bzw. Obst entscheiden.

Für die Kennzeichnung von Lebensmitteln bei deren Gewinnung oder Verarbeitung gentechnische Verfahren eine Rolle gespielt haben oder die Bestandteile aus GVO (heute noch Mais und Soja) enthalten, zeichnet sich eine Mehrteilung ab (Tab. 3):

- **Kennzeichnungspflichtige Erzeugnisse:** Die Produkte enthalten rDNA oder neu eingeführte Proteine, der Schwellenwert von 1 % wurde überschritten oder es wurde bewußt GVO-Material verwendet;
- **Nicht kennzeichnungspflichtige Erzeugnisse:** In den Produkten sind weder rDNA

noch neu eingeführte Proteine nachweisbar oder der Schwellenwert von 1 % wurde nicht überschritten;

- **Nicht kennzeichnungspflichtige Erzeugnisse:** Die Lebensmittel enthalten Produkte aus der noch zu erstellenden Negativliste. Darüber hinaus wird es noch Lebensmittel geben, die mit „Ohne Gentechnik“ kenntlich gemacht sind.

Produkte aus dem ökologischen Landbau werden aus dem Selbstverständnis der Erzeuger heraus und aufgrund der gesetzlichen Vorgaben stets ohne (bewußte) Verwendung der Gentechnik erzeugt bzw. verarbeitet. Dies bedeutet aber noch nicht, daß die Erzeugnisse grundsätzlich als Produkte „Ohne Gentechnik“ ausgelobt werden dürfen.

### Nachweisverfahren für gentechnisch veränderte Lebensmittel

Nach der Novel Food VO müssen Lebensmittel und Lebensmittelzutaten gekennzeichnet werden, wenn sie

- lebende gentechnische modifizierte Organismen darstellen oder enthalten,
- Stoffe enthalten, die für bestimmte Personengruppen eine Beeinträchtigung ihrer Gesundheit mit sich bringen,
- Stoffe enthalten, die ethische Bedenken bei bestimmten Gruppen auslösen können,
- nicht gleichwertig zu traditionellen Lebensmitteln sind.

Eine Etikettierungspflicht besteht nur dann, wenn auf Grund von Analysendaten und einer wissenschaftlichen Beurteilung Unterschiede zu den entsprechenden konventionellen Erzeugnissen nachgewiesen werden können (Art. 8, (1a). Kennzeichnung und Überprüfbarkeit, d. h. die Nachweisbarkeit der gentechnischen Modifikationen und die richtige Etikettierung sind eng miteinander verbunden.

Für die Nachweisbarkeit gentechnisch modifizierter Lebensmittel muß zwischen Erzeugnissen mit und

ohne rDNA unterschieden werden. Sie können grundsätzlich auf drei Ebenen identifiziert werden. Je nach Modifizierung und der Auswirkung auf das Produkt sowie in Abhängigkeit zur Verarbeitungstiefe des Lebensmittels eignen sich als Nachweis:

- die neu eingeführte DNA, (rDNA) bzw. Teile davon (keine Selbstklonierung),
- das (die) neueingeführte(n) Protein(e),
- Änderungen in der quantitativen Zusammensetzung des Produkts.

Der Nachweis der rDNA erfolgt über die **Polymerase-Kettenreaktion (PCR)** mit spezifischen Primern oder der Sonden-Technik; Proteine werden spezifisch durch immunologische Verfahren erfaßt, Änderungen in der quantitativen Zusammensetzung durch die gängigen analytischen Verfahren wie Chromatographie, Spektroskopie und Enzymologie festgestellt. Bei der PCR wird durch die enzymatische Reaktion der Polymerase die Menge der nachzuweisende DNA in Abhängigkeit der Reaktionszyklen vervielfältigt (Tab. 4) und so die hohe Sensitivität erreicht (Tab. 5). Bei anderen analytischen Methoden wird die tatsächlich vorhandene



Menge der nachzuweisenden Substanz erfaßt und die Empfindlichkeit des Verfahrens durch die Verstärkung des Meßsignals erreicht.

**Tab. 4:** Amplifizierung von DNA-Fragmenten (theoretisch)

Anzahl der Zyklen	Anzahl neuer Ziel-fragmente
1	1
2	2
4	4
5	8
6	16
7	32
8	64
10	256
12	1.024
14	4.096
16	16.384
20	262.144
24	4.194.304
28	67.108.864
30	268.435.456
32	1.073.741.824

**Tab. 4** Sensitivität der PCR

Anteil in Prozent an rekombinanter genomischer DNA	Anzahl der Zyklen		
	32	38	48
10	+	+	+
1	+	+	+
0,1	-	+	+
0,01	-	-	+
0,001	-	-	+
0,0001	-	-	-

Für den Nachweis von DNA stellt die PCR-Methode heute aufgrund ihrer hohen Sensitivität, Spezifität und Schnelligkeit die am häufigsten angewandte Methode dar. Voraussetzung für den Nachweis durch das PCR-Verfahren ist die Kenntnis der neu eingeführten DNA-Sequenz (zur Ableitung der korrespondierenden Primer und das Vorhandensein der rDNA in dem Produkt). Die Arbeitsschritte für das gesamte Nachweisverfahren gliedern sich in:

- *Extraktion der DNA und Abtrennung von PCR-Inhibitoren aus der Lebensmittelmatrix.*

Die Extraktion einer PCR-geeigneten DNA stellt bei einzelnen Lebensmitteln immer ein Problem dar. Die Anwesenheit von Hemmstoffen beeinflusst die Sensitivität negativ bis hin zur völligen Inhibierung der enzymatischen Reaktion. Da keine einheitlichen und für alle Matrices gültigen Extraktionsverfahren vorhanden sind, kann man unterschiedliche, bis hin zu falsch negativen Ergebnisse erhalten. Die Extraktion beinhaltet die größten Fehlerquellen.

- *PCR-Reaktion - Amplifizierung der DNA*

Die PCR gliedert sich in folgende Schritte:

1. Thermische Trennung der beiden Stränge eines DNA-Moleküls (Denaturierung),
2. Anlagerung der zur Zielsequenz korrespondierenden Primer an die DNA-Einzelstränge (*Annealing*),
3. Enzymatische Verlängerung der Primer anhand der Sequenzinformation der DNA-Einzelstränge (Extension), wodurch wieder DNA-Doppelstrangbereiche erhalten werden. Hier besteht die Gefahr des unspezifischen Bindens von Primern, vor allem bei sehr heterogenen DNA-Populationen.

Diese Schritte (Abb.1) werden 25 - 40mal durchlaufen; dabei wird eine große Anzahl identischer Moleküle gebildet, die Kopien des zu vervielfältigenden DNA-Bereichs darstellen. Der PCR-Ansatz wird hinsichtlich Primer-, Nukleotid-, Magnesiumchloridkonzentration, Zahl der Zyklen und verschiedener Zusätze zum PCR-Puffersystem wie Dimethylsulfoxid, Triton X-100,

## Die Polymerasekettenreaktion

Glycerin, Gelatine und Rinderserumalbumin optimiert..

- Elektrophoretische Auftrennung der amplifizierten DNA im Agarose-Gel

Bei der Elektrophorese werden die DNA-Fragmente nach ihrer Größe (Kettenlänge) aufgetrennt. Ein PCR-Produkt der erwarteten Größe kann nur als Hinweis und nicht als zuverlässiges Kriterium gewertet werden. Es kann durchaus vorkommen, daß unspezifische Fragmente der gesuchten Kettenlänge auftreten, die zu falsch-positiven Ergebnissen führen.

- Verifizierung der gesuchten PCR-Produkte

Durch sekundäre Verfahren wie Sondenhybridisierung, Restriktionsverdau, Sequenzierung, *nested* PCR usw. muß nachgewiesen werden, daß das gebildete PCR-Produkt spezifisch für die gesuchte neueingeführte Sequenz ist.

Die Spezifität der PCR läßt sich dadurch erhöhen, daß das PCR-Produkt einer Restriktions- oder Sequenzanalyse unterworfen wird. Eine Spezifitäts- und Sensitivitätserhöhung kann durch Übertragung des gelelektrophoretisch aufgetrennten PCR-Ansatzes auf eine Nylonmembran (*Southern-Blot*) und anschließendes Sichtbarmachen des PCR-Produktes durch Hybridisierung erreicht werden. Dazu dient eine spezifische Sonde, die z.B. mit einem radioaktiven Isotop, mit Digoxigenin oder mit einem Fluoreszenzlabel markiert ist. Spezifität und Sensitivität lassen sich auch dadurch erhöhen, daß in einem zweiten PCR-Ansatz neue Primer verwendet werden, die sich an die Vermehrungsprodukte des ersten PCR-Ansatzes anlagern (*nested* PCR, *semi-nested* PCR).

Die Schwierigkeit beim Einsatz der PCR als analytisches Verfahren besteht in der Isolation eines geeigneten DNA-Präparates. Die DNA muß ausreichend gereinigt sein, da eine Reihe von Lebensmittelbegleit- und -inhaltsstoffen die PCR schon in sehr geringen Konzentrationen inhibieren.

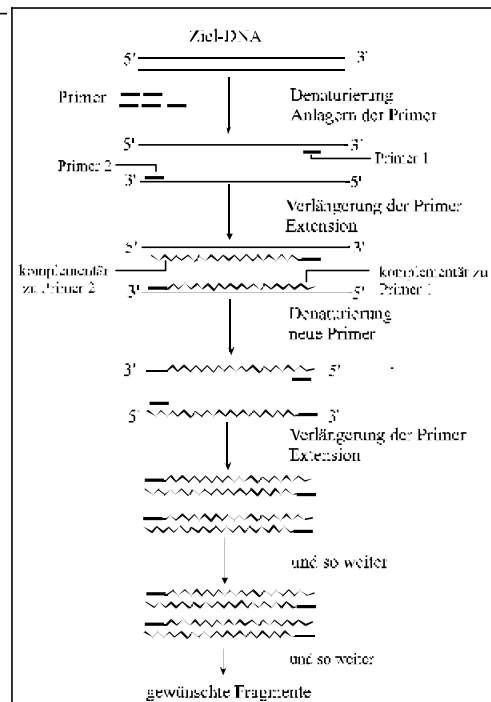


Abb. 1: Schema des PCR-Verfahrens

Dadurch können sich auch Probleme mit der Übertragbarkeit von DNA-Extraktionsmethoden von einem Lebensmittel zu anderen ergeben. Bisher existieren nur wenige systematische Untersuchungen zur Hemmung der PCR durch Lebensmittelbegleit- und -inhaltsstoffe. Normalerweise enthält ein Lebensmittel nur wenige Substanzen in Konzentrationen, die die PCR inhibieren. Durch das eingesetzte DNA-Extraktionsverfahren können einzelne Substanzen jedoch angereichert werden. Die Überprüfung, ob Inhibitoren für das Mißlingen einer PCR verantwortlich sind, gelingt durch Anreicherung der zur PCR eingesetzten DNA-Präparation mit reiner DNA des nachzuweisenden Organismus oder mittels einer zweiten PCR auf Sequenzen, die in jedem Fall im nachzuweisenden Organismus vorkommen müssen.

Öle, Salze, Kohlenhydrate und Aminosäuren üben in Konzentrationen bis zu 1 % des PCR-Ansatzes keine inhibitorische Wirkung aus. Proteine und Peptide zeigen dagegen einen stark hemmenden Effekt. Die Proteinmenge im PCR-Ansatz sollte deshalb

0,1 % nicht übersteigen. Relativ geringe Mengen Fett verstärken diese hemmende Wirkung. So wird die PCR in Gegenwart von 0,5 % Camembertthomogenat (40 % Fett, 20 % Protein) vollständig unterdrückt.

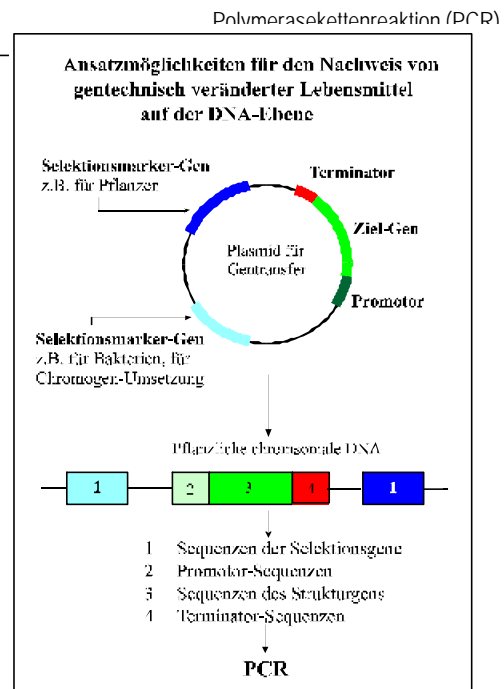
Zusätzlich können hohe DNA-Konzentrationen die Empfindlichkeit der PCR beeinträchtigen. Die hemmende Wirkung der Lebensmittelbegleit- und -inhaltsstoffe auf die PCR kann auf Ausfällen der DNA oder auf Denaturierung bzw. Inhibierung der DNA-Polymerase zurückgeführt werden. Um die Konzentrationen der Lebensmittelbegleit- und -inhaltsstoffe, die die PCR inhibieren, im PCR-Ansatz zu reduzieren, sind entsprechende Extraktions- und Anreicherungsverfahren für die Ziel-DNA zu erarbeiten. Zumeist ist es ausreichend, ein gängiges DNA-Isolationsverfahren an die entsprechende Lebensmittelmatrix zu adaptieren, oder kommerziell erhältliche DNA-bindende Materialien (meist auf Ionenaustauschbasis) zur DNA-Reinigung einzusetzen. Eine besonders elegante Möglichkeit zur Abtrennung störender Begleitstoffe bieten spezifische biotinylierte DNA-Sonden, die über trägergebundenes Avidin fixiert werden. Nur die DNA mit den entsprechenden Zielsequenzen bindet an die DNA-Sonden und läßt sich dann von anderen Lebensmittelbegleit- und -inhaltsstoffen abtrennen.

Für die Ableitung der Primer können Sequenzen aus

- dem Zielgen
- den Marker- oder Selektionsgenen
- den Regulatorgenen

verwendet werden (Abb.2).

Für Screeningzwecke eignen sich Sequenzen aus dem Promotor- und dem Terminatorbereich, da diese bei sehr vielen transgenen Pflanzen identisch sind. Selbstverständlich können hiermit nicht alle transgenen Pflanzen erfaßt werden und stets muß sich noch ein spezifischer Nachweis (z.B. Primer-



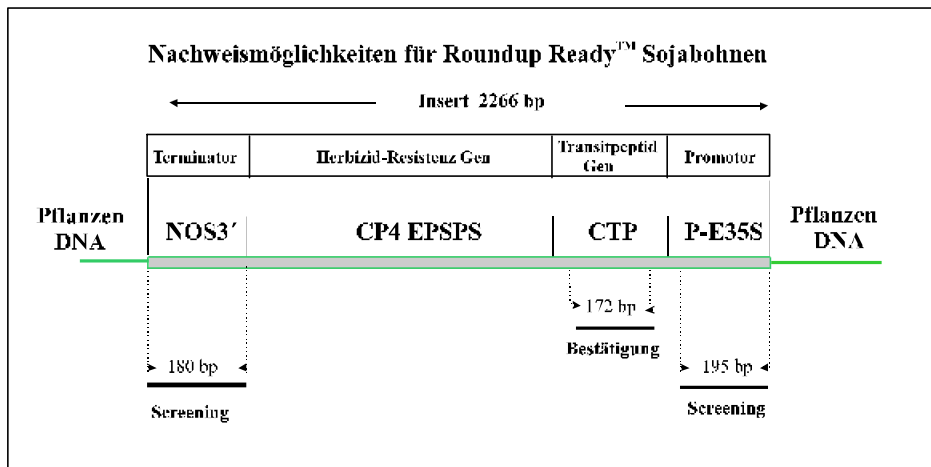
**Abb. 2:** Mögliche Gene zur Ableitung von Primersequenzen

Kombinationen aus Regulator- und Zielgen) durchgeführt werden. Die Bereiche für das Screening- und den spezifische Nachweis für Roundup-Ready® Sojabohnen sind in Abbildung 3 gezeigt.

Die PCR kann nicht angewandt werden, wenn

- die Mutation bzw. das neueingeführte Gen (konstrukt) in seiner Struktur nicht bekannt sind,
- die neueingeführte DNA bereits endogen im Organismus vorhanden war,
- die DNA nicht PCR-amplifizierbar ist.

Ein Problem für den Nachweis auf der DNA-Ebene stellen verarbeitete Lebensmittel dar. Je tiefer der Verarbeitungsgrad eines Lebensmittels ist, desto schwieriger wird der Nachweis der DNA zu führen sein. Im Verarbeitungsprozess kann die DNA soweit abgebaut worden sein, daß kein Nachweis mit Hilfe der PCR mehr möglich ist, oder daß die Bruchstück-



**Abb. 3:** Nachweismöglichkeiten für Roundup-Ready® Sojabohnen (bp; Basenpaare)

ke so klein sind, daß der Nachweis ihrer „gentechnischen“ Herkunft nicht mehr zuverlässig ist. Die DNA kann z.B. durch Nukleasen-Freisetzung aus dem Lebensmittel, saures Milieu, Scherkräfte usw. fragmentiert werden. Auch ließe sich durch den exogenen Zusatz von Nuklease-Präparaten während des Herstellungsprozesses die DNA vollständig hydrolysieren. Die Etikettierungspflicht könnte so umgangen werden. Deshalb sind noch andere Nachweisverfahren z.B. auf der Proteinebene notwendig.

Das PCR-Verfahren läßt sich mit erheblichem Aufwand (semi-)quantitativ durchführen. Das „einfache“ PCR-Verfahren erlaubt lediglich eine Ja/Nein Entscheidung. Im Bereich der Nachweismenge liegt eine Aussage häufig im Ermessensspielraum. Einige Beispiele aus Deutschland und Österreich haben 1997 und 1998 zu Erzeugnissen mit Sojalecithin oder Soja aus konventionellen Sojabohnen gezeigt, daß im Grenzbereich die Analyseergebnisse gleicher Proben von einzelnen Untersuchungslaboratorien unterschiedlich interpretiert wurden. Heute kann die Empfindlichkeit der Methode so weit gesteigert werden, daß sich bereits wenige Moleküle der rDNA nachweisen lassen.

Demnächst wird sich in sehr vielen Produkten rDNA durch *carry-over* Effekte und Kreuzkontaminationen finden lassen. Damit Lebensmittel, die nachweislich nur unbeabsichtigt mit der Gentechnik in Berührung gekommen sind, nicht gekennzeichnet werden müssen, wurde ein Schwellenwert von 1 % eingeführt. Darüber hinaus wäre es geboten, im EU-Raum die Analysenverfahren zu vereinheitlichen. Es sollte für den gleichen Rohstoff, das gleiche Lebensmittel eine einheitliche Probenmenge, ein Aufbereitungsverfahren, und die Anzahl der Zyklen festgelegt werden. Es kann nicht angehen, daß in einem Mitgliedsstaat 25 und in einem anderen 48 PCR-Zyklen für das gleiche Produkt eingesetzt werden.

Die hohe Sensitivität ist einerseits ein großer Vorteil der PCR, aber andererseits ist das System dadurch sehr empfindlich gegenüber Kontaminationen. Die qualitative PCR wird heute in Screeningverfahren für GMO verwendet. Bei positiven Ergebnissen folgt eine quantitative Untersuchung. In Abb. 4 ist der Ablauf der Prüfung auf gentechnisch modifizierte Lebensmittel dargestellt.

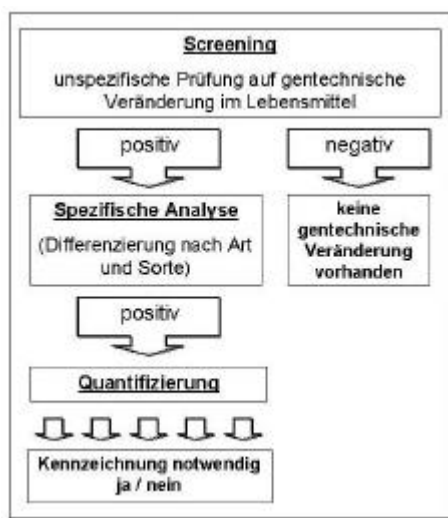


Abb.4: Fließdiagramm zum Nachweis

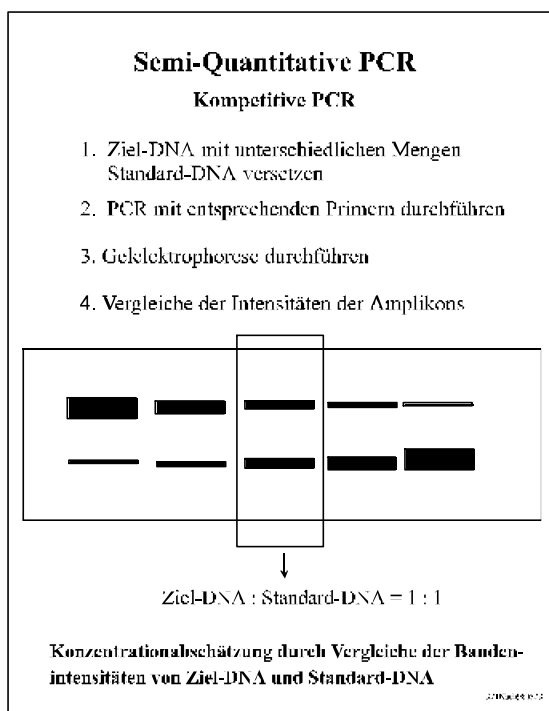


Abb. 5: Schema der kompetitiven PCR

## Quantitative PCR-Analyse

### Kompetitive PCR-Analyse

Bisher wurde der Nachweis gentechnisch produzierter Lebensmittel mit nicht-quantitativer PCR durchgeführt. Der qualitative Charakter der Methode führt dazu, daß auch Proben mit geringsten Spuren rekombinierter DNA durch z.B. unvermeidbare Vermischungen, durch Transport oder Lagerhaltung als positiv detektiert werden. Da nicht beabsichtigtes Einbringen von GVO bzw. daraus hergestellten Produkten in technisch unvermeidbaren Restmengen toleriert werden kann, wurde ein Schwellenwert für die Auslösung einer Kennzeichnung festgelegt. Dies setzt jedoch die Quantifizierung der PCR-Produkte voraus.

Zur Quantifizierung der Menge des PCR-Produkts (der Zielsequenz) im Lebensmittel wurde zunächst die kompetitive PCR eingesetzt (Abb.5). Hierbei wird dem PCR-Ansatz neben der zu untersuchenden DNA-Präparation (Ziel-DNA) ein synthetisches DNA-Fragment in unterschiedlichen bekannten Konzentrationen zugesetzt. Das synthetische DNA-Fragment (Standard-DNA) ist in seiner Basensequenz sehr ähnlich zur nachzuweisenden Zielsequenz, um eine identische Amplifikationsfrequenz zu gewährleisten. Das PCR-Produkt des synthetischen DNA-Fragmentes weist jedoch im Vergleich zum PCR-Produkt der Zielsequenz einen Unterschied in der Größe auf. Beide PCR-Produkte lassen sich somit auf dem Agarosegel unterscheiden. Die Quantifizierung erfolgt durch Vergleich der Bandenstärke beider PCR-Produkte; bei gleicher Bandenintensität ist die Konzentration der beiden Zielsequenzen, d. h. des synthetischen DNA-Fragments und der zu untersuchenden DNA im PCR-Ansatz, identisch.

In der doppelt kompetitiven PCR wird nicht nur das Fragment für den spezifischen Nachweis der eingefügten DNA amplifiziert, sondern auch ein Fragment aus der DNA, das unspezifisch für die Veränderung ist, aber auch in dem Lebensmittel vorhanden ist. Bei der Sojabohne ist dies zum

Beispiel ein Abschnitt aus dem Lektigen. Mit Standards für beide Amplifikationen kann für beide Fragmente eine relative Kopienzahl bestimmt werden. Setzt man die Kopienzahl zueinander in Beziehung, so kann der relative Anteil an veränderter DNA angegeben werden.

Das Ergebnis der doppelt kompetitiven PCR ist nicht so stark von der absoluten DNA-Menge des DNA-Extrakts abhängig wie die einfach kompetitive PCR. Die einfach kompetitive PCR ist ohne spezielle Standards nicht für verarbeitete Lebensmittel geeignet; außerdem scheint ein Einsatz von unterschiedlichen Extraktionsmethoden für den Nachweis schwierig zu sein.

Die kompetitive PCR ist im allgemeinen eine sehr sensitive Methode mit der unter 1% GMO-DNA quantifiziert werden kann.

### Realltime Quantitative PCR, Taqman-PCR

Die Realltime Quantitative PCR, auch Taqman-PCR genannt, ist die neueste Methode zur Quantifizierung der PCR-Produkte während ihrer Bildung in den Reaktionsgefäßen. Hierbei wird die 5'-3' Exonukleaseaktivität der DNA-Polymerase zur Erzeugung eines meßbaren Signals während der PCR ausgenutzt. Man setzt der PCR, neben den üblichen PCR-Primern, eine für die Zielsequenz spezifische Sonde zu, die mit zwei Fluoreszenzfarbstoffen markiert ist: einem Reporterfarbstoff am 5'-Ende und einem Quencherfarbstoff am 3'-Ende (Abb.6). Die Nähe des Quencher-moleküls reduziert die emittierte Fluoreszenz des Reporterfarbstoffes durch Förster-Energietransfer. Die Sonde bindet während der PCR an die denaturierte Zielsequenz und wird durch die 5'-3' Exonukleaseaktivität der DNA-Polymerase hydrolysiert. Dadurch werden Reporter- und Quencherfarbstoff voneinander getrennt und das Reportersignal steigt an. Anschließend wird die Synthese des Gegenstranges zu Ende geführt. Da in jedem Zyklus weitere Reporter-moleküle freigesetzt werden, steigt das Fluoreszenzsignal proportional zur Anzahl

synthetisierter PCR-Produkte an. Zur Quanti-

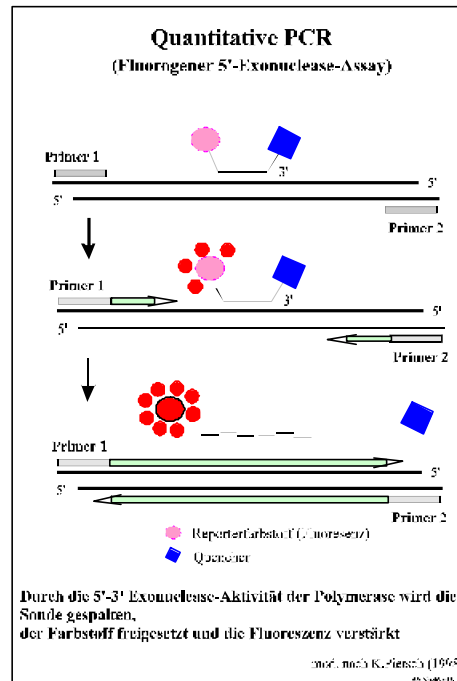


Abb. 6: Schema der quantitativen PCR

fizierung wird der Anstieg der Reporterfluoreszenz während der PCR gemessen. Unterschiedliche Reaktionen werden durch den Zeitpunkt charakterisiert, zu dem die Amplifikation erstmals detektiert wird, und nicht durch die Menge des akkumulierten Endproduktes. Je mehr Startkopien in die PCR eingebracht wurden, desto früher wird ein signifikanter Anstieg der Fluoreszenz gemessen. Als Parameter für die Bestimmung der Startkopienzahl wird der Ct-Wert (*threshold cycle*) berechnet, der die Zykluszahl angibt, bei der die Fluoreszenz einen festgelegten Schwellenwert überschreitet.

In die Ebene, in der alle Kurven in die exponentielle Phase übergehen, wird eine Gerade gelegt (Abb.7). Die Schnittpunkte jeder Kurve mit der Gerade sind die Schwellenwerte (Ct). Der Ct-Wert gibt die Zykluszahl an, bei der die Amplifikation beginnt. Je höher die in der PCR eingesetzte

DNA-Menge ist, desto geringer ist der Ct-Wert. Mit DNA-Standards, die eine definierte Kopienzahl enthalten kann das System kalibriert werden; der dekadische Logarithmus der Kopienzahl verhält sich proportional zum Ct-Wert (Abb. 7).

Wie bei der doppelt kompetitiven PCR wird für den Nachweis die relative Kopienzahl eines Fragments, das spezifisch für die gentechnische Veränderung ist, und die relative Kopienzahl eines Fragments, das spezifisch für das Lebensmittel ist, bestimmt. Über das Verhältnis dieser beiden Werte lässt sich schließlich der relative Anteil an transgener DNA darstellen.

Die Realtime Quantitative PCR ist sowohl für unverarbeitete als auch für verarbeitete Lebensmittel geeignet. Sie ist relativ einfach in der Anwen-

dung. Der Zeitaufwand für die Analyse ist relativ gering. Die Spezifität und die Sensitivität (bis 0,1 %) stellen bei entsprechender DNA-Präparation kein Problem dar. Wie akkurat die Bestimmung der DNA-Menge im gentechnisch veränderten Lebensmittel ist, müssen erst noch die entsprechenden Ringversuche zeigen. In unterschiedlichen Untersuchungslaboratorien jedoch differieren gegenwärtig die Ergebnisse noch stark gerade in den unteren Grenzbereichen.

Ein großer Nachteil dieses Systems sind die sehr hohen Kosten für das Analysegerät und die Reagenzien und die noch fehlende Validierung des Verfahrens.

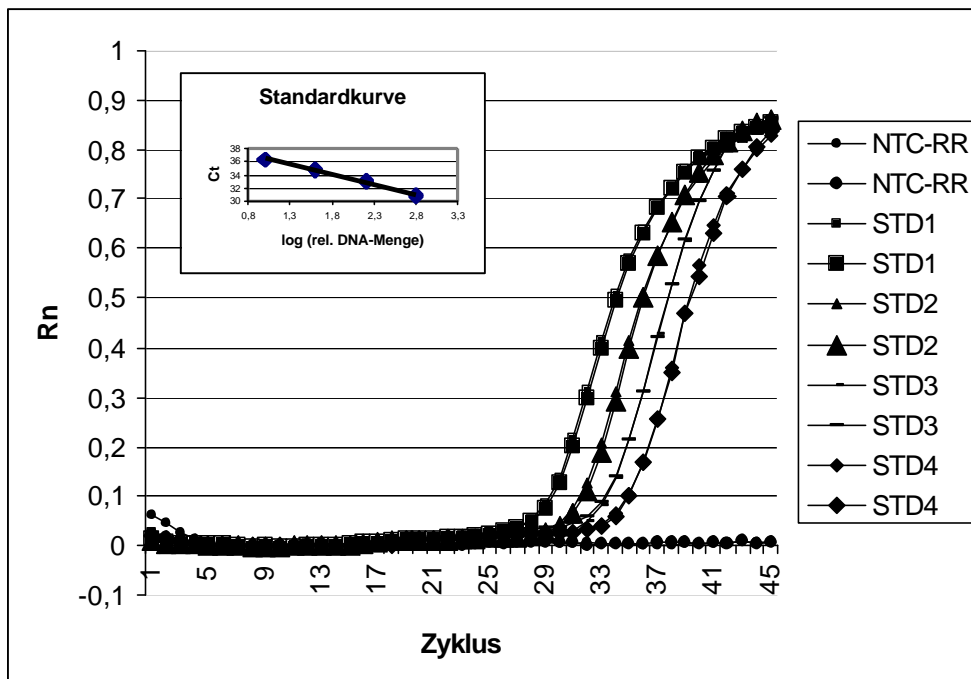


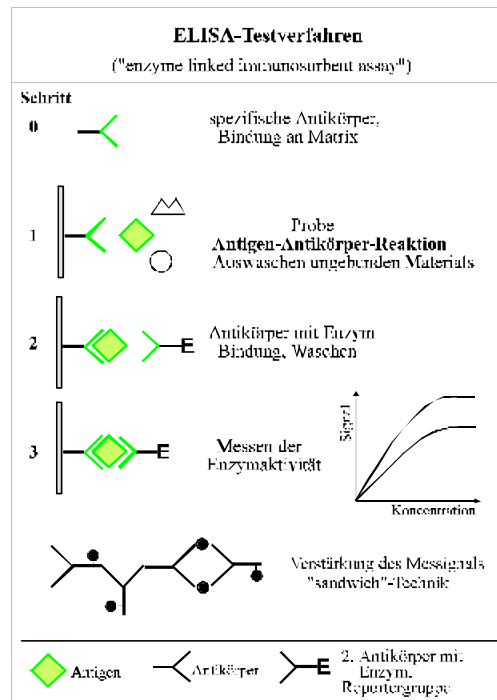
Abb.7: Taqman-PCR mit DNA-Standards

**Immunologischer Nachweis**

Der Nachweis des neueingeführten Proteins hat in Hinblick auf Verbraucherschutz und -information an sich eine größere Relevanz als die Identifikation der rDNA. Von einem Protein kann eine Gefährdung für Atopiker (Allergiker) ausgehen und für diese sensitive Personengruppe wäre es zur Meidung dieses Produktes wichtig zu wissen, aus welchem Organismus das neue Protein stammt. Nur die Information, daß es sich um ein gentechnisch modifiziertes Lebensmittel handelt, ist unzureichend. Mit Hilfe von spezifischen Antikörpern und immunchemischen Testverfahren kann das neueingeführte Protein detektiert und in der Regel auch quantifiziert werden. Diese immunologischen Verfahren sind nicht neu; sie werden standardmäßig in der klinischen Diagnostik und Lebensmittelüberwachung durchgeführt. Viele unterschiedliche Verfahren sind hier entwickelt worden. In der Regel ist es immer eine Zweischrittechnik:

1. Bindung des Proteins an den korrespondierenden spezifischen Antikörper und
2. die quantifizierbare Nachweisreaktion.

In Abb. 8 ist ein typischer ELISA-Test (*enzyme linked immunosorbent assay*) schematisch dargestellt, bei dem die Antikörper an eine Matrix gebunden sind. Die Quantifizierung des primären Antigen-Antikörper-Komplexes erfolgt über ein an den sekundären Antikörper gekoppeltes Enzym. Speziell an gentechnisch modifizierte Lebensmittel sind die Verfahren noch nicht adaptiert und etabliert und für die meisten Proteine fehlen die spezifischen Antikörper. Die Identifizierung der Proteine erfolgt über die spezifische Antigen - Antikörper- Reaktion. Wichtig ist hierbei, daß die Antikörper ganz spezifisch nur das neueingeführte Protein erkennen und keine Bindung (Kreuzreaktion) mit anderen, aber strukturell sehr ähnlichen Proteinen (Peptidstrukturen) eingehen. Hierin ist noch eines der Hauptprobleme für den Proteinnachweis zu sehen. Ein weiteres Problem ist, daß das nachzuweisende Protein tatsächlich nur aus dem



**Abb. 8:** Schema des ELISA-Testverfahren

gentechnisch modifizierten Produkt stammt und nicht aus einer natürlichen mikrobiellen Kontamination des Lebensmittels. Im Punkte der Spezifität auf eine gentechnische Veränderung ist der DNA-Nachweis mit seinen überlappenden Sequenzen aus z.B. Regulator- und Zielgen dem Proteinnachweis überlegen.

Heute lassen sich mit ELISA-Tests bakterielle Endotoxine wie z.B. das Cry1A(b)-Genprodukt aus Bt-Mais und die CP4-EPSP-Synthase aus transgenen Sojabohnen nachweisen. Der Bt-Toxin Nachweis in transgenen Pflanzen ist aber problematisch, weil Pflanzen für den biologischen Pflanzenschutz großflächig mit *Bacillus thuringiensis*-Lösungen besprüht werden und es sehr schwierig ist, aufge-



sprühte Toxine von denjenigen zu unterscheiden, die die gentechnisch veränderten Pflanzen produzieren. Die Pflanzen müßten deshalb vor der Durchführung des ELISA-Tests von solchen "externen Toxinen" gereinigt werden. Ebenso können am Lebensmittel haftende Mikroorganismen, wie z.B. Agrobakterien zu falsch positiven Ergebnissen führen.

In pflanzlichem Rohmaterial (Sojabohne, Raps, Mais) lassen sich die zu den neueingeführten DNA-Sequenzen korrespondierenden Proteine nachweisen. Voraussetzung ist, daß die neueingeführte genetische Information auch exprimiert, d.h. das entsprechende Protein auch synthetisiert wird. Die zur Zeit erhältliche transgene Maisvarietät (BT-176) enthält z.B. drei neueingeführte Gene. Das Genprodukt des Ampicillin-Resistenzgens wird jedoch in der Pflanze nicht gebildet, das Genprodukt des Bt-Gens nur in den grünen Pflanzenteilen und in den Pollen. Deshalb werden beide Genprodukte im Mais nicht zu finden sein. Im Tierfutter (Sojaschrot, Silo- und Körnermais) kann ein Nachweis auf Proteinebene prinzipiell geführt werden, während von den zur Lebensmittelproduktion eingesetzten Bestandteilen des pflanzlichen Rohmaterials ein Nachweis auf Proteinebene nur in Sojaschrot und den daraus gewonnen Proteinfractionen möglich sein wird. In Raps- und Sojaöl und in Maisstärke und deren Verzuckerungsprodukten erscheint ein Nachweis auf Proteinebene unmöglich. Dies gilt auch für verarbeitete Lebensmittel, die solche Bestandteile enthalten.

Der immunologische Nachweis versagt natürlich immer dann, wenn das Gen für das nachzuweisende Protein in dem zum Verzehr bestimmten Pflanzenorgan nicht / kaum exprimiert wird (z.B. Bt-Toxin im Maiskorn). Der immunologische Nachweis wird seine Grenzen im pMol-Bereich finden; er ist nicht so empfindlich wie das PCR-Verfahren. Aber solche hohen

Empfindlichkeiten sind mit der Einführung des Schwellenwertes nicht mehr notwendig.

Vorteile des immunologischen Nachweises (ELISA) sind einfache Anwendung, hohe Robustheit, hohe Spezifität, hinreichende Sensitivität, die Quantifizierbarkeit und die gute Kosteneffizienz. Der hohe Aufwand für die Erzeugung von hochspezifischen Antikörpern, die Erzeugung von angemessenen Standards und die hohe Empfindlichkeit gegenüber extremen Bedingungen (z.B. pH, Salzkonzentration, Temperatur) sind einige Nachteile des ELISA.

Durch die Empfindlichkeit gegenüber extremen Bedingungen ist der ELISA nur auf relativ wenige schwach verarbeitete Lebensmittel anwendbar. Bei dem Nachweis des CP4 EPSPS-Proteins sind z.B. Sojabohnen, Sojamehl, Flakes und Sojaproteinisolate einsetzbar. In einem linearen Messbereich ist hier die Quantifizierung von einem Anteil von 0,3 - 2,0 % transgenem Soja möglich. Bei stärker verarbeiteten Lebensmitteln ist durch die Denaturierung der Proteine kein sensitiver bzw. oft überhaupt kein Nachweis mittels ELISA möglich.

Für den Nachweis von gentechnisch modifizierten Lebensmitteln steht bisher nur ein validierter ELISA-Kit für die Detektion des CP4 EPSPS-Proteins der Roundup Ready<sup>®</sup> Sojabohne zur Verfügung.

### Fazit

Zur allgemeinen Rechtssicherheit ist unumgänglich, daß die Verfahren zum Nachweis gentechnisch modifizierter Lebensmittel nach validierten, einheitlich vorgeschriebenen Verfahren durchgeführt werden. Insbesondere sind hier die Probenahme, die Probenmenge und das PCR-Verfahren zu standardisieren. Der Gesetzgeber sollte alsbald die EU-einheitlichen Ausführungsbestimmungen erlassen. Hinsichtlich der emotionalen Empfindlichkeiten löst eine Senkung des Schwellenwertes die Problematik um die Kennzeichnung nicht.

Literatur kann unter e-mail [klaus-dieter.jany@bfe.uni-karlsruhe.de](mailto:klaus-dieter.jany@bfe.uni-karlsruhe.de) angefordert werden.

"Raus aus dem Elfenbeinturm der Wissenschaft, hinein in die öffentliche Diskussion" - dies ist das Motto des Wissenschaftlerkreises Grüne Gentechnik (WGG). Anwendungen gentechnischer Verfahren haben mittlerweile in der Medizin breite Zustimmung gefunden, große Bedenken hingegen bestehen jedoch in der Öffentlichkeit gegenüber der "Grüne Gentechnik"; den Anwendungen der Gentechnik in Landwirtschaft und Ernährung. Der Bedarf an Informationen ist sehr hoch. Hier setzt der WGG an und möchte Informationsdefizite abbauen. Ein wichtiges Anliegen des WGG ist die Neutralität und die sachgerechte Information der Öffentlichkeit sowie Transparenz zur Grünen Gentechnik.

Die Mitglieder des Kreises eint ein optimistisches, aber nicht unkritisches Verhältnis zur Grünen Gentechnik. Sie bekennen sich zu einem verantwortlichen Umgang mit dieser Zukunftstechnologie und zur Verantwortung, als Fachwissenschaftler an der kontroversen öffentlichen Debatte aktiv teilzunehmen. Intensiver wollen die Wissenschaftler ihre Kompetenz in die Diskussion einbringen und der Öffentlichkeit, der Politik, der Wirtschaft und den Medien als Ansprechpartner zur Verfügung stehen. Dem Kreis gehören rund 80 Wissenschaftler aus Deutschland, Österreich und der Schweiz an. Sie vertreten die Bereiche der Ernährungswissenschaften, Allergologie, Toxikologie, Lebensmitteltechnologie, Molekularbiologie, Mikrobiologie und Pflanzenzüchtung.

#### Kontaktadresse

Wissenschaftlerkreis Grüne Gentechnik  
Prof. Dr. Klaus-Dieter Jany  
Haid-und-Neu-Straße 9, 76131 Karlsruhe  
Tel: +49 (0)721 - 66 25 455; Mobil: 0171 - 42 32 957  
Fax: +49 (0)721 - 66 25 457; +49 (0)7247 - 89 611  
e-mail: klaus-dieter.jany@bfe.uni-karlsruhe.de