

# CUADERNO Nº118

# Técnicas moleculares aplicadas en trazabilidad alimentaria

La superficie de producción de cultivos genéticamente modificados continúa en aumento, habiendo transcurrido 13 años desde su primera comercialización en el mundo. En la actualidad son 25 los países productores de cultivos transgénicos, mientras que en 1996 sólo eran 6 (ver Cuaderno nº 43, 44, 77, 111). Esto es un indicio de la amplia aceptación y adopción de esta tecnología por los beneficios económicos, ambientales y sociales que ofrece. Otro dato de relevancia es que, en los países que cultivaron transgénicos durante 2008, reside la mitad de la población mundial. En este contexto, y con la mayor disponibilidad mundial de alimentos derivados de organismos genéticamente modificados (OGM), resultó necesario el desarrollo de normativas de trazabilidad y etiquetado de alimentos derivados de OGM, y la aplicación de técnicas que garanticen el cumplimiento de esa normativa. La trazabilidad alimentaria se define como la capacidad de rastrear un alimento desde su origen hasta el consumidor, mediante la identificación de sus ingredientes. Esto responde también a un mayor interés por la calidad e identidad de los alimentos que han demostrado los consumidores en los últimos años. En general, las agencias reguladoras y grupos científicos del mundo consideran que los cultivos genéticamente modificados no representan una amenaza para la salud humana ni de otros animales, ya que no existen evidencias científicas que indiquen lo contrario. Sin embargo, algunos países (como los integrantes de la comunidad europea) han introducido legislaciones que regulan la trazabilidad y etiquetado de los alimentos derivados de organismos genéticamente modificados, para ofrecerles a los consumidores información de los alimentos que deciden consumir (ver Cuaderno nº 14).

#### Trazabilidad alimentaria

La Comisión del *Codex Alimentarius* fue creada en 1963 por la FAO (Organización para la Alimentación y la Agricultura) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) con dos objetivos principales: proteger la salud de los consumidores, y asegurar prácticas leales en la industria alimentaria. Con tales fines el *Codex Alimentarius* elabora normas y textos en relación a los alimentos, entre los cuales desarrolló una definición para los términos relativos a *trazabilidad* en el ámbito alimentario. El texto aprobado describe **trazabilidad** como *la habilidad para seguir el movimiento de un alimento a través de los pasos específicos de producción, procesado y distribución.* Además, establece las bases para que mundialmente se hable en los mismos términos y lograr de ese modo una mejor coordinación en las condiciones de salubridad e información de los alimentos. Durante el 2006, el *Codex Alimentarius* volvió a referirse a la trazabilidad alimentaria, mediante un texto en el que establece los principios de trazabilidad como *herramientas* 

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



en el contexto de la inspección y certificación de alimentos. En resumen, la trazabilidad es una herramienta para garantizar la calidad alimentaria, y se basa en el seguimiento y la detección de todo tipo de componentes presentes en un alimento (ver cuaderno N°12). Algunos de esos componentes que se rastrean son patógenos (bacterias, virus, priones), residuos veterinarios, toxinas, contaminantes medioambientales y otros residuos.

Respecto de la Seguridad Alimentaria de los alimentos genéticamente modificados, en 1996 el comité consultivo de la FAO/OMS recomendó la evaluación de estos alimentos con la base del "conocimiento del proceso mediante el cual se desarrollo el producto en si" y también concluyó que "la utilización de estas técnicas no da lugar a un alimento que sea inherentemente menos seguro que el producido con las técnicas convencionales". Sin embargo, dentro de los componentes incluidos en políticas de trazabilidad alimentaria se considera la identificación y seguimiento de nuevas secuencias de ADN recombinante en los alimentos.

#### Utilidad de técnicas moleculares en Trazabilidad Alimentaria

Las materias primas (como los granos o semillas de cereales) que dan origen a alimentos, atraviesan diferentes etapas de la cadena alimentaria, esto es, un proceso de transformación que finaliza en la góndola de un comercio en forma de alimento (Fig. 1)

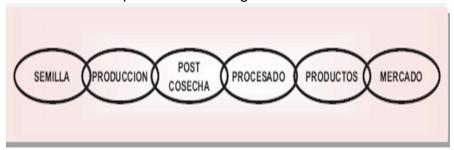


Figura 1. **Cadena alimentaria de cereales.** <u>Fuente</u>: Industrialización de granos para exportación de productos con valor agregado. Rodriguez et al. 2000. INTI

La trazabilidad alimentaria permite rastrear la calidad de un alimento a través de toda la cadena de producción, desde su origen y hasta el consumidor, dando lugar a una identificación confiable de sus ingredientes, un control sanitario y un seguimiento. La aplicación de técnicas moleculares hace posible estudiar materias primas, como semillas de soja o de maíz, para establecer si se trata o no de materiales transgénicos (ver Cuaderno nº 2, 26), también resulta posible analizar los productos de transformación de dichas materias primas, como aceite, cerveza o lecitina, así como productos elaborados que los incorporen (pasta, fécula, snacks, alimento para animales, productos dietéticos, papillas infantiles, productos de repostería, etc.).

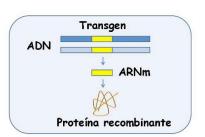
<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.





Figura 2. Alimentos derivados del maíz susceptibles de ser analizados por técnicas moleculares para establecer si derivan o no de un organismo genéticamente modificado.. Fuente: programa Educativo Por qué biotecnología. ArgenBio (http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/docs/laminas/laminas.asp)

**Técnicas moleculares en la trazabilidad de alimentos derivados de OGMs** Es posible identificar un transgénico o un alimento derivado de él aplicando técnicas moleculares. Los OGM o los alimentos derivados de ellos, contienen una característica nueva, determinada por el transgén, que es el gen introducido en el organismo receptor. Este organismo, ahora transgénico, fabrica una nueva proteína, llamada recombinante (ver Cuaderno nº 2, 49).



**Figura 3.** Esquematización de la síntesis de una proteína recombinante, en un organismo genéticamente modificado. Fuente: Argenbio.

La detección, identificación y cuantificación de compuestos de origen biológico presentes en los alimentos, tales como el ADN y las proteínas, es en la actualidad posible mediante tecnologías relacionadas con la genómica y la proteómica (ver cuaderno nº 114, 117). Aunque las técnicas basadas en el análisis de ADN son más satisfactorias en cuanto a la sensibilidad y la flexibilidad de condiciones que ofrecen, los métodos de análisis de proteínas representan una opción igualmente válida para cierto tipo de alimentos. Para detectar la presencia de un transgén o de una proteína

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



recombinante existen métodos cuantitativos (niveles de representación de un transgénico) o cualitativos (indican presencia o ausencia).

Entre las técnicas mas utilizadas para la detección e identificación de organismos genéticamente modificados y sus productos derivados, se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y las técnicas inmunológicas de ELISA y Western Blot (ver Cuadernos nº 67, 108).

# Técnicas de identificación de ADN

Los métodos de detección de ADN suelen ser utilizados cuando el alimento a estudiar fue procesado o cuando fue expuesto a condiciones de calor o presión extrema. El ADN es más estable que las proteínas, por lo que resiste más sin ser desnaturalizado o degradado. Incluso, habiéndose fragmentado, el ADN permite la detección de transgenes por técnicas que resultan más sensibles que las disponibles para la identificación de proteínas.

Todas las células que forman a un organismo modificado genéticamente portan la secuencia de ADN insertada, o transgén, mientras que no en todas las células de un OGM están presentes las proteínas que se producen a partir de ese transgén. La identificación de una secuencia de ADN incorporada en el genoma de un OGM o presente en un alimento derivado de él puede llevarse a cabo mediante varias técnicas: 1) PCR; 2) patrones de restricción de ADN, 3) Southern Blot, 4) técnicas basadas en PCR 5) secuenciación de ADN y 6) *Microarrays* a ADN.

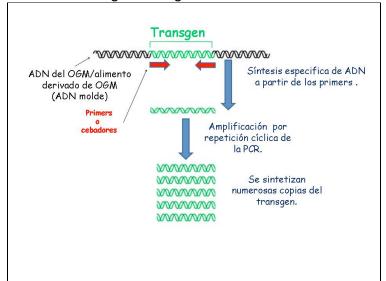
# § <u>Técnica de PCR (Polymerase Chain reaction)</u>

La técnica más utilizada para la detección de modificaciones genéticas resulta ser la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se trata de una técnica molecular que permite la amplificación de una secuencia definida de ADN (ver cuaderno nº 67). Durante la PCR, el ADN purificado del OGM en estudio, o la muestra de alimento, junto con la enzima polimerasa, los primers, y demás componentes de la reacción son sometidos a sucesivos ciclos de incubación a diferentes temperaturas. Los primers deben ser diseñados específicamente para hibridar por complementariedad con las secuencias de ADN que se encuentran en los extremos de la región a amplificar (ver figura 4). Las moléculas de ADN producidas en un ciclo de amplificación son usadas como molde para generar nuevas cadenas de ADN en el ciclo siguiente. Luego de finalizados los aproximadamente 30 ciclos que ocurren en una PCR convencional, el numero de copias sintetizada asciende a 230 por lo que resulta posible la visualización de bandas en un gel de agarosa que se corresponde con la secuencia amplificada. Esta técnica es aplicable en el análisis composicional de un alimento. Mediante PCR se pueden detectar harinas animales, conocer qué especies vegetales, animales, bacterianas y de hongos le dieron origen al alimento o están presentes en él. De esta

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



manera además es posible identificar patógenos en el alimento, como *Salmonella spp., Listeria Monocytogenes* y cepas de *Escherichia coli* nocivas para la salud humana. La PCR reúne varias ventajas: es rápida, sensible, específica, barata y automatizada. Es sensible porque tiene la particularidad de detectar y amplificar un transgén entre decenas de miles de genes propios de la muestra, es decir, puede detectar el ADN molde aunque este no se encuentre muy representado. Mediante la PCR se puede detectar tanto el transgén en si mismo, así como secuencias marcadoras o reguladoras presentes en el organismo genéticamente modificado.



**Figura 4.** Esquema de la amplificación de un transgén mediante PCR. Fuente: Argenbio

Existen variantes a la PCR convencional:

- Técnica de PCR semicuantitativa: Permite estimar, dentro de un rango, el nivel de representación de un organismo genéticamente modificado en la muestra analizada.
- ü **PCR en Tiempo real** (Real Time PCR): consiste en llevar a cabo las amplificaciones de los sucesivos ciclos bajo un sistema de monitoreo de fluorescencia. Esta metodología permite determinar, para cada reacción, un perfil cinético de amplificación, a partir del cual puede es posible establecer la cantidad de moléculas que sirvieron de molde en esa muestra en particular.

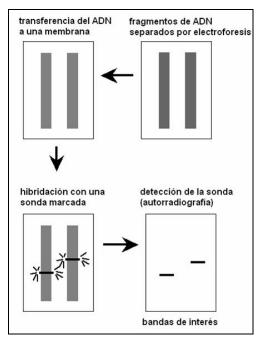
#### § Southern Blot

El *Southern Blot* es una de las técnicas más confiables para verificar e identificar la presencia de una modificación genética. Además, provee información respecto al número de copias presentes en el genoma en estudio, y cambios (rearreglos y deleciones) que pudieran haber ocurrido en el transgén o en el genoma receptor. Esta metodología consiste en purificar el ADN de la muestra del OGM o del alimento derivado de él, generar fragmentos de ADN mediante el uso de enzimas de restricción (ver

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Cuadernos n° 30, 34), correr por electroforesis en gel los productos de digestión, separar las bandas de ADN por tamaño, transferir las bandas de ADN a membranas, hibridar las bandas generadas y transferidas con sondas marcadas, y revelar las membranas para ver el patrón de bandas (ver cuaderno n° 67). La sonda utilizada debe ser complementaria a la región de ADN que se quiere estudiar y por lo tanto es necesario conocer su secuencia. Si el transgén es detectado se observará un patrón de bandas diferente al obtenido con muestras sin modificar genéticamente.



**Figura 5.** El *southern blot* es una técnica netamente cualitativa, es decir, sólo puede informar respecto a la presencia o ausencia de una secuencia de interés. Sin embargo, se puede inferir parámetros cuantitativos en función de la intensidad de la señal de hibridación. Una de las desventajas de esta técnica es que insume mucho tiempo, es laboriosa y costosa, pero es de utilidad para confirmar resultados obtenidos por otros métodos.

# § Técnicas de identificación de proteínas:

La detección de proteínas puede realizarse en muestras de alimentos frescos o procesados, siempre y cuando el procesamiento no haya afectado a las proteínas de la muestra. Por ese motivo, las técnicas moleculares que suponen el manejo de proteínas son aplicadas en aquellos casos en los cuales se dispone de muestras con un contenido proteico en cantidad suficiente y con la calidad adecuada. Existen diferentes técnicas de identificación de proteínas aplicadas a la detección de OGM, la mayoría se basa en el reconocimiento de la proteína de interés por anticuerpos. Algunos de los métodos son cualitativos y rápidos (tiras de papel con el anticuerpo contra la proteína recombinante fijado), los hay cuantitativos y semicuantitativos como el ELISA y el Western Blot.

• **Técnica ELISA** (del inglés: Enzyme Linked Immuno Sorbent Asssay) La técnica de ELISA es un ensayo inmunoenzimático que se caracteriza por ser muy sensible, de alta especificidad, rápido y económico. El principio de esta metodología

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



consiste en detectar la presencia y/o cuantificar alguna proteína de interés, como puede ser una proteína recombinante presente en muestras de alimentos derivados de un OGM. El método de ELISA se fundamenta en el uso de anticuerpos (Ac) específicos para capturar a la proteína de interés. Hay diferentes variantes de ensayos de ELISA, existen formatos de laboratorio (en soportes de muchos pocillos) y también hay formatos portátiles. En la Figura 6 se muestra una de las posibles variantes de ELISA: en un soporte se fijan anticuerpos (Anticuerpos A) capaces de reconocer y unirse a la proteína que se pretende detectar. Además se utiliza una segunda población de anticuerpos (anticuerpos B) que genera una reacción colorimétrica o fluorimétrica que permite visualizar y medir la cantidad de la proteína de interés. El resultado se compara con la señal emitida por concentraciones conocidas de la misma proteína, por lo que el ensayo no solo es cualitativo, si no también cuantitativo.

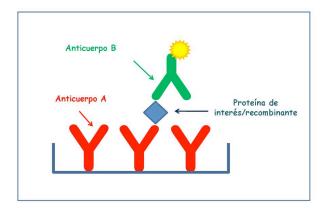


Figura 6. Esquematización del fundamento de la técnica ELISA. Para la aplicación de la técnica de ELISA en trazabilidad es necesario definir y conocer la proteína a trazar con anterioridad a aplicar la tecnología, ya que se deben desarrollar anticuerpos que reconozcan de manera especifica a la proteína recombinante. Fuente: ArgenBio.

La trazabilidad por ELISA no resulta de utilidad para alimentos derivados de transgénicos cuyo contenido de proteínas es bajo, como en el caso de aceites. En comparación con las técnicas basadas en la detección de transgenes, el ensayo de ELISA presenta menor riesgo de arrojar información errónea, ya que minimiza los resultados falsos positivos o falsos negativos por tratarse de una metodología de menor sensibilidad.

# Tiras de detección de Flujo Lateral (LFS):

Se trata de una variante de ELISA dispuesta en tiras reactivas y no en soportes con pocillos, como los utilizados en ensayos de laboratorio (ver Figura 7). Presenta un principio muy similar a los test de embarazos. Esta técnica consiste en la inmovilización doble de anticuerpos. En una primera zona se encuentran los anticuerpos marcados y libres, que reconocen a la proteína de interés. Si la proteína esta presente en la muestra, en esta zona se formara el complejo Ac marcado con la proteína (complejo de reconocimiento). La segunda zona es la "línea test", donde están inmovilizados los

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



anticuerpos que reconocen específicamente la proteína de interés. Si el complejo de reconocimiento viene migrando por esta segunda zona, entonces será capturado por los Ac inmovilizados. Luego también existe la "línea control" donde se encuentran inmovilizados los anticuerpos que reconocen al anticuerpo marcado, y por ende también habrá una línea visible en esta zona. La aparición de dos líneas en la tira de detección indicará que la muestra es positiva, y que por ende esta presente la proteína recombinante de interés. En la actualidad se utiliza para la detección de endotoxinas *de Bacillus thuringiensis*, cuya secuencia ha sido incorporada en diferentes eventos protegidos de insectos. La ventaja de este método es que puede utilizarse en cualquier lugar, es muy simple, barato y obtiene resultados en menos de 10 minutos.

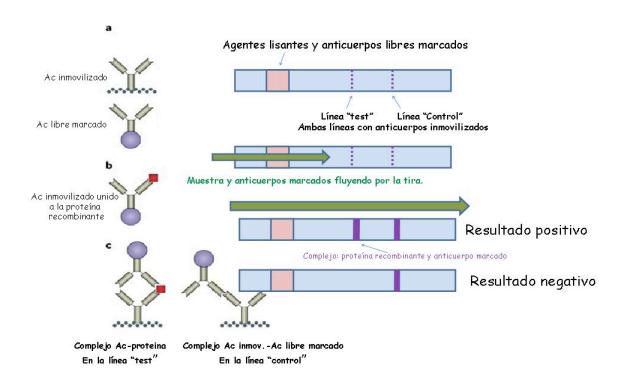


Figura 7. Esquematización del principio de las tiras de detección de flujo lateral.

#### Técnica de Western Blot

Se trata de un método cualitativo y semicuantitativo, altamente especifico que ofrece resultados útiles para determinar si una muestra de alimento contiene una proteína (en el caso de OGMs se trata de una proteína recombinante) por debajo o por encima de un nivel de aceptación predefinido. Las proteínas son separadas por electroforesis en un gel de poliacrilamida. La corrida se trasfiere a una membrana para luego incubarla con anticuerpos capaces de reconocer la proteína recombinante de interés. El

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.





reconocimiento de los anticuerpos con la proteína se pone evidencia mediante tinciones de distintos tipos. La técnica de Western blot, al igual que la de ELISA, por ser un inmunoensayo que hace uso de anticuerpos, es ideal para la detección de diferentes proteínas dentro de una matriz compleja, cuando las proteínas de interés (*targets*) son conocidas. Sin embargo, el *western blot* es más adecuado para proyectos de investigación que en ensayos de rutina, como puede ser la trazabilidad alimentaria.

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



# Comparación de las técnicas moleculares aplicadas en trazabilidad alimentaria

Luego de considerar y discutir diversas técnicas aplicadas en trazabilidad alimentaria, tanto aquellas que detectan la modificación genética como las que identifican a la proteína resultante de la transgénesis, es interesante compararlas en función de algunos parámetros decisivos a la hora de elegir el uso de una u otra técnica. En la siguiente tabla se exponen algunas consideraciones:

Parámetro de las		que detectan ivel de ADN.	OGMs	Técnicas que detectan OGMs a nivel de Proteínas				
técnicas	Southern Blot	PCR	Real Time PCR	Western Blot	ELISA	LFS		
Nivel de Dificultad	Alto	Вајо	Alto	Alto	Moderado	Muy bajo		
Complejidad del equipamiento	Moderado	Moderado	Alto	Moderado	Moderado	No		
Sensibilidad	Moderada	Muy alta	Alta	Alta	Alta	Alta		
Tiempo insumido	6-30 horas	Tres horas	1 día	2 días	30-90 min	10 min		
Costo/muestra(USD)	150	50	450	150	5	2		
Resultados cuantitativos	No	Sí (PCR modificada)	Sí	No	Sí	No		
Aplicable a campo	No	No	No	No	Sí (algunos Formatos)	Sí		

Tabla 1. Comparación de las técnicas moleculares aplicadas en trazabilidad alimentaria.

# Los OGMs que se vienen y su detección

Las técnicas disponibles en la actualidad sólo pueden informar si la muestra analizada está libre de los eventos estudiados particularmente. En caso de que el resultado sea negativo para algún evento no se puede garantizar que la muestra este libre de otra modificación genética que no es evaluada. En un futuro cercano, los OGMs aprobados

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



para su comercialización serán más complejos que los que se comercializan y consumen en el presente. Esto implicará el desarrollo de técnicas moleculares cuyas capacidades de análisis respondan a las nuevas necesidades, garantizando la correcta trazabilidad en relación a nuevos productos. Los *microarrays* o *microchips* reúnen características que los transforman en herramientas prometedoras para estos fines ya que, entre otras cosas, tienen la ventaja de poder detectar un gran número de secuencias dentro de un mismo ensayo. Un Microarrays de ADN consiste en un soporte solido en el que se encuentran fijados y representados de manera ordenada miles de genes o de secuencias genómicas de un organismo. Esto resulta de especial utilidad para los eventos acumulados, siendo que en el cultivo final puede haber dos, tres, cuatro o más eventos de transformación en un único organismo. Además, existen *biosensores* desarrollados para detectar organismos genéticamente modificados. Se trata de dispositivos microelectrónicos sumamente compactos y fáciles de transportar. Se trata de herramientas muy promisorias, mediante las cuales e proceso de detección de OGMs resultará más simple, rápido y permitirá la cuantificación de las muestras analizadas.

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



# CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

Trabajar acerca de la información que se brinda al consumidor, ya sea acerca de la composición, del etiquetado, como de las condiciones de salubridad que tienen los alimentos, es un tema interesante y fundamental para trabajar en clase, con alumnos de diferentes niveles, más allá del tema puntual de los OGM. El objetivo es generar conciencia acerca de los derechos que asisten a los consumidores y del derecho a reclamar en caso de que estas normativas no se cumplan.

Es importante destacar que los alimentos transgénicos, justamente por ser nuevos e incluir técnicas de ingeniería genética, "nacieron" con cierto nivel de desconfianza e incertidumbre pública, lo que impulsó diferentes métodos y organismos que regulan su producción, composición y liberación al mercado. La Argentina, en donde existe cierta tradición de desconfianza social hacia los organismos y medidas de control, justamente en el área de la Biotecnología moderna y en la producción y liberación al ambiente de OGM, existe un sistema de regulación y control muy estricto, que es modelo en Latinoamérica.

Se puede aprovechar este tema para trabajar con los alumnos en clase, las normas de control y la regulación que existe en cada país respecto de todos los alimentos. En esta temática se sugiere a los docentes realizar con los alumnos actividades o investigaciones acerca de cuáles son las entidades que controlan y los mecanismos que siguen hasta la aprobación de los alimentos OGM. Sugerimos, para esto, trabajar el Cuaderno nº 19 y el nº 62 en http://www.porguebiotecnologia.com.ar. Paralelamente sería interesante que averigüen y trabajen si existe alguna diferencia con las medidas de control y las regulaciones referidas a otros tipos de alimentos considerados "convencionales" (por ejemplo, verduras tradicionales o las orgánicas). Más allá del aspecto normativo, el Cuaderno introduce técnicas precisas y, en algunos casos, complejas del trabajo con ADN y proteínas. Para comprender las técnicas explicadas en este Cuaderno se requiere que los alumnos tengan presente la estructura del ADN y su función, así como el proceso de síntesis de proteínas (el Cuaderno nº 3 http://www.porguebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec\_03.asp?cuaderno=3 puede servir como material de estudio). A su vez, se sugiere trabajar en conjunto con docentes de química y de física aspectos referidos a las propiedades de las moléculas y los mecanismos en los que se basan las diferentes técnicas (por ejemplo, la electroforesis, el marcado radiactivo, la fluorescencia, el empleo de luz UV, etc.). Más allá de las técnicas científicas involucradas, es importante que los alumnos puedan comprender que ellos, como consumidores, pueden y deberían involucrarse exigiendo información y haciendo los reclamos correspondientes. De esta forma, se busca formar a los alumnos como ciudadanos y consumidores responsables e informados.

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



# **ACTIVIDADES**

# Actividad 1. Repaso de técnicas aplicadas en trazabilidad

En esta actividad se propone identificar técnicas moleculares aplicadas en trazabilidad alimentaria en función de características expuestas en el presente documento. Para hacerlo deberán unir mediante una flecha el método (en la primera columna) con la explicación correspondiente en la segunda columna:

# MÉTODOS A. Southern Blot. B. Tiras de detección de Flujo Lateral (LFS). C. PCR. D. ELISA. E. Microarrays.

# CARACTERÍSTICAS DE LOS DISTINTOS MÉTODOS

- Se trata de una técnica de detección rápida, en la que las muestras son preparadas de manera muy simple para su análisis. Resulta de gran utilidad para ensayos a campo. Implica el uso de anticuerpos.
- 2. Esta técnica permite confirmar resultados obtenidos por otras técnicas, como por ejemplo la PCR. Además, provee información respecto al número de copias de un transgen que fueron introducidas en un cultivo.
- 3. Es una metodología que resulta sumamente promisoria para la detección de varias modificaciones genéticas al mismo tiempo. Permite cuantificar la presencia de una transformación genética.
- 4. Es un método menos sensible y más barato que los de detección de ADN. Se trata de un ensayo relativamente rápido, mediante el cual es posible identificar una proteína por el reconocimiento especifico de anticuerpos.
- 5. Es un método de detección sumamente sensible. Resulta aplicable en muestras de alimentos que hayan sido expuestos a procesamientos y cuyas proteínas se encuentren desnaturalizadas.

<u>Respuestas Actividad 1</u> A - 2; B - 1; C - 5; D - 4; E - 3

#### Actividad 2

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Completar el crucigrama a partir de las definiciones que se presentan. Luego, definir el término que figura en la columna sombreada.

		Т							
		R	J	J		ц			
		Α						•	
		Z							
_		Α							
		В							
-		1							
		L							•
		1							
		D						=	
		Α							
	<u>-</u>	D			-	-	_		

#### Definiciones:

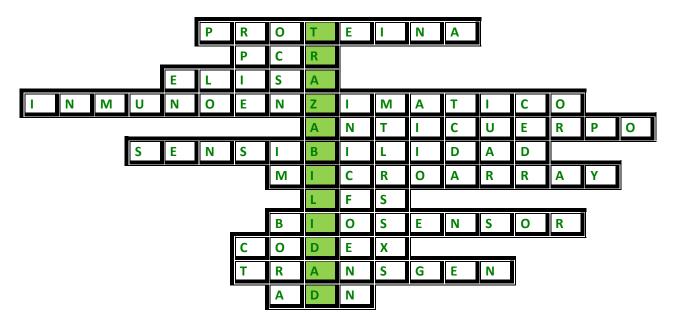
- 1. Polímeros biológicos formados por aminoácidos, cuya secuencia esta determinada por el ADN. La técnica de ELISA es informativa si estas biomoléculas en cuestión no fueron degradadas.
- 2. Técnica molecular mediante la cual es posible amplificar un fragmento de ADN de interés, es de alta sensibilidad y simpleza. Útil para definir si un alimento es derivado de OGMs o no. Aplicable en muestras de alimentos que han sido procesadas.
- 3. Método inmuno-enzimático muy difundido para la detección de proteínas recombinantes. Hay variantes solubles o sobre una superficie sólida. Suele ser la técnica de elección cuando se trata de analizar muestras de material fresco para detectar OGM.
- 4. Método basado en la aplicación de anticuerpos en el reconocimiento específico de proteínas. Las tiras de flujo lateral y los ELISA son técnicas basadas en este principio.
- 5. Proteína con función inmunológica, capaz de reconocer antígenos/proteínas específicamente. Se utilizan como herramientas de algunas técnicas para detectar proteínas recombinantes derivadas de transgénicos.
- 6. Característica de algunas técnicas moleculares. Hace referencia a la capacidad de la técnica de detectar biomoléculas aún cuando se encuentren muy poco representados en la muestra. La PCR tiene por ventaja esta característica.
- 7. Arreglos de secuencias de ADN ampliamente utilizados para detectar la presencia o expresión de genes/secuencias de ADN. Permite monitorear muchas secuencias al mismo tiempo.

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



- 8. Siglas en ingles que hace referencia a la técnica de Tiras de detección de Flujo Lateral.
- 9. Equipo compacto en el que se combina un componente de naturaleza biológica (como el ADN) y otro físico-químico (electricidad). Puede utilizarse para identificar alimentos derivados de OGM.
- 10. Comisión creada por dos organizaciones de las Naciones Unidas. Comprende una serie de normas generales y específicas relativas a la seguridad alimentaria.
- 11. Secuencia de ADN introducido por ingeniería genética en el genoma de un organismo y a partir del cual, en general, se expresa una proteína recombinante.
- 12. Polímero biológico en el que esta contenido la información genética de un organismo. Tiene estructura de doble hélice. Un organismo transgénico se genera por la modificación de esta macromolécula celular.

# Respuesta Actividad 2:



# Actividad 3. Revisión de conceptos teóricos

Indicar si cada una de las siguientes afirmaciones es Verdadera o Falsa y justificar las falsas.

- a) El término *trazabilidad* se aplica sólo al producto alimentario sin hacer referencia a la materia prima de la que proviene.
- b) Una de las cuestiones que define si es mejor utilizar técnicas basadas en la detección de ADN o proteínas en trazabilidad alimentaria, es el grado de

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



- procesamiento de la muestra a estudiar. A medida que la materia prima esta más elaborada es mejor inclinarse por técnicas que detecten secuencias de ADN, dado que las proteínas son más lábiles.
- c) En la mayoría de los casos, la identificación de los componentes de OGMs, plantas, animales, bacterias, con fines alimentarios puede llevarse a cabo por medio de la observación de características exteriores, es decir, mediante análisis fenotípicos.

# Respuestas Actividad 3

- a) **Falso**. El término trazabilidad se aplica tanto al producto alimentario final, como a la materia prima de la que proviene, incluyendo a todas las etapas intermedias del proceso.
- b) Verdadero.
- c) Falso. En algunos pocos casos puede establecerse visualmente si un cultivo es transgénico o no por su comportamiento a campo, rendimiento, protección contra insectos, tolerancia a herbicidas, sin embargo esta no es una herramienta univoca. Ahora, cuando la materia prima ha sido procesada se hace imposible detectar si esta proviene de un organismo transgénico, hecho que sí puede confirmarse haciendo uso de técnicas moleculares capaces de detectar la modificación genética o la proteína recombinante en la muestra.

# MATERIAL DE CONSULTA

- "Algunos aspectos sobre la bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados con especial énfasis en el análisis del cuarto objetivo del proyecto GEF-World Bank". Esperanza Torres Rojas. Bogotá. 2003
- 2. Alimentos y Tecnología de modificación genética. Salud y seguridad en el consumidor. ILSI (International Life Sciences Institute. ILSI Europe Concise Monograph Series. En español. Este documento puede encontrarse en: http://www.argenbio.org/index.php?action=biblioteca&opt=8
- 3. Aplicaciones de la Biotecnología en Seguridad Alimentaria. GENOMA ESPAÑA/CITB-FGUAM. En español. Este documento puede encontrarse en http://www.argenbio.org/index.php?action=biblioteca&opt=8
- 4. **Detección de OGM en la cadena alimentaria**. Tozzini, Alejandro. Biotecnología y mejoramiento Vegetal. Parte IX: Bioseguridad y Regulación de Organismos Vegetales Genéticamente Modificados (OVGM). Capitulo 4. Ediciones Instituto

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



- Nacional de Tecnología Agropecuaria. Editores: Dra. Viviana Echenique, Dra. Clara Rubinstein, Ing. Agr. Luis Mroginski
- 5. **Detection of genetically modified organisms in food.** Ahmed, Farid. E. (2002). Trends in Biotechnology. Vol 20. No 5. May 215-223
- 6. Informe ISAAA 2008 Situación global de los cultivos transgénicos. Resumen ejecutivo <a href="http://argenbio.org/isaaa2008/Resumen\_Ejecutivo\_ISAAA\_2008.pdf">http://argenbio.org/isaaa2008/Resumen\_Ejecutivo\_ISAAA\_2008.pdf</a>:
- 7. **Tecnologías Moleculares de Trazabilidad Alimentaria**, Informe de Vigilancia Tecnológica. GENOMA ESPAÑA/CITB-FGUAM. En español. Este documento puede encontrarse en http://www.gen-es.org/02\_cono/02\_cono.cfm?pag=0310

<sup>&</sup>quot;El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.