

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO – TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Katarina Buković

Genetički modificirani organizmi i hrana

završni rad

Osijek, 2016.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

Nastavni predmet
Znanost o prehrani

Genetički modificirani organizmi i hrana
Završni rad

Mentor: prof. dr. sc. Daniela Čačić Kenjerić

Studentica: Katarina Buković

MB: 3579/12

Mentor: prof. dr. sc. Daniela Čačić Kenjerić

Predano (datum):

Pregledano (datum):

Ocjena:

Potpis mentora:

Genetski modificirani organizmi i hrana

Sažetak:

Od kako uzgaja biljke čovjek je primjenjivao različite metode za promjenu genetskog materijala. Organizmi čiji je genetički materijal promijenjen nazivaju se genetički modificirani organizmi (GMO), a dobiveni su uz pomoć korištenja tehnike genetičkog inženjeringa. Biotehnologija predstavlja sinonim za genetske modifikacije. Dijeli se na tradicionalnu i modernu biotehnologiju, a između njih postoje jasne razlike. Biotehnologija je našla primjenu u proizvodnji GM žitarica, animalnoj proizvodnji i mikrobiologiji. Najviše se uzgajaju pšenica, kukuruz, riža, rajčica i soja. Takve biljke imaju brojne prednosti nad konvencionalnim sortama: poboljšana im je kvaliteta, manja je upotreba pesticida, namirnice su kvalitetnije i zdravije, prinos i količina hrane se povećava i veća je ekonomska dobit. Usprkos mnogobrojnoj koristi GMO donose i određene opasnosti. Mogu negativno utjecati na zdravlje ljudi i okoliš. Postoji mogućnost od pojave alergijskih reakcija, toksičnosti, izumiranja nekih vrsta, smanjenja biološke raznolikosti i prijenosa gena.

Ključne riječi: Genetički modificiran organizam (GMO), biotehnologija, genetičko inženjerstvo, komparativna procjena sigurnosti (CSA)

Genetically modified organisms and food

Summary:

Since man cultivated plants he applied various methods to change the genetic material. Organisms whose genetic material has been altered are called genetically modified organisms (GMOs), and were obtained through the use of techniques of genetic engineering. Biotechnology is a synonym for genetic modifications. It is divided into traditional and modern biotechnology, and between them there are clear differences. Biotechnology found use in the production of GM crops, animal production and microbiology. Most grown are wheat, corn, rice, tomatoes and soybeans. Such plants have numerous advantages over conventional varieties: improvement in quality, less use of pesticide, foods are better and healthier, yield and quantity of food increases and economic gains are greater. Despite numerous benefits GMO brings certain dangers. They could adversely affect human health and the environment. There is possibility of allergy reactions, toxicity, extinction of some species, loss of biodiversity and gene transfer.

Keywords: Genetically modified organism (GMO), biotechnology, genetic engineering, Comparative Safety Assessment (CSA)

Sadržaj

1. UVOD	1
2. GLAVNI DIO	3
2.1. ŠTO JE GMO?.....	4
2.2. BIOTEHNOLOGIJA.....	6
2.2.1. Tradicionalna biotehnologija	6
2.2.2. Moderna biotehnologija	7
2.2.3. Razlike između tradicionalne i moderne biotehnologije	7
2.3. TEHNIKE GENETSKOG INŽENJERINGA.....	9
2.3.1. Detekcija genetički preinačenih organizama u hrani	13
2.4. POVIJEST GMO-a.....	16
2.4.1. Povijest GMO-a u Hrvatskoj	18
2.5. ZAKONSKA REGULATIVA	20
2.5.1. Codex Alimentarius.....	21
2.5.2. Kartagenski protokol	21
2.6. ZDRAVSTVENA ISPRAVNOST	23
1.5.1. Dobrobiti za čovjeka	24
1.5.2. Opasnost za čovjeka	24
2.5.2.1. Alergogenost.....	25
2.5.2.2. Toksičnost.....	25
2.5.2.3. Prijenos gena	26
2.5.2.4. Otpornost na antibiotike	26
2.5.3. Opasnosti za okoliš.....	26
2.7. PRIMJERI	28
2.7.1. Zlatna riža	30
2.7.2. Rajčica.....	31
3. ZAKLJUČAK	32
4. LITERATURA	34

1. UVOD

Posljednjih nekoliko godina provode se različita istraživanja kojima se dolazi do brojnih otkrića. Novim tehnologijama provode se genetičke manipulacije. Genetičkim manipulacijama nastaju genetički modificirani organizmi (GMO). Najveću primjenu GMO našli su u poljoprivrednoj proizvodnji i medicini. GMO su sastojci genetički modificirane hrane (GM hrana). Pojava GM hrane u lancu prehrane rezultirala je brojnim dilemama, te je porasla zabrinutost za sigurnost i zdravlje potrošača (Fedoroff, 2010).

Obzirom da ima brojne dobrobiti ova tehnologija će se sve više istraživati, razvijati i koristiti. GM biljke su neizbježna budućnost. Unatoč svim prednostima koje donosi, uslijed nesigurnosti za zdravlje ljudi i okoliš GMO treba uvoditi postupno i polako (Fedoroff, 2010).

Genetski modificirani organizmi (GMO) su biološke jedinice (biljke, životinje i mikroorganizmi) koje su dobivene genetskom modifikacijom unošenjem gena stranih, različitih i nesrodnih vrsta organizama. Genetski modificirana hrana (GM hrana) sadrži sastojke koji su dobiveni primjenom genetičkog inženjerstva (Čorić, 2003).

U okviru ovog rada opisani su genetski modificirani organizmi, njihova povijest i proizvodnja, te su dati neki najčešći primjeri. Također je dat prikaz svrhe proizvodnje GMO-a i GM hrane, njihov pozitivan i negativan učinak na ljude i okoliš.

2. GLAVNI DIO

2.1. ŠTO JE GMO?

Već tisućama godina čovjek uzgaja biljke. Tijekom tog vremena miješa se u odabir biljaka u svrhu povećanja prinosa i kakvoće. To je dovelo do puno brže proizvodnje novih sorata nego što se događa prirodnim odabirom (Divjak i Havranek, 2000).

Genetički modificirani organizam (GMO) je organizam čiji je genetički materijal promijenjen uz pomoć korištenja tehnika genetičkog inženjerstva. Genetičko inženjerstvo obuhvaća cijeli niz laboratorijskih tehnika kojima je moguće pronaći određeni gen, izdvojiti ga iz genetičkog materijala i ugraditi natrag u genetički materijal iste ili neke druge vrste. Genetičko inženjerstvo se također naziva i „tehnologija rekombinantne DNA“, „tehnologija gena“ ili „moderna biotehnologija“. Služi za dobivanje GM biljaka, životinja i mikroorganizama s određenom svrhom. Proizvodi genetičkog inženjerstva imaju najveću primjenu u poljoprivednoj proizvodnji. GM usjeve karakterizira otpornost na štetne kukce, otpornost na viruse i tolerantnost na herbicide (UNEP-GEF NBF projekt, 2004).

Sukladno Zakonu o genetski modificiranim organizmima, GMO je organizam, uz iznimku ljudskih bića, u kojem je genetski materijal izmjenjen na način koji se ne pojavljuje prirodnim putem parenja i/ili prirodnom rekombinacijom (HS, 2005; HS, 2009).

Genetskim izmjenama razvijeni su brojni novi proizvodi specifičnih karakteristika. Otpornost na štetne kukce postignuta je inkorporacijom gena za sintezu toksina iz bakterije *Bacillus thuringiensis* (Bt) u biljku. Taj se toksin koristi kao insekticid u ekološkoj proizvodnji jer je neškodljiv za čovjeka. GM biljke koje proizvode ovaj toksin trebaju manje količine insekticida (Alagić i sur., 2005).

Otpornost na viruse postignuta je uvođenjem gena određenih vrsta virusa uzročnika bolesti biljaka. To ih čini manje osjetljivima na bolesti koje takvi virusi uzrokuju i dolazi do većeg prinosa usjeva (Alagić i sur., 2005).

Tolerantnost na herbicide postignuta je ugradnjom gena čiji produkti inaktiviraju određene herbicide, što rezultira smanjenjem količine pesticida (Alagić i sur., 2005).

U današnje vrijeme genetska modifikacija životinja doživljava najbrži napredak i opsežna istraživanja. GM životinje se koriste u različite svrhe. Upravo ovaj oblik GM organizama izaziva najžešću polemiku s aspekta sigurnosti hrane i zaštite zdravlja potrošača. Genetski

modificirani mikroorganizmi (GMM) imaju široku primjenu u području medicine, genetike i farmaceutike. Također se uključuju u lanac prehrane i imaju utjecaj na zdravlje ljudi. GMM u proizvodnji hrane i stočne hrane koriste se za proizvodnju finalnih proizvoda i ingredijenata koji sadrže žive ili inaktivirane GMM-e i za proizvodnju hrane putem fermentacije od strane GMM-a (Alagić i sur., 2005).

Broj ljudi na planeti Zemlji konstantno raste, a obradive površine su ograničene. Zbog neravnomjernog rasporeda u proizvodnji hrane i broju stanovnika velik broj ljudi gladije. Danas u svijetu gladije oko 800 milijuna ljudi. Da bi se proizvelo dovoljno hrane za sve provode se različita istraživanja među kojima najznačajniju ulogu ima biotehnologija (Mandić, 2007).

2.2. BIOTEHNOLOGIJA

Danas biotehnologiju definiramo kao inter- i multidisciplinarnu znanstvenu granu koja se temelji na uporabi živih organizama (mikroorganizama, životinjskih i biljnih stanica) ili njihovih produkata (enzima) (Capak, 2004; Čorić, 2003). Veliku primjenu ima u farmaceutskoj, kemijskoj i prehrambenoj industriji te medicini (Čorić, 2003).

Biotehnologija se može podijeliti na tradicionalnu i modernu biotehnologiju (Čorić, 2003). Obje podrazumijevaju manipulaciju genima s ciljem promjene svojstava živih organizama no metodologija kojom se pri tome koriste kao i kombinacije genetskog materijala koje se križaju s ciljem dobivanja novih vrsta uvelike se razlikuju.

2.2.1. Tradicionalna biotehnologija

Tradicionalnim biotehnoškim metodama već se stoljećima nastoji unaprijediti karaktersitike biljaka i životinja (Capak, 2004).

Tradicionalna biotehnologija obuhvaća:

- implementaciju različitih mikroorganizama za fermentaciju i proizvodnju različitih spojeva (npr. u proizvodnji vina, piva, vitamina, antibiotika...)
- konvencionalnu metodu oplemenjivanja (Čorić, 2003)

Križanjem odnosno umjetnim oprašivanjem ili umjetnim osjemenjivanjem nastoje se usavršiti osobine biljaka i životinja. Također se žele povećati prinosi pritom poštujući prirodne granice među vrstama. Križaju se različite sorte iste vrste biljke ili različite pasmine iste vrste životinje. Ova tehnika se naziva još i vertikalni prijenos gena kod kojeg se geni prenose s roditelja na potomstvo unutar individua iste vrste. Bez pomoći čovjeka u prirodi se svakodnevno događa vertikalni prijenos gena i čini osnovu spolnog razmnožavanja, preživljavanja i evolucije živih bića (Čorić, 2003).

2.2.2. Moderna biotehnologija

Moderna biotehnologija podrazumijeva primjenu različitih molekularno-bioloških tehnika u proizvodnji biljnih vrsta te modifikaciji životinjskih vrsta i mikroorganizama (Alagić i sur. 2005).

Geni su nositelji nasljednih osobina svakog živog bića i prenose se s roditelja na potomstvo. U prirodi ne može doći do međusobnog križanja različitih vrsta živih bića. Genetičari prenose gene iz jedne vrste živog bića u staničnu jezgru ili DNA (deoksiribonukleinsku kiselinu) različite i nesrodne vrste. Takav prijenos gena se naziva horizontalan prijenos gena i u prirodi nije moguć bez uplitanja čovjeka. Horizontalnim prijenosom gena nastaju genetski izmijenjeni («genetically modified organisms», GMO) ili transgeni organizmi. Moguće je genetski modificirati biljke s genima koji su uzeti iz virusa, životinja, bakterija ili čovjeka. Moderna biotehnologija se naziva još i genetski inženjering (Čorić, 2003).

2.2.3. Razlike između tradicionalne i moderne biotehnologije

I tradicionalnoj i u modernoj biotehnologiji manipulira se genima u svrhu promjene svojstava živog bića. Neki genetičari tvrde da je moderna biotehnologija samo proširenje tradicionalnog uzgoja. Ipak, postoje jasne razlike između ta dva pristupa (**Tablica 1**).

Tablica 1 Razlika između tradicijske biotehnologije i genetičkog inženjerstva (Mandić, 2007)

Tradicijska biotehnologija	Genetičko inženjerstvo
Međusobno se mogu križati samo organizmi iste ili vrlo srodnih vrsta. Na taj se način održavaju i organizmi u prirodi.	Može se kombinirati DNK iz organizma različitih vrsta. Tako može biti stvoren „novi organizam“, jer posjeduje osobine koje se normalno ne mogu naći unutar te vrste ili u prirodi.
Raznolikost osobina koje se mogu križati ograničena je obujmom onih koji prirodno postoje unutar vrste.	Raznolikost osobina koje se mogu križati je gotovo neograničena.
Proces zahtijeva mnogo generacija (godina) selektivnog križanja da bi se dobio željeni rezultat.	Ta metoda za uvođenje neke osobine u određenu vrstu omogućuje brži željeni rezultat.

Dok je prijenos gena u tradicionalnoj biotehnologiji vertikalna (s generacije na generaciju) u modernoj biotehnologiji (genetičkom inženjerstvu) on je u pravilu horizontalan.

2.3. TEHNIKE GENETSKOG INŽENJERINGA

Deoksiribonukleinska kiselina (DNK) je polimer nukleotida. Ima oblik dvostruke spiralne zavojnice, te je izgrađena od šećera deoksiriboze, fosforne kiseline i dušičnih baza (adenin- A, gvanin- G, timin- T, citozin- C). Nalazi se u jezgri stanice i upakirana je u kromosome. Kromosomi su štapičaste tvorevine vidljive tek u staničnoj diobi. DNA je osnovna molekula nasljeđivanja. Redoslijed baza u DNA određuje redoslijed aminokiselina u strukturi bjelančevina i njenu funkciju u organizmu. Gen je kraći dio molekule DNA i sadrži upute za sintezu bjelančevina i RNK (ribonukleinska kiselina). Čovjek ima oko 100.000 gena. Dva lanca DNA su komplementarna i antiparalelna. Komplementarne baze su adenin-timin i gvanin-citozin (**Slika 1**). Zbog svoje komplementarnosti gen (DNA) se može umnožiti, rekombinirati ili mutirati (Čorić, 2003).



Slika 1 Prikaz molekule DNA i komplementarnih baza (Kabir, 2011)

Spolnom reprodukcijom u prirodi nastaju novi organizmi koji poprimaju svojstva oba roditelja. Svojstva su specifična za svaku vrstu. Svaka vrsta ima specifičnu DNA i sadrži

mehanizme za deaktivaciju ili izbacivanje strane DNA čime je onemogućeno stapanje različitih vrsta. Znanstvenici su 70-tih godina 20. st. otkrili da je nasljedna osnova DNA svih živih bića građena od istih kemijskih spojeva, te su vjerovali da će stanice živih bića prokariota i eukariota dešifrirati informacije koje su pohranjene u nekom tuđem genu. Uspjeli su prekoračiti prirodne barijere vrste (Čorić, 2003).

Upotrebom tehnike rekombinantne DNA genetičari pronalaze željena svojstva u nekoj nesrodnoj vrsti i prenose ga u novu vrstu. Vrpce DNA se kidaju na različitim mjestima pomoću bakterijskih enzima (restriksijske endonukleaze). Restriksijske endonukleaze dobijemo izolacijom iz bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus amyloliquefaciens*. Elektroforezom se odjeljuju dobiveni fragmenti DNA. Nakon toga izolirani geni se vežu za cirkulacijsku DNA bakterija ili virusa pomoću enzima DNA ligaze. Nastali plazmidi ili virusi se unose u stanice bakterije koje se jako brzo razmnožavaju pa u kratkom vremenu se dobije tisuće klonova novog gena (Čorić, 2003).

Biljke se lako mogu kultivirati u hranjivoj podlozi u laboratoriju i regenerirati iz jedne stanice, zbog toga se genetski inženjering više koristi za modifikaciju biljaka nego životinja. Biljke posjeduju svojstvo onipotentnosti i u posebnim uvjetima kultiviranja regenerirati će čitavu biljku, te će svaka stanica imati konstrukt s genom za željeni svojstvo. Konstrukt (sastavljen od gena markera, gena za željeno svojstvo, promotorske i terminacijske sekvence) se najčešće ubacuje u biljnu stanicu na dva načina:

- tehnologija rekombinantne DNA uz uporabu plazmida ili virusa kao vektora
- mikroinjekciranjem, makroinjekciranjem i mikroinkapsulacijom se genetički materijal pripremljen *in vitro* izravno ubaci u živi organizam (Želježić, 2004).

Postoje dva tipa metoda za umetanje novog gena u DNA domaćina koji će se modificirati: fizičke i biološke metode (Čorić, 2003).

Fizičke metode su Shot gun tehnika, elektroporacija, kemoporacija i mikroinjektiranje.

Shot gun tehnika uvedena je 1987. godine, a naziva se još i tehnika sačmarice ili biolistička transformacija. Koristi se za modifikaciju svih biljaka, plijesni, algi, bakterija i životinja. Ova metoda je najčešće korištena i najjednostavnija je izravna tehnika za dobivanje GM biljaka. Specijalnim napravama geni se nanose na mikročestice metala (zlata i srebra), te se upucavaju u sloj stanica primaoca. Povećava se brzina i zrna prodiru u stanicu bez ozbiljnijih

oštećenja. Kroz jezgru stanice prolaze kuglice s nanesenim genima. Ponekad se uneseni geni ugrade u DNA stanice domaćina (Čorić, 2003).

Elektroporacija je molekulsobiološka tehnika u kojoj se kratkotrajna visokonaponska struja propušta kroz suspenziju fragmenata DNA i stanica domaćina. Membrana se privremeno ošteti (Čorić, 2003).

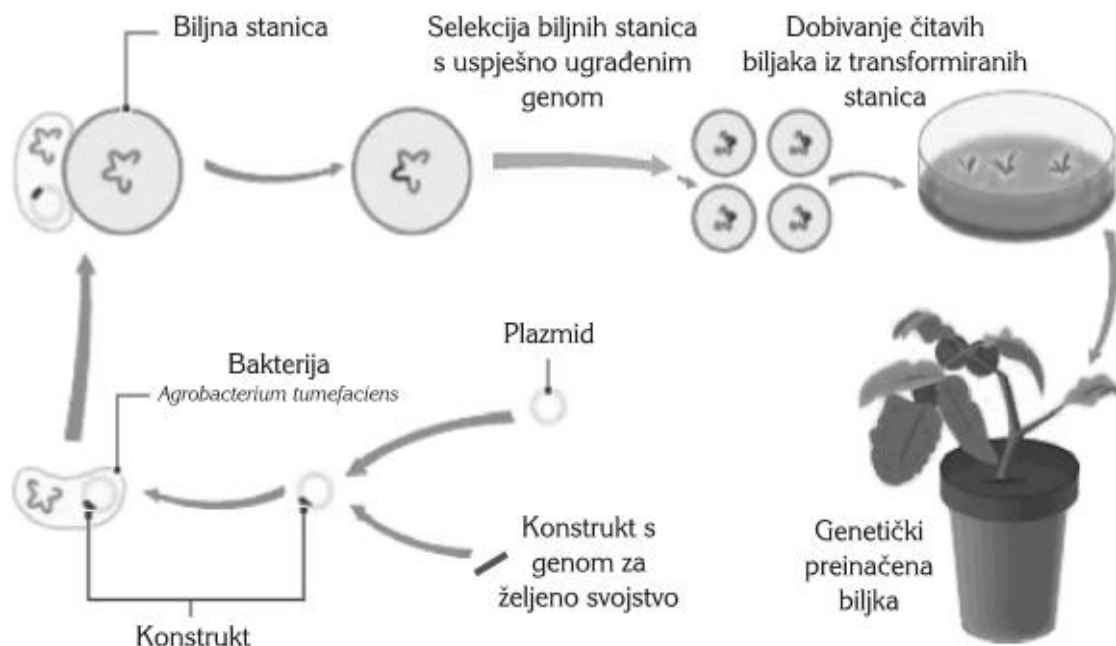
Kod kemoporacije zagrijavanjem (40 sek/40 °C) otopine kalcijevog klorida u kojoj se nalazi kultura stanica domaćina i fragmenti DNA povećava se propusnost stanične membrane, te je omogućen prijelaz stranih gena u stanice domaćina. Procesom osmoze se također može omogućiti prijelaz stranih gena u stanice domaćina, ali samo ako se fragmenti DNA i kultura stanica domaćina nalaze u otopini polietilen glikola (Čorić, 2003).

Mikroinjektiranje je metoda koja se primjenjuje za genetsku modifikaciju životinja, čovjeka i riba. Zigota je stanica koja nastaje oplodnjom. Novi gen se injektira u zigotu. U nekim slučajevima gen ulazi u kromosom, te se ugradi u genom životinje. Da se razvije genetski modificirana životinja potrebno je u surogat majku unijeti modificiranu zigotu (Čorić, 2003).

1990. godine uvedene su **biološke metode** prijenosa stranog gena. Pomoću bakterijskih (plazmida i rasponzona) ili virusnih vektora (retrovirusa, bakteriofaga i bacilovirusa) izazove se transfekcija, te se odvija prijenos gena u stanice domaćina. Mikroorganizmi inficiraju stanice domaćina, a gen koji je bio unesen u genom tog mikroorganizma se prenese u DNA stanice domaćina (Čorić, 2003).

Binarni plazmid se danas upotrebljava kao vektor. Ima dva ishodišta replikacije od kojih je jedno aktivno u bakteriji *Escherichia coli*, a drugo u bakteriji *Agrobacterium tumefaciens* (Želježić, 2004).

Agrobacterium tumefaciens je bakterija tla koja se najviše koristi kao biološki vektor u poljoprivrednoj biotehnologiji. Sadrži plazmide koji nose gene za prenošenje transfer-DNA (T-DNA). Transfer-DNA regija se izvorno nalazi na plazmidu T i (eng. tumor inducing). T-DNA se ugrađuje u genom biljke i dovodi do stvaranja tumora. Gen za sintezu opina se izreže, uvodi se novi gen čime se T i plazmid modificira (Čorić, 2003). Shematski prikaz dobivanja genetički preinačenih biljaka pomoću plazmida bakterije *Agrobacterium tumefaciens* je prikazan na **slici 2** (Želježić, 2004).



Slika 2 Prikaz dobivanja genetički preinačenih biljaka unošenjem gena u biljne stanice pomoću sustava plazmida bakterijom *Agrobacterium tumefaciens* (Želježić, 2004)

Virusi se također upotrebljavaju kao biološki vektori. Kod infekcije stanica virusna DNA prodire u jezgru i ugradi se u genom domaćina. Virusna DNA uzrokuje isključenje mehanizma za regulaciju stanica što dovodi to umnažanja nukleinske kiseline virusa. Virus se modificira tako što omogućava prijenos željenog gena u DNA primatelja. Pritom se insertiraju i neki virusni geni (Čorić, 2003).

Nekoliko različitih gena se nalazi u genetskom materijalu koji se uvodi u stanice domaćina:

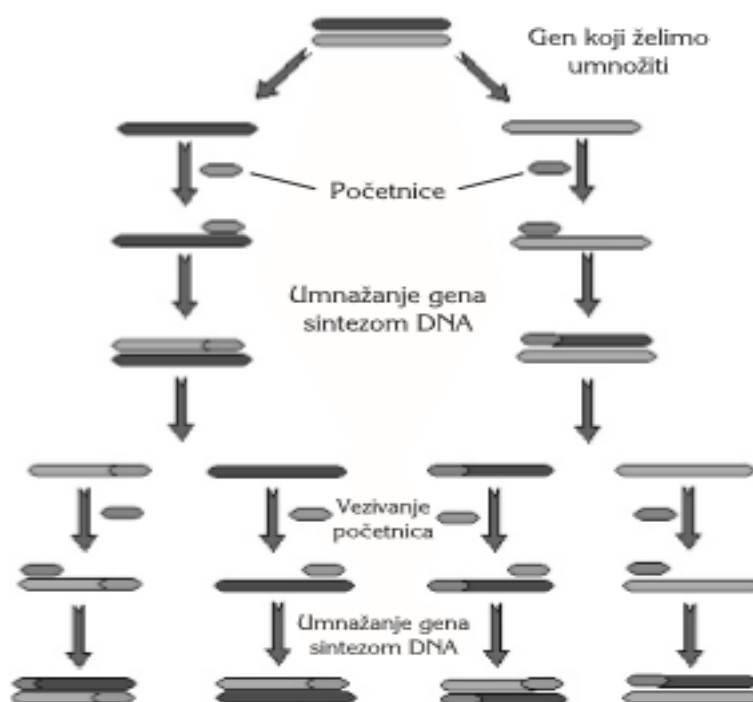
- kodirani gen za novo „povoljno“ svojstvo koje se želi prenijeti (otpornost na sušu, insekte i virusna oboljenja),
- gen promotor koji daje početni signal stanicama za stvaranje specifičnih proteina,
- gen marker se pričvrsti prije nego se gen prenese da bi se mogla izvršiti selekcija transformiranih stanica od onih kojie to nisu (netransformirane stanice),
- terminator gen koji je signal stanicama da nakon određenog vremenskog intervala zaustave informacije vezane za strani gen (Čorić, 2003).

2.3.1. Detekcija genetički preinačenih organizama u hrani

Detekcija genetički preinačenih organizama provodi se utvrđivanjem prisutnosti proteina i DNA koji su nastali kao rezultat genetičke modifikacije. Samo su referentni i nacionalni laboratoriji u europskoj mreži GMO (akreditirani prema EN ISO/IEC 17025/2000) ovlašteni za detekciju i kvantifikaciju GMO u hrani. Kada se utvrđuje prisutnost DNA koja je umetnuta u biljku tada se testovi zasnivaju na lančanoj reakciji polimerazom (tehnika PCR), a kada se utvrđuje prisutnost proteina za čiju je sintezu odgovoran umetnuti gen testovi se zasnivaju na imunološkoj reakciji (ELISA) (Želježić, 2004).

Tehnika lančane reakcije polimerazom je najprihvaćenija tehnika za detekciju GMO-a. PCR je vrlo osjetljiva tehnika, a za detekciju su potrebne male količine uzorka. Ako postoje početnice (sintetski oligonukleotidi) koje su komplementarne s početnim i završnim slijedom baza tada se ovom tehnikom mogu višestruko umnožiti specifične sekvence. Potrebno je znati koje je sljedove DNA sadržavao konstrukt koji je ubačen u biljnu stanicu. U uzorku DNA se utvrđuje prisutnost regulatornih sekvenci koje su bitne za njihovu aktivnost u novoj biljci. Početnice komplementarne s 35S promotorom mozaičnog virusa cvijetače i terminatorom nos iz bakterije *Agrobacterium tumefaciens* se najčešće rabe. Ako su prisutne te regije u testiranom uzorku hrana sadrži GMO. Tehnikom PCR umnažanje DNA se događa u cikličkim ponavljanjima triju različitih molekularno-bioloških procesa, te se postižu tri različite temperature. Ciklus od sva tri koraka se ponavlja oko 50 puta. Pri 94 °C događa se denaturacija DNA izolirane iz hrane, pri 50-60 °C klica s komplementarnim sljedovima se veže na sekvencu u uzorku DNA, a pri 72 °C sintetizira se DNA produljivanjem vezanih početnica enzimskom aktivnošću polimeraze Taq (*Thermus aquaticus*). Umnožene sekvence se prenose na agarozni gel i unose se u električno polje. U električno polje unosi se i negativna (uzorak DNA koji ne sadržava traženi gen) i pozitivna (umnoženi standardni gen) kontrola. Molekula DNA putuje kroz gel djelovanjem polja, a duljina puta ovisi o veličini umnožene sekvence. Na osnovi duljine prijeđenog puta, te prenošenjem umnoženog fragmenta s gela na membranu i hibridizacijom sa standardnom sondom obilježenom florescentnom bojom moguće je utvrditi identitet umnoženog fragmenta. Shematski prikaz umnažanja gena lančanom reakcijom polimeraze (PCR) prikazan je na **sluci 3**. Tehnikom kompetitivnog PCR-a moguće je odrediti količinu ostataka GMO-a u hrani. Kod ove tehnike se u isto vrijeme umnažaju nepoznate količine sekvence u uzorku DNA i standardi poznate koncentracije u istoj

reakcijskoj smjesi uz korištenje istih početnica. Koncentracija standarda varira, a koncentracija DNA iz uzorka hrane je uvijek ista. Udio GMO u uzorku hrane se računa se iz koncentracije standarda u smjesi. Danas se najviše rabi tehnika PCR-a u realnom vremenu (eng. real time PCR). Ovom tehnikom je moguće pratiti intenzitet umnažanja gena tijekom svih ciklusa. Osim početnica dodaju se i sonde koje su specifične za gen koji želimo otkriti u uzorku. Na sondama se nalazi fluorescentna boja i dodatan spoj koji u blizini fluorokroma gasi njegovu fluorescenciju. Za gen koji detektiramo veže se sonda. Fluorokrom se oslobodi tako što se sonda pocijepa, a nastala fluorescencija se izmjeri spektrofotometrom. Tehnika PCR u realnom vremenu je veće specifičnosti od klasične metode (Želježić, 2004).



Slika 3. Shematski prikaz umnažanja gena lančanom reakcijom polimerazom (Želježić, 2004)

Imunološka tehnika se rabi u detekciji proteina i bazira se na imunskim reakcijama. Rabe se samo na svježim i neobrađenim uzorcima hrane jer tercijska i kvarterna struktura proteina treba biti očuvana. Detekcija se zasniva na visokospecifičnom vezanju antitijela za protein koji je kodiran od gena ubačenog u biljku. Prvo se iz uzorka izoliraju ukupni proteini i vežu na čvrstu fazu. Zatim se dodaju primarna antitijela, a nakon ispiranja nevezanih antitijela dodaju

se i sekundarna antitijela vezana s enzimom. Na primarno antitijelo veže se sekundarno antitijelo, dodaje se sustrat što rezultira promjenom obojenja. Pojava obojenja upućuje na prisutnost traženog proteina u hrani (Želježić, 2004).

2.4. POVIJEST GMO-a

Tijek otkrića značajnih za razvoj primjene genetičkog inženjerstva u proizvodnji hrane obuhvaća nekoliko prekretnica koje su kako slijedi:

- 1694 otkriće seksualnog razmnožavanja biljaka,
- 1719 prvi registrirani biljni hibrid (intraspecifična hibridizacija),
- 1799 prvi izvještaj o hibridu žitarica,
- 1866 Mendel je objavio svoj rad o križanju graška,
- 1876 interspecifično i intergeneričko križanje (križanje pšenice i riže),
- 1900 u SAD-u se počeo uzgajati hibridni kukuruz,
- 1909 izvještaj o fuziji protoplasta,
- 1927 mutacija rendgenskim zrakama,
- 1937 poliploidizacija,
- 1940-tih razvitak tehnike potomstva jednog sjemena,
- 1960-tih poboljšano spašavanje embrija,
- 1970 tehnologija rekombinacije DNK- početak moderne biotehnologije,
- 1970-tih tehnika dvostrukog haploida,
- 1983. godine proizvedena je prva biljka koja je bila genetički modificirana. Bio je to duhan otporan na antibiotike i upotrebljavao se samo u eksperimentalne svrhe.
- Desetak godina kasnije proizvedena je rajčica s odgodom gnjiljenja. Rajčica je bila prva genetički modificirana biljka namijenjena širokoj potrošnji.
- 1990. godine genetički su modificirane sorte žitarica i soje koje su bile otporne na kukce, viruse i herbicide (Divjak i Havranek, 2001).

„Zelena revolucija“ („The Green Revolution“) je tijekom 1960-tih i 1970-ih godina u proizvodnji žitarica utrostručila svjetsku opskrbu hranom zbog poboljšanih sorta usjeva i agrokemikalija (gnojivo, pesticidi). „Otac zelene revolucije“ je Norman Borlaug koji je spasio

milijardu ljudi od izgladnjivanja svojim razvojem sorti riže i pšenice prilagođenih podneblju, a kasnije se tijekom godina udjel gladnih na Zemlji smanjio sa polovine na šestinu populacije unatoč globalnom porastu broja ljudi (Fedoroff, 2010).

U samom početku neki znanstvenici su tražili moratorij na transgenička ispitivanja. Nakon toga je sljedilo razdoblje ispitivanja u zatvorenim uvjetima (laboratorij). Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) od 1992. godine odobrava male poljske pokuse s genetički modificiranim biljkama i mikroorganizmima (Mandić, 2007). Od 1993. godine kada je duhan proizveden kao prva GMO biljka slijedi tržišna proizvodnja. 1996. godine 1,7 milijuna hektara obradivih površina bilo je zasijano genetički modificiranim (GM) biljkama. Ta se površina do 1997. godine povećala na 11 milijuna hektara, a 1998. na 27,8 milijuna hektara. Zadnjih nekoliko godina konstantno se povećava broj hektara obradivih površina zasijanih genetički preinačenim biljkama. U 18 zemalja diljem svijeta 2003. godine više od 67 milijuna hektara bilo je zasijano transgeničkim kulturama. Najveći proizvođač je bio SAD koji je zasijao 20,5 milijuna hektara. Ostali veći proizvođači bili su Argentina, Kanada, Brazil, Kina, Južnoafrička Republika, Indija, Španjolska i Meksiko. Europske zemlje su se manje zauzimale za proizvodnju GM biljaka. Neke od GM biljaka koje se mogu pronaći na tržištu prikazane su u tablici 3. zajedno sa njihovim novoizraženim svojstvima. Takve biljke koje posjeduju ta svojstva nazivamo biljkama prve generacije (Želježić, 2004; Mandić, 2007).

Tablica 2 Neke od genetički preinačenih biljaka prve generacije i njihova novoizražena svojstva (Želježić, 2004)

Kultura	Svojstvo
Kukuruz	Otpornost na herbicide Otpornost na kukce
Krumpir	Otpornost na herbicide Otpornost na kukce
Pamuk	Otpornost na herbicide Otpornost na kukce
Pšenica	Otpornost na herbicide
Riža	Otpornost na kukce Produljeno vrijeme skladištenja
Soja	Otpornost na herbicide Otpornost na kukce
Šećerna repa	Otpornost na herbicide
Uljana repica	Otpornost na herbicide Otpornost na kukce

U početku, cilj proizvodnje genetski modificiranih usjeva bio je unaprijeđenje zaštite bilja (**Tablica 2**) s usmjerenjem na povećanje otpornosti prema insektima, otpornost prema virusnim oboljenjima te otpornost na herbicide. To je rezultiralo generalnim povećanjem prinosa odnosno proizvodnje hrane (Alagić i sur., 2005).

U narednom periodu genetski inženjering usmjeren je na proizvodnju nutritivno poboljšanih namirnica biljnog podrijetla, a danas najbrže napreduje grana genetskog inženjeringa koja se bavi modifikacijama kako suhozemnih tako i vodenih životinja (Alagić i sur., 2005).

2.4.1. Povijest GMO-a u Hrvatskoj

55,67 % ukupnog teritorija u Hrvatskoj zauzimaju poljoprivredne površine. Iako Hrvatska ima izvrsne uvjete za poljoprivrednu proizvodnju nije konkurentna u međunarodnoj proizvodnji konvencionalne i GM hrane. U Hrvatskoj su prve sjetve GM usjeva počele 1997. godine. U tom razdoblju nisu postojale nikakve zakonske odredbe i preporuke za GM hranu. 1999. godine Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva osniva Povjerenstvo za praćenje istraživanja i razvoja svojstava genetički preinačenih biljaka i Bioetičko povjerenstvo za praćenje genetički modificiranih organizama. Povjerenstva nastoje ograničiti genetsko zagađenje tako što preporučuju mjere biosigurnosti. Zbog sve većih negativnih iskustava Hrvatsku su posjetili američki i kanadski farmeri koji su održali predavanja „Farmer to farmer“, te su savjetovali da hrvatski proizvođači ne potpisuju ugovore s multinacionalnim kompanijama, kao i da bi se Hrvatska trebala jasnim zakonom zaštititi od sveopće kontaminacije genetički modificiranim organizmima (Mandić, 2007).

Hrvatska javnost je također sve više zabrinuta. Neki hrvatski filozofi i znanstvenici u rujnu 1998. godine pridružili su se upozorenjima na međunarodnom simpoziju «Dani Frane Petriša- Izazovi bioetike», te su uputili Apel za etičku i pravnu regulaciju primjene genetskog inženjeringa u proizvodnji i distribuciji hrane. Nevladina udruga „Zelena akcija“ provodi brojne javne proteste, ali još uvijek u Hrvatskoj nije zabranjen uvoz GM hrane i nije pravno regulirana proizvodnja i promet GM prehrambenih proizvoda. Ministarstva zdravstva, poljoprivrede i šumarstva, zaštite okoliša i prostornog uređenja, znanosti i tehnologije u lipnju 2001. godine donose NACRT Prijedloga zakona o zabrani GMO i proizvoda.

Temeljem analitičkih podataka prikupljenih u istraživanju u periodu od 2004-2007 godine provedeno je testiranje hrane na prisutnost genetski modificiranih organizama. Testiranje se provodilo u GMO laboratoriju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo. Uzorci koji su imali više od 0,9 % GMO-sadržaja su odbijeni na granici i uklonjeni s tržišta zbog neadekvatnog označavanja. Od 1226 uzoraka u 2004. godini čak je 2,37 % sadržavalo više od 0,9 % GMO-a, u 2005. godini 0,20 % od 512, u 2006. godini 0,99 % od 404 uzorka, a u 2007. godini 1,07 % od ukupno 655 uzoraka. Autori su zaključili da je prisutnost GM hrane na tržištu u Hrvatskoj niska ali su istovremeno istaknuli i činjenicu da je njihova zastupljenost na tržištu zemalja u okruženju još manja (Cattunar i sur., 2011).

2.5. ZAKONSKA REGULATIVA

U Europskoj uniji proizvodnja i stavljanje u promet GM biljaka je regulirano dvjema smjernicama:

- Directive 90/220/EEC- odobravanje i stavljanje u promet
- Directive 90/219/EEC- ograničavanje uporabe.

Svaka zemlja članica provodi smjernice putem svoje nacionalne regulative (Divjak i Havranek, 2000).

Označavanje hrane koja sadrži GMOe i njihove derivate preporučuje se u slučajevima kada su novi prehrambeni proizvodi stvarno promjenjeni u odnosu na konvencionalne, a cilj takvog označavanja je davanje mogućnosti izbora potrošaču (Divjak i Havranek, 2001). Proizvodi sa sadržajem GMO-a višim od 0,9 % se označavaju u zemljama EU, a u SAD-u to nije obavezno. Japanska legislativa propisuje obvezno označavanje za proizvode koji sadrže više od 5 % GMO u ukupnoj namirnici (Catunar i sur., 2011).

Nacionalno zakonodavstvo Republike Hrvatske vezano uz GMO-e i GM hranu obuhvaćeno je s više zakonskih akata koji između ostalih uključuju:

- Zakon o hrani (HS, 2007; HS, 2011)
- Zakon o genetski modificiranim organizmima (HS, 2005; HS, 2009)
- Uredbu o prekograničnom prijenosu genetski modificiranih organizama (Vlada RH, 2010)
- Uredbu o razini genetski modificiranih organizama u proizvodima ispod koje proizvodi koji se stavljaju na tržište ne moraju biti označeni kao proizvodi koji sadrže genetski modificirane organizme (Vlada RH 2008; Vlada RH 2009; Vlada RH 2010a; Vlada RH 2011, Vlada RH, 2012)

Za proizvodnju, kontrolu i promet GM hrane na međunarodnoj razini postoje dva osnovna dokumenta : Codex Alimentarius i Cartagena Protocol on Biosafety.

Komercijalizacija i prodaja životinja dobivenih primjenom genetičkog inženjeringa još uvijek nije službeno dozvoljena nigdje u svijetu (Alagić i sur., 2005).

Dva osnovna dokumenta za regulaciju proizvodnje, kontrole i prometa hrane dobivene primjenom genetičkog inženjerstva su Codex Alimentarius i Kartagenski protokol (Alagić i sur., 2005).

2.5.1. Codex Alimentarius

Codex Alimentarius (lat. „knjiga zakona o hrani“) je zbirka međunarodno priznatih standarda vezanih za hranu objavljena 1963. godine. Standarde je razvila Komisija Codex Alimentarius koja je osnovana 1961. godine od strane FAO-a (Organizacija za poljoprivredu i hranu) i WHO-a (Svjetska zdravstvena organizacija). Ova zbirka pokriva sve namirnice, te osim standarda za određene namirnice sadrži i opće standarde za pitanja poput označavanja hrane, prehrambenih aditiva, pesticida, procjene rizika i postupaka za utvrđivanje sigurnosti hrane, higijene hrane, metoda analiza i uzorkovanja. Zajednički cilj svih aktivnosti koje Komisija Codex Alimentarius obavlja usmjerene su u pravcu zaštite potrošača te osiguravanje dobre prakse u proizvodnji i razmjeni hrane (CA, 2016).

Codex Alimentarius standardi prihvaćeni su i u Hrvatskoj, a poslove obavlja Hrvatski zavod za norme.

2.5.2. Kartagenski protokol

Konvencija o biološkoj raznolikosti (CBD) je međunarodni sporazum za zaštitu biološke raznolikosti. CBD je stupila na snagu 29. prosinca 1993. godine, a zemljama članicama osigurava pravednu i ravnomjernu raspodjelu dobrobiti, održivo korištenje prirodnih dobara i cjelovit pristup u očuvanju biološke raznolikosti. Konvencija omogućuje pristup i prijenos tehnologija, te traži razvoj procedura koje će pojačati sigurnost korištenja biotehnologije. Unutar Konvencije 1995. godine formirana je radna skupina koja je napravila nacrt Protokola o biološkoj sigurnosti (Kartagenski protokol). Kartagenski protokol o biološkoj sigurnosti (CPB) je međunarodni sporazum koji regulira međudržavno ili prekogranično kretanje živih modificiranih organizama (eng. Live Modified Organisms- LMO). Ovaj protokol propisuje da izvoznici moraju od uvoznika tražiti pristanak prije prve pošiljke živih modificiranih organizama namijenjenog puštanju u okoliš. Kartagenski protokol je usvojen 2000. godine, a na snagu je stupio 8. rujna 2003. godine za sve zemlje potpisnice. Među zemljama

potpisnicama je i Hrvatska koja je potpisala i ratificirala Konvenciju o biološkoj raznolikosti i Protokol o biološkoj sigurnosti, te se također obvezala provoditi ih unutar svojih granica. Protokol određuje pravila i procedure za siguran prijenos, rukovanje i iskorištavanje živih modificiranih organizama, vremenske rokove i niz procedura ovisnih o namjeni. Zemlje potpisnice Protokola moraju osigurati sigurno rukovanje, pakiranje i transportiranje LMO-a, te moraju izgraditi sustav koji će omogućiti mjere za uklanjanje štetnih posljedica od mogućeg rizika i mjere u slučaju nekontroliranog širenja određenog LMO-a u okoliš. Zemlje uvoznice putem ovih procedura i zahtjeva dobivaju potrebne informacije potrebne za donošenje odluka o dozvoli ili zabrani uvoza određenog LMO-a. Svoju odluku donose na osnovi procjene opasnosti temeljene na znanstvenim podacima, a ponekad mogu primjeniti i princip predostrožnosti. Za zemlje potpisnice osnovan je Međunarodni mehanizam za razmjenu obavijesti o biološkoj sigurnosti (eng. Biosafety Clearing House- BCH). Preko njega se izmjenjuju informacije i omogućuje lakše provođenje Protokola.

Protokol ima neke pogodnosti za zemlje potpisnice:

- sudjelovanje u usklađivanju pravila, procedura i provođenja međugraničnoga prijenosa LMO-a
- uspostavljanje sustava kojima vlada zemlje potpisnice surađuje s vladama drugih zemalja na jačanju biološke sigurnosti
- poboljšani pristup relevantnim tehnologijama i podacima
- dokazivanje predanosti u očuvanju i održivom korištenju biološke raznolikosti provođenjem mjera biološke sigurnosti (UNEP-GEF NBF projekt, 2004).

2.6. ZDRAVSTVENA ISPRAVNOST

Od prvog plasiranja proizvoda dobivenih primjenom genetskog inženjeringa na tržište pa sve do danas zabrinutost kako među potrošačima, tako i među političarima, raste po pitanju uključivanja ovakvih proizvoda u prehrambeni lanac. Uslijed brojnih afera vezanih uz hranu pažnja javnosti usmjerena je gotovo isključivo na rizike hrane dobivene primjenom genetičkog inženjersva na zdravlje potrošača (Alagić i sur., 2005).

Proizvodi od GMO-a prolaze detaljnu provjeru te ih ljudi konzumiraju bez vidljivih utjecaja na zdravlje. Namirnice dobivene od GMO-a treba procjenjivati pojedinačno. Svjetska zdravstvena organizacija razvila je novi pristup koji se temelji na ideji da novi GMO-i i njihovi prehrambeni proizvodi trebaju biti sigurni kao konvencionalni proizvodi koje mogu zamjeniti u prehrani. Takav pristup se označava kao koncept substancijalne jednakosti (eng. substantial equivalence) i kriterij je po kojemu se na novoj namirnici treba ili ne treba primijeniti testiranje neškodljivosti. Ovaj pristup doveo je do razvoja komparativne procjene sigurnosti (eng. Comparative Safety Assessment, CSA). CSA je jednako primjenjiva na GM životinje i GM biljke. Sastoji se od više faza:

- 1) Faza inicijalne komparacije- komparacija ispitivanog GM proizvoda i konvencionalnog ekvivalenta. Cilj je utvrđivanje razlika i odstupanja fenotipskih karakteristika i sastava koje bi mogle imati utjecaj na zdravlje potrošača.
- 2) Evaluacija uočenih razlika- toksikološka i nutritivna ispitivanja identificiranih različitosti između ispitivanog GM proizvoda i njegovog konvencionalnog ekvivalenta.
- 3) Analiza rizika- finalna faza procjene zdravstvene sigurnosti GM proizvoda. Sastoji se od više koraka:
 - a) Identifikacija i karakterizacija opasnosti
 - b) Procjena unosa hrane- određivanje količine hrane koju jedinka ili populacija može konzumirati
 - c) Sveobuhvatna toksikološka i nutritivna evaluacija- indentifikacija posljedica za zdravlje potrošača koje bi mogla zahtjevati dodatna testiranja

- d) Karakterizacija rizika- donosi se sveukupni zaključak o sigurnosti i rizičnosti ispitivanog GM proizvoda. Da bi ispitivani GM proizvod bio odobren nivo rizika koji proizlazi iz konzumacije potrošača ne smije biti veći od rizika koji proizlazi iz konzumacije njegovog konvencionalnog ekvivalenta.

Neophodno je nadzirati i kontrolirati GM hranu nakon plasmana na tržište. Za svaki proizvod nakon proizvodnje treba osigurati mogućnost praćenja (sljedivost), te nacionalne i međunarodne baze podataka sa svim bitnim informacijama (Alagić i sur., 2005).

1.5.1. Dobrobiti za čovjeka

Primjena genetičkog inženjeringa u medicini je uvriježena u praksi i ljudima prihvatljiva. Pozitivni rezultati postižu se kod dijagnosticiranja i terapije teških bolesti, kod zamjene štetnih gena u cilju liječenja genetski uvjetovanih bolesti.

U području hrane posebna dobrobit GMO ističe se kod uzgoja GM biljaka. GM biljkama se povećavaju prinosi bez povećanja obradivih površina. Također se postižu povoljna svojstva kao što je tolerancija na herbicide glifosat i glufosinat, te otpornost na štetočine. Biljke bi trebale biti otpornije na nepovoljne klimatske uvjete poput suše, smrzavanja, vrućine i manjeg sadržaja dušika u tlu. GM životinje bi se mogle koristiti kao bioindikatori, za biološku kontrolu i transplantaciju stanica, tkiva i organa. U budućnosti će se nastojati poboljšati nutritivna vrijednost (veći sadržaj proteina i vitamina, žitarice bez glutena, zamjena saharoze s fruktanom, šećerna repa s genom jeruzalemske artičoke) i modificirani sadržaj masnoća (Čorić, 2003).

1.5.2. Opasnost za čovjeka

Pojavom sve učestalijih afera poput mikotoksina, kravljeg ludila, antibiotika i dioksina raste zabrinutost potrošača. Iako postoje brojne dobrobiti za čovjeka iz proizvodnje i upotrebe GM hrane postoje i opasnosti za zdravlje i okoliš. Najviše pozornosti se posvećuje alergogenosti, toksičnosti, stvaranju križanaca i toksičnih supstancija, otpornosti na antibiotike, prijenosu gena, pojavama „superkorova“, biološkoj raznolikosti, genetskom zagađenju i povećanoj upotrebi pesticida (UNEP-GEF NBF projekt, 2004).

Percepcija potrošača u pogledu rizika uključenja proizvoda dobivenih od GMO u prehrambeni lanac razmatra tri segmenta. To su alergogeni potencijal, transfer gena te izukrštanje (Alagić i sur., 2005). Uz njih, potrošači izražavaju i zabrinutost zbog potencijalne toksičnosti ili kancerogenosti, prisutnosti gena rezistencije na antibiotik te prisutnosti gena

2.5.2.1. Alergogenost

Alergije na hranu su nepovoljne reakcije na generalno neškodljivu hranu a koje imaju za posljedicu nenormalnu reakciju imunostava na komponente hrane (najčešće proteine). Uzrokovane su različitim namirnicama a među najčešćim alergjenima su kikiriki, soja, jaja, mlijeko, morski plodovi, orasi i lješnjaci (Havranek, 2001).

GMO hrana mogla bi izazvati alergijske reakcije (Želježić, 2004). Prijenosom gena iz alergogene biljke u nealergogenu može doći do prijenosa alergnosti (Capak, 2004). Genetičkom modifikacijom nastaju neprepoznatljive bjelančevine koje uzrokuju alergije. Svjetska Zdravstvena Organizacija i Organizacija za poljoprivredu razvile su protokol za testiranje GM hrane na alergnost. Procjena se radi pristupom drva rješenja (Havranek, 2001).

GM namirnice koje imaju alergogeni učinak nisu prisutne na tržištu. Proizvodnja GM soje u koju je ubačen gen iz brazilskog oraha je prekinuta. Takva soja imala je protein iz endosperma oraha bogat tioninom. Ispitivanjem je pokazano da posjeduje alergena svojstva (Želježić, 2004).

2.5.2.2. Toksičnost

Biljke proizvode spojeve koji su toksični. Njihovom konzumacijom nema opasnosti za zdravlje jer se nalaze u maloj koncentraciji. Izmjenom genetskog materijala moguće je dobiti produkte koji su toksični ili se može nekontrolirano povećati proizvodnja postojećeg toksina (Želježić, 2004).

Toksični kontaminati su u nekoliko slučajeva uzrokovali tragične posljedice. 1988. godine tvornica Show Denko je proizvela proizvod koji sadrži toksični kontaminant dimer triptofan u koncentraciji od 0,1 %. Nakon nekoliko mjeseci uzrokovao je smrt 37 ljudi (Čorić, 2003).

Toksičan i mutagen metabolit stvaraju GM kvasci koji su modificirani radi povećanja fermentativnih svojstava (Čorić, 2003).

2.5.2.3. Prijenos gena

Pelud GM biljke može oploditi zametak divljeg srodnika i prenijeti gen unesen genetičkim inženjerstvom. Sjeme bi se moglo raznijeti po poljoprivrednim površinama i ponašati se kao „superkorov“. U Meksiku i Srednjoj Americi postoji opasnost od prijenosa gena s GM kukuruza na divlje srodnike. Osim prijenosa gena kod GM biljaka postoji i prijenos određenog gena iz GM namirnice u stanice našeg organizma ili u bakterije u našem probavnom sustavu čime dolazi do razvitka rezistencije na antibiotike (Želježić, 2004).

2.5.2.4. Otpornost na antibiotike

U svrhu selekcije transformiranih stanica u GM biljku se unosi gen marker. Kao marker rabi se gen sa svojstvom rezistencije na antibiotike kanamicin i neomicin (Želježić, 2004; Capak, 2004). Potencijalni rizik predstavlja mogućnost pojave horizontalnog prijenosa gena rezistencije na antibiotike na patogene bakterije, odnosno bakterije koje sačinjavaju probavnu mikrofloru čovjeka (Capak, 2004). Naime, marker geni potencijalno se nakon konzumacije hrane proizvedene od GM biljaka mogu prenijeti u bakterije debelog crijeva i patogene bakterije i tako uzrokovati velike zdravstvene probleme jer se smanjuje djelotvornost sadašnjih antibiotika (Želježić, 2004; Capak, 2004).

2.5.3. Opasnosti za okoliš

Kako i svim aspektima ljudskog života tako i u ovom, zabrinutost potrošača nije ograničena samo na čovjeka već i na opasnosti genetičkog inženjeringa za okoliš. Naime, jedan dio znanstvenika smatra da upotrebom GMO-a čovjek zadire u prirodne procese i uzrokuje poremećaje u ekosustavu (Capak, 2004).

Neke opasnosti zbog kojih se u pogledu puštanja GMO u okoliš iskazuje zabrinutost su:

- rezistencija štetočina,

- rezistentnost na herbicide,
- negativan utjecaj na biološku raznolikost,
- negativan utjecaj na neciljane vrste,
- širenje GMO-a u okoliš,
- genetički otpad (Capak, 2004; Divjak i Havranek, 2000; Želježić, 2004).

Negativan utjecaj na neciljne vrste najbolje se ogleda kroz primjer učinka genetski modificiranih biljnih kultura na kukce koji prenose polen (bumbari i pčele). Ipak treba napomenuti da su koncentracije komponenata koje se realno pojavljuju u genetski modificiranim biljkama a koje mogu imati utjecaj naponašanje pčela, manje od onih koje imaju taj negativni učinak (Divjak i Havranek, 2000).

Rezistencija štetočina nastoji se izbjeći mješanjem s konvencionalnim biljkama (Capak, 2004).

Bioraznolikost označuje raznolikost živog svijeta i temelj je ekološke stabilnosti. GMO-i mogu biti prijetnja vrstama u ekosustavu i mogu uzrokovati potpuni nestanak nekih vrsta. Postoji opasnost od pojave „superkorova“ koji se nekontrolirano šire (UNEP-GEF NBF projekt, 2004).

Veliku opasnost predstavlja genetički otpad. Genetski otpad se množi i jača. GMO-i se mogu razmnožavati, širiti, mutirati i prenositi svoj genetski materijal. Kada se puste u okoliš ne mogu se više ukloniti (Čorić, 2003).

2.7. PRIMJERI

Već dvadesetak godina tehnologija rekombinantne DNA se upotrebljava u medicini i farmakologiji. Brojne dobrobiti donosi ova nova tehnologija. Dijabetičarima se poboljšava kvaliteta života proizvodnjom humanog rekombinantnog inzulina. Gen za sintezu ljudskog hormona rasta i za sintezu hormona inzulina implantira se u *Escherichiu coli* koja proizvodi te hormone za lijekove. Za efikasnu zaštitu proizvodi se cjepivo protiv hepatitisa B (proizveden primjenom transgeničkog kvasca), a za prevenciju i liječenje bolesti proizvode se alfa 1 antitripsin, glukagon, tiotropin, faktori zgrušavanja krvi i interleukin. U budućnosti se očekuje da će genetsko inženjerstvo imati vrlo važnu ulogu u medicini. Razvija se genska terapija i terapija stanicama ali brojna su etička pitanja za razvoj tih postupaka (Capak, 2004).

Najstariju i najobimniju primjenu proizvodi genetskog inženjeringa našli su području proizvodnje hrane u poljoprivrednoj proizvodnji (Alagić i sur., 2005). Upravo poljoprivredna proizvodnja, odnosno takozvane osnovne namirnice poput pšenice, riže odnosno kukuruza, predstavljaju osnovni izvodi makronutrijenata za čovjeka. Istovremeno, te namirnice često su siromašne jednim ili više mikronutrijenata, što u siromašnim populacijama gdje su one ne samo osnovna namirnica već gotovo jedina namirnica rezultira prehrambenim deficitima. Iz tog razloga, poboljšanje nutritivne vrijednosti upravo ovih namirnica predstavlja izazov u biotehnologiji koji može riješiti suvremene probleme globalne prehrane. Posebice su interesantne u tom smislu lokalno dostupne namirnice koje predstavljaju glavni izvor nutrijenata u siromašnim populacijama, a među kojima se ističu riža, banana, kasava i krumpir (Beyer, 2010).

Na 50 milijuna hektara poljoprivredne površine danas je u svijetu zasijano oko 50 vrsta GM biljaka koje su u komercijalnoj primjeni. GM soja čini više od pola ukupne svjetske proizvodnje soje. Zadnjih desetak godina GMO hrana je postala dostupna potrošačima (Capak, 2004).

Primjena genetičkog inženjeringa u svrhu proizvodnje hrane manje je zastupljena no ciljevi su kao i u biljnoj proizvodnji (**Tablica 3**) poboljšanje prinosa i promjene u nutritivnom sastavu proizvoda (Alagić i sur., 2005). Tehnikom rekombinantne DNA na biljkama se mogu poboljšati neka svojstva kao što su okus, miris, otpornost na neke bolesti, prehrambena

vrijednost i sastav. Ovom tehnikom se povećala proizvodnja hrane, a smanjila upotreba pesticida. Genetičko inženjerstvo najčešće se primjenjuje na pšenici, kukuruzu, soji, riži i rajčici.

Tablica 3 Odabrani primjeri aplikacije rezultata genetskog inženjeringa na životinjama
(Alagić i sur., 2005)

Primjena	Planirana namjena	Primjer	Komentar
Unapređenje animalne proizvodnje	Poboljšanje otpornosti na bolesti	Laktoferin gen kod šarana, cekropin gen kod soma	
	Povećanje probavljivosti biljnih komponenata stočne hrane kod omnivora	Gen za enzim fitazu kod svinja	Pristup može biti korišten za adaptaciju riba mesojeda na biljnu ishranu
Unapređenje kvalitete proizvoda	Promjena u nutritivnom profilu proizvoda	Reduciran sadržaj laktoze u mlijeku	
	Uklanjanje alergena iz namirnica	Isključenje gena za alergenski protein kod morskih plodova (račića)	
Stvaranje novih proizvoda	Farmaceutici za upotrebu u humanoj i veterinarskoj medicini	Geni za monoklona antitijela, lizosome, hormon rasta, inzulin, itd., izraženi u mlijeku ili krvi farmских životinja	
	Industrijski proizvodi (sintetska vlakna)	Vlakna paučine izražena u kozjem mlijeku	

Posljednjih nekoliko godina „nova vrsta hrane“ pojavljuje se u dućanima u SAD-u i Europi. Iako su potrošači, grupe za zaštitu okoliša i druge nevladine udruge zabrinute genetski modificirana hrana nalazi se neoznačena na policama dućana. U SAD-u je oko 1000 registriranih genetski modificiranih namirnica i aditiva. Genetski modificirana hrana (GM hrana) je hrana koja sadrži sastojke koji su nastali pomoću genetski modificiranih organizama ili sadrži sirovine koje su genetski modificirani organizmi (Čorić, 2003).

Razlikuju se dvije kategorije GM hrane. U prvu kategoriju pripada hrana koja je inicijalno pripravljena od GMO ili pomoću GMO, a finalni proizvod ne sadrži inicijalne GMO. Druga

kategorija je hrana koja sadrži GMO. Postoji mnogo primjera GM hrane (**Tablica 4**) (Čorić, 2003).

Tablica 4 Primjeri genetski modificirane hrane (Čorić, 2003)

HRANA KOJA JE INICIJALNO PRIPRAVLJENA OD GMO ILI POMOĆU GMO ALI FINALNI PROIZVOD NE SADRŽI INICIJALNE GMO	HRANA KOJA SADRŽI GMO
sojino ulje i lecitin dobiveni od GM soje	GM krumpir modificiran s genom visibabe, otporan na insekte
škrob dobiven iz GM kukuruza	GM rajčica modificirana genom iz arktičke ribe iverak, otporna na hladnoću
mlijeko krava koje su dobile modificirani hormon rasta goveda	GM kukuruz i soja modificirani s genom kodiranim za proizvodnju Bt toksina iz bakterije <i>Bacillus thuringiensis</i> , otporni na insekte
sir dobiven pomoću enzima kimozina/renina iz GM bakterija (<i>Escherichia coli</i> K-12)	GM soja, uljana repica, duhan, kukuruz, pamuk modificirani genom iz bakterije <i>Agrobacterium tumefaciens</i> soj CP4, otporni na herbicid glyphosat
glukozni sirup dobiven pomoću enzima α -amilaze iz GM bakterija (<i>Bacillus subtilis</i>)	GM krumpir, papaja, tikvica modificirani genom različitih virusa, otporni na virusne bolesti

2.7.1. Zlatna riža

Vitamin A ima veliku ulogu u stvaranju vidnog pigmenta, djeluje protiv nekih očnih bolesti, ima antioksidativna svojstva i velik učinak na epitelno tkivo, bori se protiv infekcija, bitan je za zdravu reprodukciju i pravilan rast. Nedostatak vitamina A uzrokuje noćno sljepilo i određene dermatološke probleme (Mandić, 2007; Beyer, 2010). Procjenjuje se da na 127 milijuna predškolske djece utječe nedostatak vitamina A, a 250 000-500 000 postaje slijepo uslijed njegova nedostatka svake godine (Beyer, 2010). Vitamin A se u biljkama nalazi kao provitamin A ili β -karoten (Mandić, 2007).

Riža je namirnica koju konzumira polovica svjetske populacije i temelj prehrane u 33 zemlje u razvoju. Prosječna konzumacija nekuhane riže u Indiji i Kini iznosi 250 g za žene i 300 g za muškarce a upravo u zemljama u kojima se riža najviše konzumira visoka je prevalencija deficita vitamina A. Obzirom na dominaciju riže u prehrani i relativno nedostatak navike konzumacije drugih namirnica koje su dobar izvor ovog vitamina siromašno stanovništvo dolazi u stanje deficita (AFFSA, 2004).

Zlatna riža proizvedena je 1999. godine genetičkim inženjerstvom. Proizvedena je da bi se u siromašnim zemljama u kojima je riža osnovna namirnica a prehrana ne uključuje dovoljno drugih izvora ovog vitamina, nadoknadila potrebna količina vitamina A. Od ostalih vrsta riže se razlikuje po tome što sadrži veće količine β -karotena. Iz razloga što se β -karoten ne nalazi u endospermu kojeg ljudi jedu u rižu se unose geni žutog narcisa (*Narcissus pseudonarcissus*) i bakterije *Erwinia uredovora* (Beyer, 2010).

Osim ove modifikacije, na riži kao potencijalnom izvoru makronutrijenata uz adekvatnu genetičku manipulaciju radi se i za folat, željezo i cink čiji je deficit u populaciji koja konzumira velike količine riže također zastupljeni (Beyer, 2010).

2.7.2. Rajčica

Rajčica Flavr Savr je prva genetički modificirana hrana za koju se 1994. godine dobila dozvola za komercijalizaciju i stavljanje u promet. Cilj proizvodnje takve rajčice je duži vijek trajanja. U tu je rajčicu umetnut protuosjetljivi gen enzima poligalakturonaze što dovodi do smanjenja stvaranja tog enzima. Na taj način se usporava razgradnja pektina, rajčica ostaje duže čvrsta na stabljici, a okus joj se pojačava. 1997. godine povučena je s tržišta zbog slabih prinosa (Mandić, 2007).

3. ZAKLJUČAK

Temeljem podataka pronađenih u literaturi i iznesenih u ovom radu može se zaključiti slijedeće:

- U današnjem svijetu u kojem velik broj ljudi gladije najznačajniju ulogu ima biotehnologija. Zbog svoje važnosti podržavaju se daljnja istraživanja u području biotehnologije. Smatra se da će u budućnosti ova tehnologija uvelike utjecati na opstanak ljudske vrste.
- Dolazi do razilaženja mišljenja jer neki smatraju da su GMO potrebni i da donose brojne koristi u medicini i poljoprivrednoj proizvodnji dok drugi upozoravaju na opasnost upotrebe GMO-a i šire zabrinutost među potrošačima.
- Dobrobiti uporabe hrane dobivene od GMO očituju se kroz povećanje prinosa i nutritivne vrijednosti hrane.
- Negativni učinci primjene GM hrane nisu znanstveno dokazani no javnost je još uvijek izrazito skeptična prema njihovoj uporabi.
- Potrebno je provesti dodatna istraživanja , postaviti zakonske okvire, regulirati uvoz, odgovarajuće označiti GM namirnice i uspostaviti sustav kontrole.

4. LITERATURA

- AFFSA: GMOs and food: is it possible to identify and assess health benefits? AFFSA, 2004.
- Alagić D, Smajlović M, Čaklović F: Genetski modificirani organizmi (GMO) u prehrani ljudi. *Meso* 7(5): 48-54, 2005.
- Beyer P: Golden Rice and Golden crops for human nutrition. *New biotechnology* 27(5): 478-481, 2010.
- Capak K: GMO i zdravlje. *MEDIX* 10(53): 23-26, 2004.
- Cattunar A, Capak K, Žafran Novak J, Mićović V, Doko Jelinić J, Maletestinić Đ: Monitoring the presence of genetically modified food on the market of the Republic of Croatia. *Collegium antropologicum* 35(4): 1231-1236, 2011.
- Codex Alimentarius (CA): About Codex, Codex Alimentarius International Food Standards, 2016, <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/en/> [15.09.2016.].
- Čorić A: Nedostatci i prednosti genetski modificirane hrane. *Farmaceutski glasnik* 59(9): 381-392, 2003.
- Divjak S, Havranek K: Genetički modificirane biljke koje se upotrebljavaju u hrani – 1. dio. *Glasilo DZNM* 9-10: 221-224, 2000.
- Divjak S, Havranek K: Genetički modificirane biljke koje se upotrebljavaju u hrani- 2. dio, *Glasilo DZNM* 1-2: 7-11, 2001.
- Fedoroff NV: The past, present and future of crop genetic modification. *New biotechnology* 27(5): 461-465, 2010.
- Havranek T: Procjena alergičnosti na genetički modificiranu hranu. *Glasilo DZNM* 7-8: 236-244, 2001.
- Hrvatski Sabor (HS): Zakon o hrani, Narodne novine 46/2007.
- Hrvatski Sabor (HS): Zakon o izmjeni zakona o hrani, Narodne novine 55/2011.
- Hrvatski Sabor (HS): Zakon o genetski modificiranim organizmima, Narodne novine 70/2005.

Hrvatski Sabor (HS): Zakon o izmjenama i dopunama zakona o genetski modificiranim organizmima, Narodne novine 137/2009.

Kabir R: Biocomputing and Bioencryption. Robin Kabir's Blog, 2011.

<http://www.eightyeightdecembers.com/2011/02/12/biocomputing-bioencryption/>
[30. 09. 2016].

Mandić ML: *Znanost o prehrani: hrana i prehrana u čuvanju zdravlja*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

UNEP-GEF NBF projekt: Razvitak okvira nacionane biološke sigurnosti u Republici Hrvatskoj.

Brošura o projektu. Biosafety GMO portal, Republic of Croatia, 2004.

<http://www.gmo.hr/cro/Kartagenski-protokol/Osposobljavanje/Osposobljavanje-izgradnja-kapaciteta-u-Republici-Hrvatskoj/UNEP-GEF-NBF-projekt-Razvitak-okvira-nacionalne-bioloske-sigurnosti-u-Republici-Hrvatskoj> [15.09.2016.].

Vlada Republike Hrvatske (Vlada RH): Uredba o prekograničnom prijenosu genetski modificiranih organizama, Narodne novine, 89/2010.

Vlada Republike Hrvatske (Vlada RH): Uredba o razini genetski modificiranih organizama u proizvodima ispod koje proizvodi koji se stavljaju na tržište ne moraju biti označeni kao proizvodi koji sadrže genetski modificirane organizme, Narodne novine, 92/2008.

Vlada Republike Hrvatske (Vlada RH): Uredba o dopuni uredbe o razini genetski modificiranih organizama u proizvodima ispod koje proizvodi koji se stavljaju na tržište ne moraju biti označeni kao proizvodi koji sadrže genetski modificirane organizme, Narodne novine, 36/2009.

Vlada Republike Hrvatske (Vlada RH): Uredba o dopuni uredbe o razini genetski modificiranih organizama u proizvodima ispod koje proizvodi koji se stavljaju na tržište ne moraju biti označeni kao proizvodi koji sadrže genetski modificirane organizme, Narodne novine, 33/2010.

Vlada Republike Hrvatske (Vlada RH): Uredba o izmjenama i dopunama uredbe o razini genetski modificiranih organizama u proizvodima ispod koje proizvodi koji se stavljaju

na tržište ne moraju biti označeni kao proizvodi koji sadrže genetski modificirane organizme, Narodne novine, 88/2011.

Vlada Republike Hrvatske (Vlada RH): Uredba o izmjenama i dopunama uredbe o razini genetski modificiranih organizama u proizvodima ispod koje proizvodi koji se stavljaju na tržište ne moraju biti označeni kao proizvodi koji sadrže genetski modificirane organizme, Narodne novine, 39/2012.

Željezić D: Genetički preinačeni organizmi u hrani- proizvodnja , detekcija i moguće opasnosti. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju 55: 301-312, 2004.

