

## Uso de materiales de referencia certificados para la cuantificación de OMG en alimentos y piensos

Septiembre de 2006

Última revisión: agosto de 2019

*La presente nota de aplicación informa y orienta sobre el uso correcto de los materiales de referencia del JRC certificados en cuanto a su fracción másica MG (modificación genética) de un determinado evento de MG. Explica cómo se establece el sistema de cuantificación de OMG en el contexto de la UE.*

**Autora:** Stefanie Trapmann

Comisión Europea - Centro Común de Investigación

Retieseweg 111, 2440 Geel, Bélgica

Correo electrónico:

stefanie.trapmann@ec.europa.eu

### INTRODUCCIÓN

En la UE, los organismos modificados genéticamente (OMG) deben contar con una autorización antes de que sea posible comercializarlos en el mercado europeo. El Reglamento (CE) n.º 1830/2003 exige etiquetar los productos destinados a alimentos y piensos que contengan más de un 0,9 % de OMG. Según el Reglamento (UE) n.º 619/2011, los piensos pueden contener un 0,1 % de OMG en relación con la fracción de masa del material cuyo procedimiento de autorización esté pendiente o cuya autorización en la UE haya caducado. Así, para aplicar la legislación comunitaria es obligado cuantificar de manera fiable los OMG en alimentos y piensos. Por este motivo, la decisión de autorización para cada OMG, publicada por la CE, especifica el método de detección y el material de referencia certificado (MRC) establecidos para el sistema de cuantificación. El MRC oficial se emplea para calibrar el método de referencia de RCP cuantitativo específico del evento validado por el Laboratorio Comunitario de Referencia sobre alimentos y piensos MG.

### CARACTERÍSTICAS DE LOS MRC DE OMG

Los valores certificados de todos los MRC de OMG del JRC se basan en las masas de materiales vegetales desecados modificados genéticamente (en la mayoría de los casos, harina de semillas) y no modificados genéticamente. En el caso de los MRC que requieran la mezcla de materiales MG y no MG, las masas se corrigen en función de su contenido de agua y pureza estimados durante la certificación. La fracción másica MG se calcula de la siguiente manera:

$$\frac{\text{masa corregida MG}}{\text{masa corregida MG} + \text{masa corregida no MG}}$$

Cada MRC de OMG se certifica en relación con la fracción másica de un evento de MG específico (que consta en el certificado). Por tanto, el MRC solo puede usarse para cuantificar el evento indicado y el correspondiente material en blanco (material no MG), solo para demostrar la ausencia

de este evento por debajo del umbral que figura en el certificado.

Las condiciones de almacenamiento recomendadas para cada MRC de OMG se recogen en el certificado. El productor de MR no será responsable de aquellos cambios que se produzcan mientras el material se almacene en las instalaciones del cliente, en especial, con respecto a las muestras abiertas. Si se utiliza un MRC de OMG varias veces, deberá reducirse al mínimo la absorción de agua en los materiales higroscópicos cerrando los recipientes de inmediato tras tomar muestras.

### MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE OMG

En general se usa la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (RCPc) para cuantificar el contenido de MG en muestras de alimentos y piensos. Esta técnica de cuantificación basada en el ADN mide el cociente entre el ácido desoxirribonucleico (ADN) transgénico, es decir, el derivado de la modificación genética, y el ADN endógeno, propio de la especie biológica.

Los MRC de OMG autorizados por el JRC están destinados a su uso junto con el método de referencia de RCP cuantitativo específico del evento validado por el Laboratorio Comunitario de Referencia sobre alimentos y piensos MG. En la página web del Laboratorio Comunitario de Referencia sobre alimentos y piensos MG (<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/StatusOfDossiers.aspx>) se ponen a disposición del público métodos de detección mediante RCP cuantitativa presentados y validados según el Reglamento (CE) n.º 1829/2003. Si se emplean MRC en pruebas de cribado, el usuario deberá tener en cuenta que los MRC de organismos no MG pueden generar señales positivas en dichas pruebas que son en realidad negativos para el método específico del evento. En consecuencia, las señales de cribado positivas se deben interpretar con prudencia.

Durante la preparación de MRC de OMG, se ha procurado que las harinas MG y no MG sean similares en cuanto a su granulometría. Esto es

de especial importancia a la hora de comparar la cantidad de ADN extraíble con el tamaño de partícula. Si la eficiencia de extracción fuera diferente para el ADN de la harina MG y de la no MG, esto influiría en el valor de la concentración de MG obtenido mediante RCPc. Por ello, solo deben usarse métodos de extracción de ADN validados en cuanto al cumplimiento de los requisitos de cuantificación de OMG y que hayan demostrado funcionar con distintas variedades de una misma especie. Durante la certificación se verifica la fracción másica MG del MRC utilizando un método de RCPc específico al evento. Si se ha observado una extraíbilidad del ADN distinta, se facilitará tal información.

Las distintas partes de la semilla de monocotiledónea (p. ej., el endosperma, la testa y el embrión del maíz) tienen diferente composición genética, y el valor del cociente de ADN en la harina integral producida a partir de granos enteros difiere del de la harina producida a partir de granos refinados (la cual solo contiene el endosperma). El JRC emplea harinas de grano entero para sus MCR de OMG.

Todos los MRC de OMG del JRC se producen de forma gravimétrica empleando materiales vegetales MG y no MG puros. Están certificados con respecto a su fracción másica MG, de manera que puedan aplicarse los umbrales de fracción másica establecidos en la correspondiente legislación comunitaria sobre alimentos y piensos. La mayoría de MRC de OMG están destinados a su uso para calibrar las mediciones de RCPc.

El sistema de cuantificación de OMG en la jurisdicción comunitaria se establece a partir del MRC oficial, el cual se especifica en la decisión de autorización, y del método de medición validado por el Laboratorio Europeo de Referencia, por lo que no es preciso aplicar corrección alguna. Tampoco se ha de tener en cuenta la conmutabilidad, una característica esencial de los materiales de referencia, si se aplican otros métodos de medición.

### CÓDIGO DE MRC DE OMG

Todos los MRC de OMG tienen un código individual compuesto por una combinación de letras y números. El formato general es ERM-BF123xy. El elemento «ERM®» especifica la marca (marca comercial registrada de un material de referencia comunitario), y las letras «BF» determinan que se trata de un MRC vegetal certificado con respecto a su contenido MG. Los tres números siguientes son específicos del evento concreto. La «x» es una letra minúscula de la «a» a la «g» que se añade a continuación del código de evento para indicar el nivel de

fracción másica (es decir, ERM-BF412a = 0 g/kg nominal; ERM-BF412b = 1000 g/kg nominal; ERM-BF412c = 1 g/kg nominal; ERM-BF412d = 10 g/kg nominal; ERM-BF412e = 100 g/kg nominal). La «y» es una letra minúscula de la «k» a la «z» e indica que se trata de la segunda, la tercera, etc. serie de producción del MRC. La primera serie de producción no incluye la letra «y» adicional.

En la mayoría de los casos, se producen cinco niveles de concentración distintos por grupo: 0 y 100 % nominales y las mezclas 0,1; 1, y 10 (m/m) %. Se utilizan tapones codificados por colores para que resulte más sencillo identificar los distintos niveles de fracción másica: 0 g/kg nominal = plateado; 1000 g/kg nominal = negro; 1 g/kg nominal = dorado; 10 g/kg nominal = rojo; 100 g/kg nominal = marrón.

Todas las series de producción de MRC se procesan con distintos materiales vegetales (p. ej., lotes de semillas). Del mismo modo, la granulometría puede diferir a pesar de los intentos por mantener la constancia entre las series anteriores y las más recientes. Por lo tanto, las líneas de calibración que se establecen para las nuevas series de MRC pueden ser distintas a las de las series antiguas, por lo que deberá iniciarse un nuevo gráfico de control de calidad cuando se utilice por primera vez un MRC de una serie nueva. Del mismo modo, se recomienda cambiar entre series antiguas y series más recientes en todas las aplicaciones, incluidas las de calibración y control de calidad. Por motivos de trazabilidad, debe indicarse siempre el MRC específico que se haya utilizado para la calibración.



Figura 1: Conjunto de MRC de OMG

## ASPECTOS ESPECÍFICOS DE LA CERTIFICACIÓN

En la mayoría de MRC de OMG hay también una harina pura no MG y una harina pura MG disponibles. Se ha certificado que la harina no MG contiene «menos» que una fracción másica dada de OMG según el límite de detección del método empleado para caracterizarla. Se ha certificado que la harina OMG pura contiene «más» que una fracción másica dada, en función del número de semillas examinadas y de la evaluación estadística. Si se usan con fines de calibración, el laboratorio debe asegurarse de emplear los valores certificados (véase el ejemplo).

Unos pocos MRC de OMG se ha certificado con respecto a su identidad (p. ej. ERM-BF421b). Tales MRC están destinados a su uso como muestras de control positivas, p. ej., en análisis de cribado. Tienen el fin de confirmar la presencia (o la ausencia) de un evento de OMG específico, pero no son aptos para cuantificar OMG.

Algunos MRC de OMG se han certificado usando un intervalo de incertidumbre asimétrico. Si se usan estos MRC para control del sesgo (véase la Nota de aplicación 1 del ERM), debe usarse, dependiendo del valor de la incertidumbre, para una medida promedio superior al valor certificado la «incertidumbre positiva» y, si el valor es inferior, la «incertidumbre negativa».

Unos pocos MRC de OMG con un nivel de concentración específico se han certificado, además de con respecto a la fracción másica MG, con respecto a su cociente de números de copias de ADN MG (es decir, ERM-BF413e, ERM-BF415e, ERM-BF425c, ERM-BF427c) y se ha facilitado un calibrador plasmídico correspondiente (es decir, ERM-AD413, ERM-AD415, ERM-AD425, ERM-AD427). Si se emplean para ensayos de cumplimiento legal comunitario, los resultados de medición deben convertirse de cocientes de números de copias de ADN a fracciones másicas. Tenga en cuenta que el Laboratorio Comunitario de Referencia sobre alimentos y piensos MG ofrece factores de conversión establecidos para tal fin.

## EJEMPLO DEL USO DE MRC DE OMG PUROS Y SUS INCERTIDUMBRES

La siguiente información puede encontrarse en los certificados de análisis de ERM-BF412ak y ERM-BF412bk (<https://crm.jrc.ec.europa.eu/>):

	Fracción másica de maíz Bt11 <sup>1)</sup>	
	Valor certificado [g/kg]	Incertidumbre [g/kg] <sup>4)</sup>
ERM-BF412ak	< 0,12 <sup>2)</sup>	-
ERM-BF412bk	> 970 <sup>3)</sup>	-

1) Maíz genéticamente modificado con el identificador inequívoco SYN-BTØ11-1.

2) El material de referencia certificado se ha producido a partir de semillas de maíz convencionales no modificadas. No se detectó contaminación en este material al aplicar una prueba de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa específica del evento de maíz Bt11. El límite de detección era 0,12 g/kg. Puede afirmarse con un 95 % de certidumbre que la fracción másica real de maíz Bt11 del material es inferior a 0,12 g/kg. El valor certificado se puede trazar al Sistema Internacional de Unidades (SI).

3) Este material de referencia certificado se ha producido a partir de semillas de maíz Bt11 genéticamente modificadas. El valor certificado se basa en la pureza genética de la harina de maíz con respecto al maíz Bt11. En total, se comprobó la presencia del evento de maíz Bt11 en 209 semillas, de las cuales 207 dieron positivo. Puede afirmarse con un 95 % de certidumbre que la fracción másica real de maíz Bt11 del material es superior a 970 g/kg. El valor certificado se puede trazar al Sistema Internacional de Unidades (SI).

4) La incertidumbre es la incertidumbre ampliada con un factor de cobertura  $k=2$  correspondiente a un nivel de certidumbre de alrededor del 95 %, calculado de conformidad con la Guía ISO/IEC 98-3, Guía para la expresión de la incertidumbre de medida (GUM:1995), ISO, 2008.

En función de los datos anteriores, puede concluirse que el MRC ERM-BF412ak contiene menos de 0,12 g de Bt11/kg de manera certificada y que no se ha detectado contaminación en la harina. Puede afirmarse con un 95 % de certidumbre que la fracción másica real de maíz Bt11 del material es inferior a 0,12 g/kg. Por lo tanto, debe emplearse el valor 0 g/kg para posteriores cálculos, incluido para elaborar curvas de calibración.

Se ha certificado que el MRC ERM-BF412bk contiene menos de 970 g/kg. 207 de las 209 semillas que se analizaron obtuvieron un resultado positivo de presencia del evento de maíz Bt11. Puede afirmarse con un 95 % de certidumbre que la fracción másica real de maíz Bt11 del material es superior a 970 g/kg. En cálculos posteriores, así como al elaborar curvas de calibración para este OMG, deberá utilizarse una pureza genética estimada de 990 g/kg. Debe observarse que, en el caso de los MRC de harina de OMG pura en los que no se detectase contaminación, deberá utilizarse 1000 g/kg.

En todos los casos, la incertidumbre que debe emplearse se calcula a partir del intervalo entre el valor numérico y el límite dado dividido entre  $\sqrt{3}$ . Por ejemplo:

ERM-BF412ak: se emplea el valor 0,0 g/kg; la incertidumbre es  $0,12 \text{ g/kg} - 0 \text{ g/kg} / \sqrt{3} = 0,07 \text{ g/kg}$

ERM-BF412bk: el valor empleado, basado en la pureza genética, es  $207/209 * 1000 = 990 \text{ g/kg}$ . La «incertidumbre negativa» es  $990 - 970 / \sqrt{3} = 11,5 \text{ g/kg}$ . La «incertidumbre positiva» es 10 g/kg, ya que el contenido MG posible no puede superar 1000 g/kg.