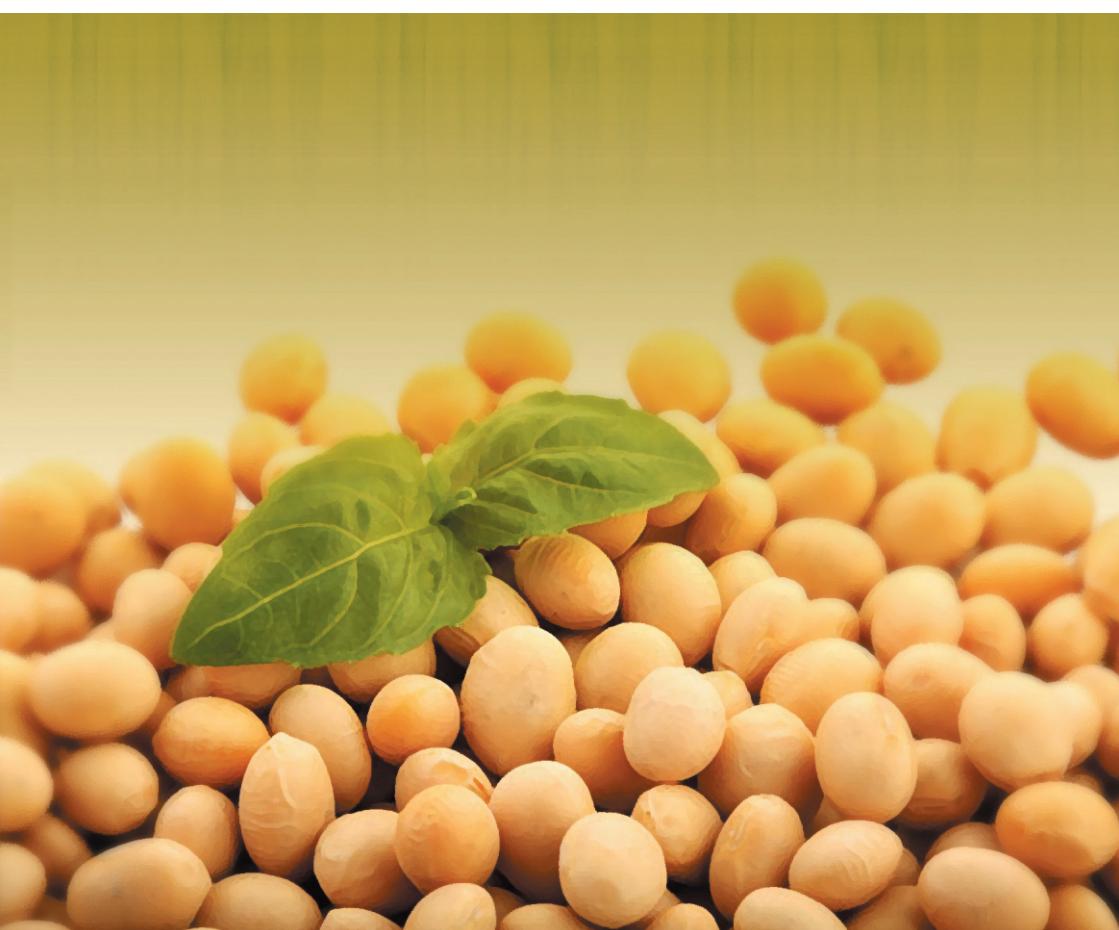


Identificação e Quantificação
de Soja Transgênica em
Alimentos Orgânicos





ISSN 0103-6068 82

Dezembro, 2007

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos82

Identificação e Quantificação de Soja Transgênica em Alimentos Orgânicos

Edna Maria Moraes Oliveira
Otniel Freitas-Silva
Natália Eudes Fagundes de Barros
Lucinéia Gomes da Silva

Rio de Janeiro, RJ
2007

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba

CEP: 23020-470 - Rio de Janeiro - RJ

Telefone: (21) 2410-9500

Fax: (21) 2410-1090

Home Page: www.ctaa.embrapa.br

E-mail: sac@ctaa.embrapa.br

Comitê Local de Publicações e Editoração da Unidade

Presidente: Virgínia Martins da Matta

Membros: Marcos José de Oliveira Fonseca, Marilia Penteado Stephan,
Renata Torrezan, Ronel Luiz de Oliveira Godoy, Soraya Pereira da
Silva, André Luis do Nascimento Gomes.

Secretárias: Renata Maria Avilla Paldês e Celia Gonçalves Fernandes

Revisor de texto: Comitê de Publicações

Normalização bibliográfica: Luciana Sampaio de Araújo

Ilustração da capa: André Guimarães de Souza

Tratamento das fotos e ilustrações: André Guimarães de Souza

Editoração eletrônica: André Guimarães de Souza

1^a edição

1^a impressão (2007): 200 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Identificação e quantificação de soja transgênica em alimentos orgânicos /
Edna Maria Moraes Oliveira ... [et al.]. - Rio de Janeiro : Embrapa
Agroindústria de Alimentos, 2007.

24p. ; 21 cm. - (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Documentos, ISSN 0103-
6068; 82).

1. Alimento orgânico. 2. Soja. 3. Organismo geneticamente modificado. I.
Oliveira, Edna Maria Moraes. II. Freitas-Silva, Otniel. III. Barros, Natália
Eudes Fagundes de. IV. Silva, Lucinéia Gomes da. V. Série.

CDD: 664 (21. ed.)

Embrapa, 2007

Autores

Natália Eudes Fagundes de Barros

Nutricionista, M.Sc. em Ciência de alimentos,
Embrapa Agroindústria de alimentos, Av. das
Américas, 29501 - Guaratiba, Rio de Janeiro, RJ -
Brasil - CEP 23020-470, Telefone: (21) 3622-9644,
E-mail: nataliaeudes@usp.br

Edna Maria Moraes oliveira

Eng. Química, D.Sc. em Bioquímica, Embrapa
Agroindústria de alimentos, Av. das Américas, 29501 -
Guaratiba, Rio de Janeiro, RJ - Brasil - CEP 23020-
470, Telefone: (21) 3622-9644
E-mail: edna@ctaa.embrapa.br

Lucinéia Gomes da Silva

Química, D.Sc. em ciencia de alimentos, Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de
Janeiro, Rua Senador Furtado, 121/125 Maracanã
20270-021 - Rio de Janeiro, RJ - Brasil,
Telefone: (21) 3978-5918 Ramal: 5904,
E-mail: lgs@uol.com.br

Otniel Freitas Silva

Eng. Agrônomo, M.Sc. em Agronomia, Embrapa
Agroindústria de alimentos, Av. das Américas, 29501 -
Guaratiba, Rio de Janeiro, RJ - Brasil - CEP 23020-
470, Telefone: (21) 3622-9645,
E-mail: otofreitas@ctaa.embrapa.br

Apresentação

Aproveitando um nicho de mercado, a indústria alimentícia vem desenvolvendo produtos com certificação de qualidade e identidade orgânica a fim de atender à crescente demanda do mercado consumidor.

Dessa forma, a fiscalização do cumprimento das normas exigidas para a obtenção do selo orgânico deve ser realizada de modo a garantir o padrão de identidade e qualidade relativo à produção orgânica.

Um dos requisitos exigidos para a certificação orgânica, fixados pela Lei nº 10.831/2003, prevê a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização de produtos orgânicos.

No contexto desta preocupação, o objetivo do presente trabalho foi investigar a presença de soja geneticamente modificada (Roundup Ready® - RR) em alimentos orgânicos produzidos a base de soja.

Amauri Rosenthal

Chefe Geral da Embrapa Agroindústria de Alimentos

Sumário

Introdução	09
Materiais e Métodos	11
Alimentos Analisados e Extração do DNA Genômico	11
PCR Duplex Qualitativa	12
Condições para PCR em Tempo Real	13
Análise de Dados	14
Análise da Rotulagem	14
Resultados e Discussão	15
Considerações Finais	20
Referências Bibliográficas	20

Identificação e Quantificação de Soja Transgênica em Alimentos Orgânicos

Edna Maria Moraes Oliveira

Otniel Freitas-Silva

Natália Eudes Fagundes de Barros

Lucinéia Gomes da Silva

Introdução

Desde que os organismos geneticamente modificados (OGMs) entraram na cadeia alimentar, tem-se observado um intenso debate público e científico a respeito dos seus riscos e da necessidade de fornecer informações pertinentes ao consumidor (GERMINI et al., 2004; OBERMEYER; FERREIRA, 2005). Dentro deste contexto, o sistema que regula a liberação de alimentos geneticamente modificados (AGMs) deve apresentar como objetivo principal a garantia de que o produto derivado da biotecnologia moderna seja seguro. Desta forma, a análise da segurança alimentar faz-se obrigatória antes do produto geneticamente modificado (GM) ser lançado no mercado. Além disso, seria adequado o desenvolvimento de um programa de vigilância para o lançamento no mercado de produtos derivados de OGM, a fim de garantir a segurança do consumidor a longo prazo. Assim, as agências reguladoras estariam garantindo ao consumidor o direito de escolha entre o AGM e seus similares convencionais (alimentos não GM) através do estabelecimento de procedimentos de seleção, monitoramento, detecção e rotulagem desses diferentes produtos (SCHILTER; CONSTABLE, 2002).

Paralelamente, o consumo dos alimentos orgânicos tem aumentado nos últimos anos, refletindo preocupação com a saúde e o meio-ambiente, além do posicionamento contrário por parte dos consumidores em relação ao OGM. Embora o termo "orgânico" esteja comumente associado à "ausência de substâncias químicas ou pesticidas", abrange conceitos mais amplos de agroecologia, incluindo aspectos ambientais, culturais e sócio-econômicos. Assim que seu uso difundiu-se na década de 90, a ausência de definição da regulamentação adequada deixava o consumidor sem qualquer garantia que o produto com o selo orgânico

seria livre de agrotóxicos, comuns na agricultura moderna (SIDERER; MAQUET; ANKLAN, 2005).

Atualmente, o consumo de alimentos orgânicos compreende importante parcela da indústria alimentícia, que vem desenvolvendo novos produtos com certificação de qualidade e identidade orgânica a fim de atender a crescente demanda do mercado consumidor. Dessa forma, a fiscalização do cumprimento das normas exigidas para a obtenção do selo orgânico deve ser realizada de modo a garantir o padrão de identidade e qualidade relativo à produção orgânica.

Um dos requisitos exigidos para a certificação orgânica, fixados pela Lei nº 10.831/2003 (BRASIL, 2003b), prevê a eliminação do uso de OGM em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização de produtos orgânicos. Entretanto, os trabalhos que relatam detecção de transgênicos em alimentos industrializados, comercializados no Brasil (BROD et al., 2007; CARDARELLI et al., 2005; GREINER; KONIETZNY, 2008), não contemplaram alimentos do sistema orgânico de produção.

O principal fator que exerce influência direta sobre os critérios de desempenho na detecção de OGMs trata-se do procedimento de isolamento do DNA (BERTHEAU et al., 2002). As etapas de extração e purificação do DNA representam o primeiro passo na maioria das análises de biologia molecular e DNA recombinante. Estes procedimentos visam à obtenção de ácidos nucléicos purificados de diversas matrizes com o objetivo de detectar um OGM específico através da reação em cadeia da DNA polimerase (PCR).

A qualidade e a pureza do DNA são os fatores mais críticos na análise de PCR porque os ácidos nucléicos, após serem extraídos de suas matrizes podem estar associados a inibidores e contaminantes e, deste modo, interferir nos resultados da análise. Para a obtenção de ácidos nucléicos altamente purificados, livres de contaminantes e inibidores, devem ser aplicados métodos de extração adequados (EUROPEAN COMMISSION, 2003).

O extrato de DNA obtido a partir de amostras de alimentos processados pode estar contaminado por inibidores da DNA polimerase, tais como proteínas, lipídeos, polissacarídeos, sais e polifenóis (MEYER, 1999). Estes contaminantes podem estar presentes na matriz alimentar ou ser compostos empregados no procedimento de extração. Assim, no desenho experimental da etapa de isolamento do DNA deve-se levar em conta a composição química do produto a ser analisado e as substâncias empregadas na extração. Considerando a composição

química da soja e dos seus produtos derivados contemplados nesse estudo, o alto teor de lipídeos, proteínas, sais e a presença de substâncias do metabolismo secundário, representaram os fatores de maior impacto na definição do método de extração a ser empregado.

Outro aspecto importante a ser considerado na avaliação da qualidade do DNA extraído é seu grau de degradação/fragmentação. O processamento pelo qual os alimentos são submetidos ao longo da cadeia produtiva, tais como tratamento térmico e acidificação, exercem influência sobre o grau de degradação do DNA extraído. Assim sendo, a metodologia de extração deve ser sensível o suficiente para recuperar fragmentos de DNA a partir dos alimentos de acordo com seu grau de processamento (PEANO et al., 2004).

Diante deste cenário, o objetivo deste trabalho foi investigar a presença de soja GM (Roundup Ready® - RR) em alimentos orgânicos produzidos a base de soja.

Materiais e Métodos

Alimentos Analisados e Extração do DNA Genômico

Quinze alimentos orgânicos produzidos à base de soja, por quatro fabricantes distintos, foram coletados aleatoriamente em estabelecimentos comerciais do município do Rio de Janeiro, entre outubro de 2005 e abril de 2006. Os produtos foram: farinha de soja (n=1), soja em grãos (n=6), tofu (n=2), pasta de soja (n=5) e bebida fermentada à base de soja tipo "iogurte" (n=1). Os rótulos de todas as amostras analisadas apresentavam selo de certificação do sistema orgânico de produção. O conteúdo da embalagem dos produtos foi homogeneizado individualmente por agitação manual e alíquotas de 50g de cada amostra foram homogeneizadas em liqüidificador industrial Poli (Skymsem), das quais foram obtidas alíquotas de 100mg para realizar a extração do DNA. Materiais de Referência Certificados (MRC), apresentando percentuais definidos de soja RR (<0,03%, 0,1%, 0,5%, 1,0%, 2,0%, e 5,0% - Institute of Reference Material and Measurement, Geel, Bélgica), foram usados como controle positivo para a presença de soja RR.

Uma das principais limitações na análise de amostras de alimentos por PCR é a degradação do DNA provocada por etapas do processamento, tais como tratamentos físicos, químicos e enzimáticos. Assim, a fim de investigar se o grau de processamento exerce influência sobre a

obtenção de DNA amplificável no desenho experimental proposto nesse estudo, foi feita a classificação dos alimentos industrializados avaliados, conforme descrito por Rott et al. (2004).

As amostras selecionadas foram submetidas à extração do DNA genômico com a utilização do kit DNeasy Plant Mini® (Qiagen). Esta metodologia utiliza uma resina de silica ligante de DNA, a qual tem sido aplicada com êxito no isolamento do DNA a partir de alimentos processados à base de soja e milho (TENGEL et al., 2001), através das seguintes etapas:

- lise celular;
- digestão enzimática de proteínas através da ação da proteinase K;
- precipitação de agentes inibidores com posterior remoção em coluna QIAshredder;
- ligação do DNA à coluna DNeasy Spin, na presença de agentes caotrópicos (hidrocloreto de guanidina);
- eluição de contaminantes com isopropanol;
- recuperação do DNA através de eluição em tampão com baixa concentração de sais (TERRY; HARRIS; PARKES, 2002).

A quantidade de DNA isolada foi determinada por espectrofotometria UV/VIS, com absorvância em 260nm.

PCR Duplex Qualitativa

Foram utilizados os oligonucleotídeos desenhados e validados por Germini et al. (2004). O par de oligonucleotídeos PE35S (*forward*) e RR (*reverse*) foi utilizado para amplificar a junção da construção do DNA recombinante da soja GM tolerante ao glifosato (promotor 35S e gene de peptídeo de trânsito de cloroplasto). Como controle endógeno, os oligonucleotídeos SL *forward* e SL *reverse* foram utilizados na amplificação de parte da seqüência correspondente ao gene da lectina (*Le1*), utilizados para confirmar a presença de DNA de soja na amostra analisada. Os fragmentos amplificados na PCR duplex apresentam tamanho esperado de 125 e 157pb, respectivamente (tabela 1). Os oligonucleotídeos foram sintetizados pela Invitrogen Life Technologies. A PCR duplex foi conduzida em termociclador GeneAmp® PCR System 2400 (PerkinElmer), com a adição de 300ng de DNA molde, tampão PCR 1× (20 mM Tris-HCl pH 8.4; 50 mM KCl), 3,5mM MgCl₂, 400 µM cada dNTPs (Amersham Pharmacia Biotech), 0,15 U/µL Taq DNA

polimerase recombinante (Invitrogen Life Technologies) e mix de oligonucleotídeos 1× (0,2 µM SL *forward*, 0,2 µM SL *reverse*, 0,4 µM RR *reverse* e 0,6 µM P-E35S *forward*). A amplificação foi realizada em tubos de 0,2mL usando um volume total da reação de 50µL, com ciclagem térmica conforme descrito na tabela 2.

Após a reação, os produtos da PCR duplex foram fracionados por eletroforese em gel de agarose 2,0% contendo brometo de etídeo (Invitrogen) a 0,5µg/mL, para separação e identificação dos fragmentos de DNA resultantes (SAMBROOK; RUSELL, 2001). Após a separação eletroforética, o gel foi visualizado e fotodocumentado no transiluminador sob luz UV ($\lambda = 312\text{nm}$), modelo ECX-20M, acoplado a sistema de documentação digital (Vilber Lourmat).

Tabela 1. Oligonucleotídeos utilizados para detecção através de PCR duplex.

Oligonucleotídeo	Seqüência do Oligonucleotídeo	Seqüência homóloga	Amplicon esperado (pb)
SL for (lectina)	ATGGGCTTGCCTTCTTCT	Gene lectina	157
SL rev (lectina)	CCGATGTGTGGATTGGTG	Gene lectina	
P-E35S for (soja RR)	CATTTCATTGGAGAGGACACG	Promotor E35S	125
RR rev (soja RR)	TGGGGTTTATGGAAA TTGGAA	Peptídeo de trânsito de cloroplasto 4	

Tabela 2. Programa de ciclagem térmica a ser utilizado na PCR duplex.

	Temperatura	Tempo
Desnaturação inicial	95°C	10 min.
Nº de ciclos: 40		
Desnaturação	95°C	50 s
Hibridização	60°C	50 s
Extensão dos oligonucleotídeos	72°C	50 s
Extensão final	72°C	5 min

Condições para PCR em Tempo Real

As amostras que apresentaram resultado positivo para soja RR na PCR duplex foram submetidas à análise através de PCR em tempo real para determinação do percentual de DNA recombinante oriundo da soja GM. Para a PCR quantitativa, foi utilizado o kit GMO Quant Roundup Ready λ DNA Quantification (Applied Biosystems), em termociclador ABI Prism 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems). Na amplificação

das seqüências de interesse para a quantificação de soja GM (gene controle endógeno - *Le1* e específico para o evento GM - promotor 35S) foram utilizadas, além de dois pares de oligonucleotídeos, duas sondas específicas para detectar a região alvo correspondente ao promotor 35S e *Le1*, marcados com os fluoróforos FAM e VIC, respectivamente.

Durante a reação, a emissão fluorescente das sondas foi detectada, permitindo a estimativa da quantidade inicial de DNA recombinante, possibilitando assim a determinação do percentual de soja GM na amostra analisada. Os extratos de DNA obtidos a partir dos materiais de referência foram utilizados nas reações para a construção da curva padrão. Todas as reações foram realizadas em triplicata.

Análise dos dados

Média e desvio padrão dos valores de delta ciclo threshold (Ct) ($Ct_{RRS} - Ct_{LEC}$) foram calculados através da planilha de cálculo GMO Analysis MacroTM v 1.7 (Applied Biosystems). Materiais de referência certificados foram utilizados a fim de construir uma curva padrão por regressão linear, a partir dos valores de λ Ct versus %GMO, permitindo a determinação dos percentuais de DNA recombinante de soja RR.

Análise da rotulagem

Foi realizada conforme regulamentação do Decreto no 4680/2003 (BRASIL, 2003a). Na comercialização de alimentos e ingredientes alimentares destinados ao consumo humano ou animal que contenham ou sejam produzidos a partir de organismos geneticamente modificados, com presença acima do limite de 1% do produto, o consumidor deve ser informado da natureza transgênica desse produto. O rótulo da embalagem ou do recipiente em que estão contidos deve constar, em destaque, no painel principal e em conjunto com o símbolo transgênico uma das seguintes expressões, dependendo do caso: "(nome do produto) transgênico", "contém (nome do ingrediente ou ingredientes) transgênico(s)" ou "produto produzido a partir de (nome do produto) transgênico". Na análise de conformidade para a certificação orgânica, foi empregada a determinação da Instrução Normativa nº 7, de 17 de maio de 1999 (BRASIL, 1999). Esta norma dispõe sobre as normas de produção, tipificação, processamento, envase, distribuição, identificação e certificação da qualidade orgânica dos produtos de origem animal e vegetal, entre as quais, merece destaque a necessidade de exclusão do emprego de OGM na produção orgânica.

Resultados e Discussão

Os 15 produtos selecionados neste estudo continham soja na lista de ingredientes presentes nos rótulos, além do selo de certificação para produtos orgânicos. Estes produtos representam os principais alimentos à base de soja do sistema orgânico de produção disponíveis no mercado varejista do município do Rio de Janeiro. A tabela 3 relaciona os produtos contemplados nas análises e grau de processamento, classificado de acordo com metodologia descrita por Rott et al. (2004). Os produtos submetidos ao processamento térmico foram classificados como moderadamente processados. Soja em grãos e farinha de soja foram considerados como sendo de baixo grau de processamento.

Tabela 3. Alimentos orgânicos avaliados e nível de processamento.

Produto	Número de amostras	Grau de processamento
Farinha	1	baixo
Soja em grão	6	baixo
Tofú	2	moderado
Pasta de soja	5	moderado
Alimento fermentado	1	moderado

A análise em gel de agarose (1,5%) dos extratos de DNA obtidos a partir das amostras avaliadas encontra-se descrita na figura 1. Observou-se a presença da banda correspondente ao DNA genômico da soja somente nas amostras de soja em grão (raias 2, 3, 6, 7, 8, e 15), possivelmente em virtude do efeito do processamento sobre a integridade do DNA extraído a partir de alimentos processados. Outra possibilidade é a baixa recuperação de DNA em amostras de alimentos com matrizes complexas, de modo que a concentração de DNA pode ter sido menor que o limite de detecção do gel de agarose. Peano et al. (2004) também observaram ausência da banda correspondente ao DNA genômico na análise em gel de agarose, realizada a partir de extratos de DNA obtidos de alimentos processados à base de soja e milho.

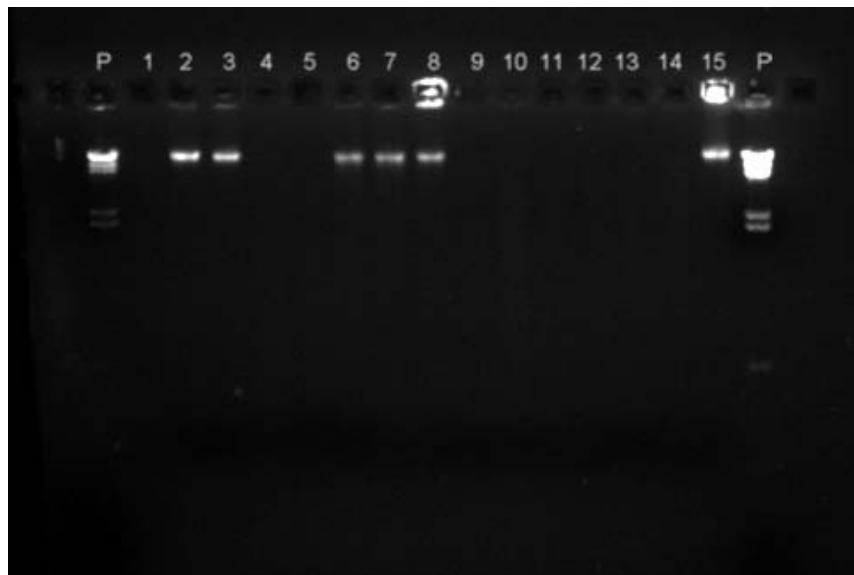


Fig. 1. Eletroforese em gel de agarose - DNA genômico isolado a partir das amostras de alimentos orgânicos. P: Padrão DNA λ digerido com HindIII; 1: farinha de soja orgânica; 2, 3, 6, 7, 8 e 15: soja orgânica em grãos; 4, 14: tofu orgânico; 5, 10, 11, 12, e 13: pasta de soja orgânica; 9: alimento fermentado à base de soja orgânica.

Na figura 2 encontram-se descritos os resultados da análise em gel de agarose (2,0%) dos produtos da reação PCR duplex. Observou-se que a metodologia utilizada para extração de DNA permitiu a obtenção de DNA de soja amplificável a partir de todas as amostras, submetidas a baixo ou médio grau de processamento. A partir dos oligonucleotídeos correspondentes ao gene *Le1* (*SL forward* e *SL reverse*) foi possível amplificar o fragmento de 157pb em todas as reações de PCR duplex, nas quais o DNA molde utilizado foi isolado a partir de materiais de referência certificados e amostras de alimentos orgânicos.

Em relação à detecção construção-específica da soja RR, a amplificação do fragmento de 125pb foi observada nas reações onde o DNA molde foi o material de referência certificado, apresentando 1% de soja GM e, na amostra A75 referente à soja orgânica em grãos (figura 2). De acordo com os requisitos para certificação do sistema orgânico de produção, previstos na lei 10.831/2003 (BRASIL, 2003b), a identificação de DNA recombinante na amostra de soja orgânica desqualifica o produto que apresentou resultado positivo.

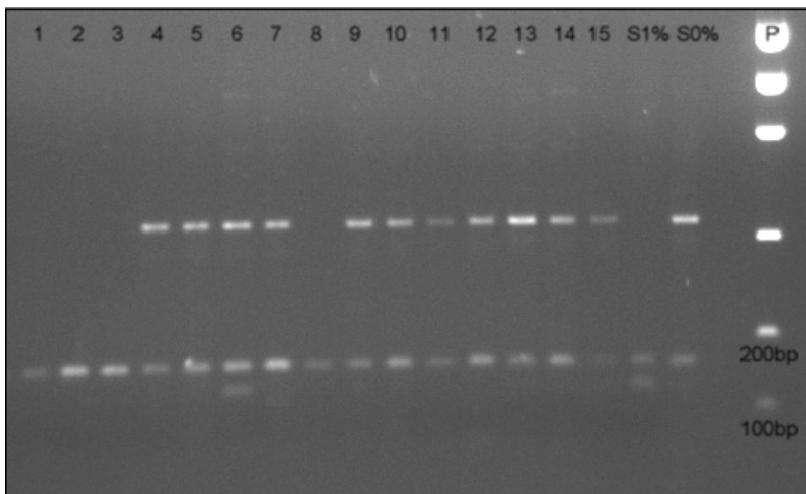


Fig. 2. Eletroforese em gel de agarose dos produtos de amplificação a partir de soja livre de OGM (S0%), soja certificada com 1% Roundup Ready (S1%), amostras negativas para soja Roundup Ready (raias 1 a 5 e 7 a 15), amostra positiva para soja Roundup Ready (raia 6).

A amostra de soja orgânica que apresentou resultado positivo para soja RR foi analisada por PCR quantitativo em tempo real, a fim de determinar o percentual de DNA recombinante derivado de OGM. O DNA molde desta amostra foi empregado na reação de PCR quantitativo em tempo real, utilizando-se sondas para detecção do amplicon correspondente ao gene *Le1* (endógeno) e do promotor 35S (alvo). Para construção da curva padrão foram utilizados os materiais de referência certificados para soja RR contendo 0,1%; 0,5%; 1,0%; 2,0% e 5,0%. Os valores em triplicata de *Ct*, média, desvio padrão e percentual de DNA recombinante derivado de OGM encontram-se descritos na tabela 4.

A análise quantitativa revelou a presença de 0,6% de DNA recombinante na amostra de soja orgânica A75 (figura 2, raia 6). A figura 3 apresenta a curva padrão obtida a partir da planilha GMO Analysis Macro™ v 1.7 (Applied Biosystems), com os valores de λ *Ct* versus %GMO do MRC, obtidos na análise por PCR em tempo real. Este percentual observado não exige rotulagem específica informando a natureza transgênica do produto de acordo com o Decreto 4680/2003, que estabelece o limite de 1% de OGM. Entretanto, a simples presença de OGM descharacteriza sua certificação como produto oriundo do sistema orgânico de produção.

Tabela 2. Indicadores de viabilidade econômica para fabricação de sucos clarificados (capacidade instalada de 10.000 ton/ano de polpa de fruta).

Amostra/padrão	Delta Ct	Média delta Ct	Desvio padrão delta Ct	%OGM
	9,54			
0,1% soja GM	9,96	9,88	0,3	0,1*
	10,14			
	8,56			
0,5% soja GM	8,46	8,41	0,07	0,4*
	8,2			
	6,97			
1,0% soja GM	7,29	7,2	0,23	1,0*
	7,34			
	6,35			
2,0% soja GM	6,05	6,21	0,212	2,0*
	6,24			
	4,75			
5,0% soja GM	4,96	4,91	0,15	5,5*
	5,02			
	9,54			
	7,52			
A75	8,1	7,93	0,41	0,6
	8,17			

* $r^2 = 0,9849$

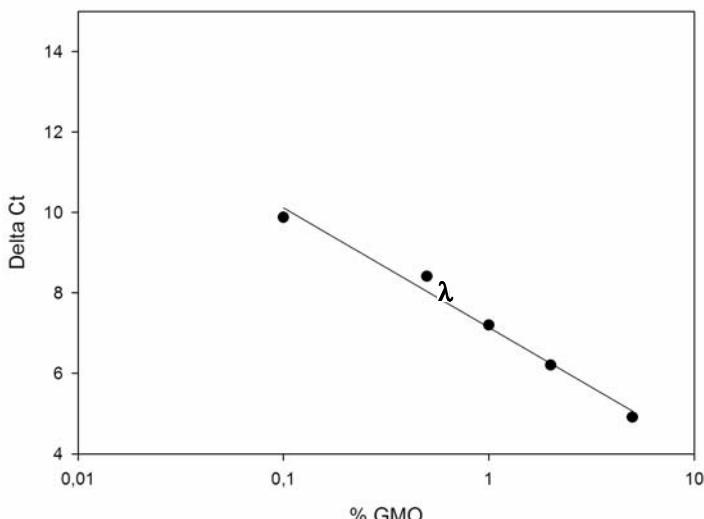


Fig. 3. Quantificação do percentual de DNA recombinante derivado de OGM na amostra A75 (soja orgânica em grãos). Análise de regressão linear (λ Ct X % OGM), a partir da curva padrão (materiais de referência certificados - λ) e amostra positiva para soja RR (λ).

A presença de eventos GM em produtos orgânicos do mercado Europeu foi relatada por Partridge e Murphy (2004) e Germini et al. (2004). Estes estudos descreveram a presença de soja RR e milho Bt 176, através de métodos baseados na detecção de proteínas/DNA derivados da modificação genética, respectivamente. Considerando o mercado brasileiro, poucos trabalhos relatam a investigação de OGMs em produtos alimentícios (BROD et al., 2007; CARDARELLI et al., 2005; GREINER; KONIETZNY, 2008). É importante enfatizar que nenhum destes trabalhos descreve a detecção de OGMs em alimentos do sistema orgânico de produção.

O percentual de DNA recombinante observado na amostra de soja orgânica (0,6%) avaliada neste trabalho, indica uma possível contaminação accidental ao longo da cadeia produtiva, possivelmente durante o plantio, cultivo, colheita, armazenamento, transporte e/ou processamento.

Considerações Finais

Através do desenho experimental aplicado nesse estudo, foi possível obter DNA de soja amplificável em todas as amostras de alimentos analisadas. Foi possível detectar a presença de soja RR em um dos 15 produtos orgânicos avaliados, o qual apresentou percentual de DNA recombinante derivado de OGM de 0,6%.

O baixo teor de DNA recombinante indica que a presença de soja GM é consequência de possível contaminação na cadeia produtiva desse produto. Os resultados apontam ainda para a necessidade de adoção de um sistema de monitoramento aplicado em todas as etapas da cadeia produtiva, a fim de garantir o monitoramento de todos os ingredientes incorporados à produção orgânica.

Além disso, faz-se necessário um programa eficaz de fiscalização e auditoria para a certificação de qualidade orgânica, assegurando aos consumidores que os alimentos com certificado do sistema orgânico de produção agropecuária sejam de fato livres de transgênicos. Dessa forma, depara-se com a urgência no desenvolvimento, validação e implementação de metodologias cada vez mais sensíveis e seletivas para a detecção de OGMs.

Referências Bibliográficas

BERTHEAU, Y.; DIOLEZ, A.; KOBILINSKY, A.; MAGIN, K. Detection methods and performance criteria for genetically modified organisms. *Journal of AOAC International*, v. 85, n. 3, p. 801-808, may/jun. 2002.

BRASIL. Decreto nº 4.680, de 24 de abril de 2003. Regulamenta o direito à informação, assegurado pela Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990, quanto aos alimentos e ingredientes alimentares destinados ao consumo humano ou animal que contenham ou sejam produzidos a partir de organismos geneticamente modificados, sem prejuízo do cumprimento das demais normas aplicáveis. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 abr. 2003a. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2003/D4680.htm>. Acesso em: 10 nov. 2007.

BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial [da]**

República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 24 abr. 2003b. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/L10.831.htm>. Acesso em: 10 nov. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 7, de 17 de maio de 1999. Estabelece as normas de produção, tipificação, processamento, envase, distribuição, identificação e de certificação da qualidade para os produtos orgânicos de origem vegetal e animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 19 maio 1999. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1662>>. Acesso em: 16 jan. 2007.

BROD, F. C. A.; FERRARI, C. dos S.; VALENTE, L. L.; ARISI, A. C. M. Nested PCR detection of genetically modified soybean in soybean flour, infant formula and soymilk. **LWT-Food Science and Technology**, v. 40, n. 4, p. 748-751, may 2007.

CARDARELLI, P.; BRANQUINHO, M. R.; FERREIRA, R. T. B.; CRUZ, F. P. da; GEMAL, A. L. Detection of GMO in food products in Brazil: the INCQS experience. **Food Control**, v. 16, n. 10, p. 859-866, dec. 2005.

EUROPEAN COMMISSION. Joint Research Centre. **The analysis of food sample for the presence of GMOs**. Luxembourg, 2003. 1 CD-ROM. Session 4.

GERMINI, A.; ZANETTI, A.; SALATI, C.; ROSSI, S.; FORRE, C.; SCHMID, S.; MARCHELLI, R. Development of a seven-target multiplex PCR for the simultaneous detection of transgenic soybean and maize in feeds and foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3275-3280, jun. 2004.

GREINER, R.; KONIETZNY, U. Presence of genetically modified maize and soy in food products sold commercially in Brazil from 2000 to 2005. **Food Control**, v. 19, n. 5, p. 499-505, may 2008. No prelo.

MEYER, R. Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. **Food Control**, v. 10, n. 6, p. 391-399, dec. 1999.

OBERMEYER, G.; FERREIRA, F. Can we predict or avoid the allergenic potential of genetically modified organisms? **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 137, n. 2, p. 151-152, 2005.

PARTRIDGE, M.; MURPHY, D. J. Detection of genetically modified soya in a range of organic and health food products: Implications for the accurate labeling of foodstuffs derived from potential GM crops. **British Food Journal**, v. 106, n. 3, p. 166-180, 2004.

PEANO, C.; SAMSON, M. C.; PALMIERI, L.; GULLI, M.; MARMIROLI, N. Qualitative and quantitative evaluation of the genomic DNA extracted from GMO and Non-GMO foodstuffs with four different extraction methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 23, p. 6962-6968, 2004.

ROTT, M. E.; LAWRENCE, T. S.; WALL, E. M.; GREEN, M. J. Detection and quantification of roundup ready soy in foods by conventional and real-time polymerase chain reaction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 16, p. 5223-5232, 2004.

SCHILTER, B.; CONSTABLE, A. Regulatory control of genetically modified (GM) foods: likely developments. **Toxicology Letters**, v. 127, n. 1-3, p. 341-349, 2002.

SIDERER, Y.; MAQUET, A.; ANKLAN, E. Need for research to support consumer confidence in the growing organic food market. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 8, p. 332-343, 2005.

TENGEL, C.; SCHUBLER, P.; SETZKE, E.; BALLES, J.; SPRENGER-HAUBLES, M. PCR-based detection of genetically modified soybean and maize in raw and highly processed foodstuffs. **BioTechniques**, v. 31, n. 2, p. 426-429, aug. 2001.

TERRY, C. F.; HARRIS, N.; PARKES, H. C. Detection of genetically modified crops and their derivatives: critical steps in sample preparation and extraction. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 3, p. 768-774, may 2002.



Agroindústria de Alimentos