

## 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 Morais 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](http://www.ctaa.embrapa.br)

E-mail: [sac@ctaa.embrapa.br](mailto:sac@ctaa.embrapa.br)

**Comitê Local de Publicações e Editoração da Unidade**

Presidente: Virgínia Martins da Matta

Membros: Marcos José de Oliveira Fonseca, Marília Penteado Stephan,  
Renata Torrezan, Ronoel 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

**1ª edição**

1ª 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, Othiel. 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

<b>Introdução .....</b>	<b>09</b>
<b>Materiais e Métodos .....</b>	<b>11</b>
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
<b>Resultados e Discussão .....</b>	<b>15</b>
<b>Considerações Finais .....</b>	<b>20</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>20</b>



# Identificação e Quantificação de Soja Transgênica em Alimentos Orgânicos

---

*Edna Maria Morais 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 nucleicos 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 nucleicos, 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 nucleicos 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), tofú (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 liquidificador 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 sílica 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 (TENDEL 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 (hidroclorato 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 sequência 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 MgCl<sub>2</sub>, 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)	ATGGGCTTGCCTTCTTTCT	Gene lectina	157
SL rev (lectina)	CCGATGTGTGGATTGGTG	Gene lectina	
P-E35S for (soja RR)	CATTTTCATTGGAGAGGACACG	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.
<b>Nº de ciclos: 40</b>		
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  $\lambda$  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 Macro™ 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  $\lambda$  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.



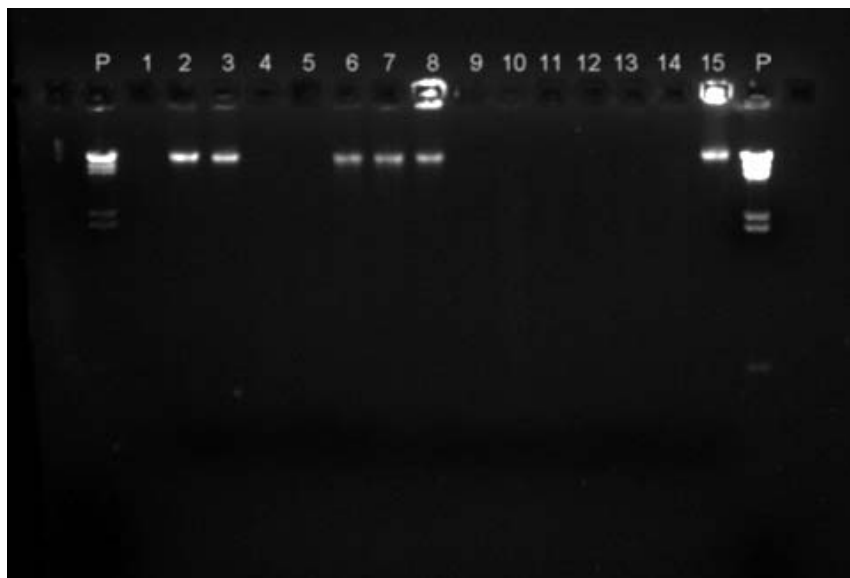
## Resultados e Discussão

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

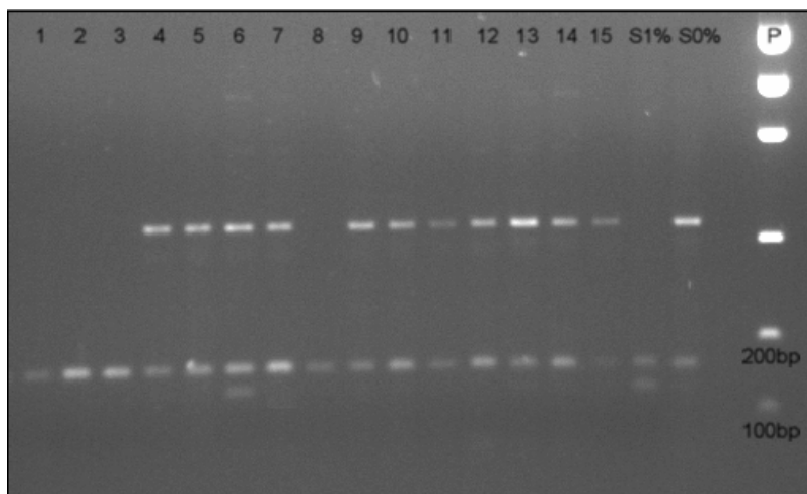
A análise em gel de agarose (1,5%) dos extratos de DNA obtidos a partir das amostras avaliadas encontra-se descrita na figura 1. Observou-se a presença da banda correspondente ao DNA genômico da soja somente nas amostras de soja em grão (raias 2, 3, 6, 7, 8, e 15), possivelmente em virtude do efeito 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  $\lambda$  digerido com HindIII; 1: farinha de soja orgânica; 2, 3, 6, 7, 8 e 15: soja orgânica em grãos; 4, 14: tofú 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).

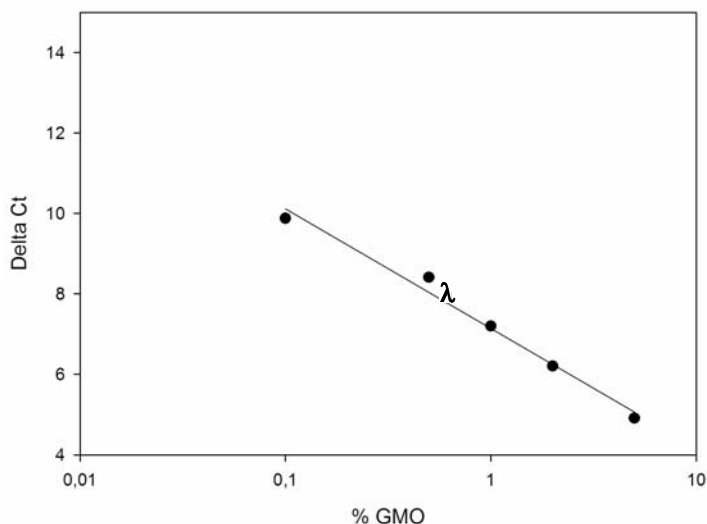
A amostra de soja orgânica que apresentou resultado positivo para soja RR foi analisada por PCR quantitativo em tempo real, a fim de determinar o percentual de DNA recombinante derivado de OGM. O DNA molde desta amostra foi empregado na reação de PCR quantitativo em tempo real, utilizando-se sondas para 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  $\lambda$  *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 descaracteriza 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 ( $\lambda$ Ct X % OGM), a partir da curva padrão (materiais de referência certificados -  $\lambda$ ) e amostra positiva para soja RR ( $\lambda$ ).

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 acidental 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](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](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.; BALLE, 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*