

ALIMENTOS GENETICAMENTE MODIFICADOS: AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA E MELHORIAS DE QUALIDADE EM DESENVOLVIMENTO

EDSON WATANABE¹, MARILIA REGINI NUTTI²

¹*Pesquisador da Embrapa Agroindústria de Alimentos. Av. das Américas, 29501 - Guaratiba. CEP 23020-470 Rio de Janeiro, RJ. E-mail: edswat@ctaa.embrapa.br (autor para correspondência).*

²*Chefe Geral da Embrapa Agroindústria de Alimentos. Av. das Américas, 29501 - Guaratiba. CEP 23020-470 Rio de Janeiro, RJ.*

Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.1, n.1, p.1-14, 2002

RESUMO - A utilização de estudos toxicológicos com animais na avaliação de segurança de compostos como pesticidas e aditivos alimentares encontra-se bem estabelecida. Nestes casos, animais são alimentados diretamente com esses compostos, em doses muito superiores ao nível de exposição esperado para consumo humano, estabelecendo-se limites seguros, através da aplicação de fatores de segurança apropriados. Já os alimentos, devido à ampla variação em sua composição e valor nutricional, além de seu volume e efeito na saciedade, só podem ser fornecidos a animais em quantidades equivalentes a um baixo número de múltiplos daquelas quantidades que provavelmente estariam presentes em uma dieta humana. Assim, as dificuldades para se aplicar testes toxicológicos tradicionais a alimentos fizeram com que uma abordagem alternativa fosse requerida para a avaliação de segurança de alimentos geneticamente modificados, o que levou a OECD, em 1993, a formular o conceito de equivalência substancial. O artigo trata, na forma de uma pequena revisão, dos principais componentes da avaliação de segurança de alimentos geneticamente modificados, que é direcionada pelo estabelecimento de sua equivalência substancial. Apresenta, de maneira breve, outros tópicos relacionados ao assunto, como rotulagem e a utilização, no processo de transformação, de genes marcadores que conferem resistência a antibióticos. Discute também a utilização da modificação genética no desenvolvimento de plantas com algum tipo de melhoria em sua qualidade nutricional ou em suas características pós-colheita; são apresentados exemplos de produtos em desenvolvimento nos Estados Unidos, onde milhares de testes de campo estão autorizados.

Palavras-chave: alimentos geneticamente modificados, segurança alimentar, qualidade.

GENETICALLY MODIFIED FOODS: SAFETY ASSESSMENT AND QUALITY TRAITS UNDER DEVELOPMENT

ABSTRACT - The use of toxicological animal models for the safety assessment of compounds such as pesticides and food additives is well established. In these cases, animals are directly fed such compounds at a range of doses some several orders of magnitude greater than the expected for human consumption and safe intake levels are estimated by the application of appropriate safety factors. Whole foods, however, due to their variation in composition and nutritional value, and their bulk and effect on satiety, can usually only be fed to animals at low multiples of the amounts that might be present in the human diet. Thus, the difficulties of applying traditional toxicological tests to whole foods required the development of an alternative approach for the safety evaluation of genetically modified foods. Such a task was carried out by the

OECD, which formulated, in 1993, the concept of substantial equivalence. This article, a short review, describes the major components of the safety evaluation of genetically modified foods, which is directed by the establishment of the substantial equivalence. It also briefly presents other topics related to the subject, such as labeling and the use of antibiotic resistance marker genes during the transformation process. The use of genetic modification in the development of plants with improved nutritional quality and better post-harvesting characteristics is discussed; examples of products under development in the USA, where thousands of field tests have been authorized, are presented herein.

Key words: genetically modified foods, food safety, quality.

Historicamente, um alimento preparado e utilizado de maneira tradicional é considerado seguro com base na experiência adquirida ao longo do tempo. Em princípio, presume-se que um alimento seja seguro, a não ser que um perigo significativo tenha sido identificado (Tomlinson, 2000). Ao mesmo tempo, reconhece-se que alimentos podem conter vários antinutrientes e toxinas que, em determinados níveis de consumo, podem induzir efeitos deletérios em seres humanos e animais (Kuiper *et al.*, 2001). Muitos alimentos tradicionais são considerados seguros, embora esses mesmos alimentos possam não ser seguros sob determinadas circunstâncias. Entretanto, no que se refere à tecnologia de alimentos, a introdução de novas tecnologias sempre foi acompanhada de controvérsia (IFT, 2000a).

No desenvolvimento de uma metodologia para a avaliação de segurança de novos alimentos, era essencial estabelecer uma definição de alimento seguro. Segundo a OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*), um alimento é considerado seguro se houver certeza razoável (“*reasonable certainty*”) de que nenhum dano resultará de seu consumo, sob condições previstas de uso (WHO, 2000).

Na prática, poucos alimentos convencionais (não geneticamente modificados) hoje consumidos foram submetidos a quaisquer testes toxicológicos. Mesmo assim, esses alimentos são geralmente aceitos como seguros (Tomlinson, 2000). Contudo, muitos dos alimentos convencionais hoje existentes

provavelmente apresentariam efeitos adversos se pudessem ser consumidos em doses suficientemente altas (Donaldson & May, 1999).

Produtos geneticamente modificados não são inerentemente perigosos. A modificação genética tem sido utilizada na produção de produtos farmacêuticos há 25 anos, sem que tenham sido documentados casos de perigos atribuídos ao processo de modificação genética. Trezentos milhões de consumidores norte-americanos têm consumido muitos alimentos geneticamente modificados, cultivados em mais de cem milhões de acres desde 1994. Novamente, não existem casos documentados de perigos atribuíveis ao processo pelo qual os produtos geneticamente modificados foram desenvolvidos (McHughen, 2000).

A atual discussão sobre o uso de organismos geneticamente modificados está concentrada em alguns produtos agrícolas, que chegaram ao mercado nos últimos cinco anos, como resultado da “primeira onda” da engenharia genética. Esses produtos, que apresentam características como tolerância a herbicidas e resistência a insetos, trouxeram pequenos benefícios aos consumidores. A “segunda onda” (alimentos funcionais) trará ao mercado produtos com novas características, que promovem melhoras na saúde do consumidor, como a soja com alto conteúdo de ácido oleico. Mas a maior revolução na produção agrícola é esperada com a “terceira onda” (biofábricas), que trará produtos contendo medicamentos e outros componentes importantes

para a saúde humana e produção animal, o que poderia resultar numa “revolução da saúde” promovida por produtos geneticamente modificados (Portugal *et al.*, 2001).

Entretanto, enquanto populações de países como o Brasil ainda não podem se beneficiar das vantagens oferecidas pela utilização de plantas geneticamente modificadas, estão autorizados, nos Estados Unidos, milhares de testes de campo para o estudo de novas variedades de plantas geneticamente modificadas, muitos dos quais fazem parte de estudos que visam algum tipo de melhoria em sua qualidade nutricional ou de suas características pós-colheita.

A avaliação de segurança de produtos químicos

A avaliação de segurança de substâncias como aditivos alimentares, resíduos de pesticidas e contaminantes de alimentos é conduzida de acordo com o paradigma: identificação do perigo, caracterização do perigo e avaliação da exposição ao perigo. É necessário fazer uma distinção clara entre perigo e risco, pois, neste contexto, as duas palavras não são sinônimos. Segundo as definições elaboradas pela WHO (*World Health Organization*), juntamente com a FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), perigo é o potencial de um agente biológico, químico ou físico presente no alimento, ou uma condição do alimento, causar um efeito adverso à saúde; o risco é definido como uma função da probabilidade do efeito adverso à saúde ocorrer como consequência do perigo, e a severidade desse efeito. Dessa forma, o risco depende do nível de exposição ao perigo, e a existência do perigo, por si só, não implica risco apreciável (Walker, 2000).

Estratégias para a avaliação de segurança desses tipos de produtos químicos, que podem estar presentes em alimentos, foram desenvolvidas

conjuntamente pela FAO, WHO e o IPCS (*International Program on Chemical Safety*), e focam no estabelecimento de um nível de ingestão diária por humanos, com base no peso corporal, que não causaria risco apreciável (*acceptable daily intake*, ADI). Para isso, antes é necessário determinar o nível de ingestão abaixo do qual o efeito tóxico não é aparente (*no observed adverse effect level*, NOAEL), o que envolve uma bateria de testes toxicológicos (estudos de toxicidade aguda, subcrônica e crônica, genotoxicidade, carcinogenicidade, imunotoxicidade, reprodução etc.). A partir desses estudos, a maioria realizada com animais de laboratório, determina-se o NOAEL e, pela aplicação de um fator de segurança, deriva-se a ADI. Em muitos casos, um fator de segurança de 100 é utilizado, compensando diferenças de sensibilidade entre animais de laboratório e humanos e diferenças dentro da população humana. Dependendo dos dados disponíveis e da substância em estudo, fatores de segurança mais altos ou mais baixos podem ser aplicados. O uso de fatores de segurança relativamente altos no estabelecimento da ADI provavelmente resulta numa estimativa exagerada do verdadeiro risco envolvido, o que pode ser considerado como uma primeira abordagem de segurança (Kuiper *et al.*, 2001).

Estudos toxicológicos com animais de laboratório constituem um dos principais componentes da avaliação de segurança de produtos químicos. Na maioria dos casos, entretanto, a substância teste é bem caracterizada, de pureza conhecida, de nenhum valor nutricional particular e a exposição de humanos à mesma é geralmente baixa (Donaldson & May, 1999).

Os alimentos, por sua vez, constituem misturas complexas de vários compostos, e são caracterizados por uma ampla variação na composição e valor nutricional. Devido ao seu volume e efeito de saciedade, os alimentos são usualmente fornecidos

a animais em quantidades equivalentes a um baixo número de múltiplos daquelas quantidades que provavelmente estariam presentes em uma dieta humana, o que implica baixos fatores de segurança. Há, ainda, que se considerar em maior profundidade o valor nutricional do alimento e, conseqüentemente, o balanceamento das dietas utilizadas. A detecção de quaisquer efeitos adversos potenciais e o relacionamento destes a uma característica individual do alimento pode ser, entretanto, extremamente difícil (Donaldson & May, 1999; WHO, 2000).

Assim, as dificuldades para a aplicação de testes toxicológicos tradicionais e procedimentos de avaliação de risco a alimentos fizeram com que uma abordagem alternativa fosse requerida para a avaliação de segurança de alimentos geneticamente modificados, o que levou ao desenvolvimento do conceito de equivalência substancial (WHO, 2000).

O conceito de equivalência substancial

Em 1993, a OECD formulou o conceito de equivalência substancial (ES) como uma ferramenta a ser utilizada como guia na avaliação de segurança de alimentos geneticamente modificados, a qual tem sido aperfeiçoada ao longo dos anos (FAO/WHO, 1996). O conceito de ES faz parte de uma estrutura de avaliação de segurança que se baseia na idéia de que alimentos já existentes podem servir como base para a comparação do alimento geneticamente modificado com o análogo convencional apropriado (Kuiper *et al.*, 2001).

Tal abordagem não se destina ao estabelecimento da segurança absoluta, que é uma meta inatingível para qualquer alimento. O objetivo é garantir que o alimento, e quaisquer substâncias que nele tenham sido introduzidas como resultado de modificação genética, sejam tão seguros quanto seus análogos convencionais (WHO, 2000). Hoje, o conceito de ES é associado quase que somente à avaliação de plantas geneticamente modificadas, mas

também poderia ser expandido para outros organismos geneticamente modificados ou organismos modificados por outras biotécnicas ou melhoramento tradicional (Pedersen, 2000).

A aplicação do conceito não constitui, por si só, a avaliação de segurança, mas auxilia na identificação de similaridades e possíveis diferenças entre o alimento convencional e o novo produto, que é então submetido a avaliação toxicológica adicional (Kuiper *et al.*, 2001).

Os fatores considerados incluem a identidade, fonte e composição do organismo geneticamente modificado, os efeitos do processamento/cozimento sobre alimento geneticamente modificado, o processo de transformação, o produto da expressão da proteína do novo DNA (em que são avaliados os efeitos na função, a potencial toxicidade e a potencial alergenicidade), possíveis efeitos secundários da expressão do gene (que incluem a composição em macro e micronutrientes críticos, antinutrientes, fatores tóxicos endógenos, alérgenos e substâncias fisiologicamente ativas), ingestão potencial e impacto da introdução do alimento geneticamente modificado na dieta. O tipo e a extensão de estudos adicionais dependem da natureza das diferenças observadas e se estas podem ser ou não bem caracterizadas (WHO, 2000).

O estabelecimento da ES pode resultar em três possíveis cenários: 1) o alimento ou ingrediente alimentar geneticamente modificado é substancialmente equivalente ao análogo convencional, quanto à sua composição e aos seus aspectos agrônômicos e toxicológicos; 2) o alimento geneticamente modificado ou ingrediente alimentar é substancialmente equivalente ao análogo convencional, exceto por algumas poucas diferenças claramente definidas; 3) o alimento geneticamente modificado ou ingrediente alimentar não é substancialmente equivalente, porque diferenças não podem ser definidas ou porque o análogo convencional não existe (Donaldson & May, 1999).

No primeiro cenário, não são requeridos testes específicos adicionais, uma vez que o produto foi caracterizado como substancialmente equivalente a um análogo convencional, cujo consumo é considerado seguro (por exemplo, amido de batata). No segundo cenário, a equivalência substancial é constatada, a não ser pela característica inserida, fazendo com que o foco da avaliação de segurança seja direcionado para essa característica (por exemplo, uma proteína com propriedade inseticida em um tomate geneticamente modificado). Neste caso, a avaliação de segurança deverá incluir testes específicos de toxicidade (de acordo com a natureza e a função da nova proteína expressa), assim como estudar a ocorrência de efeitos não intencionais, o potencial de transferência de genes do alimento geneticamente modificado para a flora intestinal humana/animal, a potencial alergenicidade das novas características introduzidas e o papel do novo alimento na dieta. No terceiro cenário, uma avaliação do novo alimento, definida caso a caso, deverá ser realizada de acordo com as características do novo produto (Kuiper *et al.*, 2001).

O fato de um alimento geneticamente modificado ser substancialmente equivalente ao seu análogo convencional não significa que o mesmo seja seguro, nem elimina a necessidade de se conduzir uma avaliação rigorosa para garantir a segurança do mesmo antes que sua comercialização seja permitida. Por outro lado, a não constatação de ES não significa que o alimento geneticamente modificado não seja seguro, mas que há necessidade de se prover dados de maneira extensiva, que demonstrem sua segurança (Donaldson & May, 1999).

O material genético inserido e a proteína expressa pelo novo gene

A primeira etapa da avaliação é o exame detalhado da modificação genética. Vários métodos diferentes para a introdução de material genético

novo em organismos vivos são atualmente utilizados. Em plantas, os dois métodos mais comuns são: o bombardeamento de partículas e a transformação mediada por *Agrobacterium* (ANZFA, 2000).

A completa caracterização do material genético inserido inclui a identificação da fonte do material genético, para se verificar se é proveniente de uma fonte patogênica, tóxica ou alergênica. Os principais parâmetros a serem avaliados são: o tamanho do material genético inserido, o número de genes inseridos, a localização da inserção e a identificação das seqüências marcadoras do material genético construído para inserção, que permitem sua detecção (genes marcadores) e expressão (promotor) (IFT, 2000b).

Uma vez que o material genético tenha sido completamente caracterizado, é preciso avaliar a segurança da proteína expressa pelo gene inserido, geralmente uma enzima. Inicialmente, a nova proteína, depois de purificada, é caracterizada, determinando-se sua identidade, concentração, força, pureza e composição (Hammond *et al.*, 1996).

A demonstração de ausência de homologia na seqüência de aminoácidos com relação a alérgenos e toxinas conhecidos e uma rápida degradação proteolítica sob condições simuladas de digestão eram consideradas suficientes para se assumir a segurança da nova proteína (FAO/WHO, 1996). Entretanto, pode haver circunstâncias em que um estudo mais extensivo da nova proteína seja requerido. Frequentemente, a expressão da nova proteína na planta geneticamente modificada ocorre em níveis muito inferiores aos necessários para a realização de testes extensivos. Assim, quantidades suficientes são obtidas a partir de sistemas de expressão bacterianos, o que implica a potencial presença de impurezas tóxicas e a possibilidade de que a glicosilação, durante o processamento da proteína, seja diferente em bactérias e plantas. Nesses casos,

é importante demonstrar que a produção da proteína em um hospedeiro alternativo não provoca diferenças em sua toxicidade (Kuiper *et al.*, 2001).

A avaliação de segurança da proteína expressa inclui as seguintes etapas: busca de similaridade com outras toxinas, alergênicos, fatores antinutricionais e outras proteínas funcionais, termoestabilidade e digestibilidade, testes toxicológicos *in vitro* e *in vivo*, e avaliação do potencial alergênico *in vivo* e *in vitro* (IFT, 2000b). Técnicas moleculares e bioquímicas padrões são utilizadas para verificar se o tamanho de qualquer produto novo do gene está de acordo com o esperado e também para quantificar tais produtos em tecidos específicos. A presença e a quantidade de novas proteínas em frações específicas ou componentes de variedades geneticamente modificadas utilizadas como alimento ou na preparação de alimentos podem ser relevantes para a segurança alimentar. Na maioria dos casos, todos esses pontos são considerados em maiores detalhes em etapas subsequentes da avaliação (ANZFA, 2000).

A segurança de novas proteínas inseridas por modificação genética tem sido avaliada caso a caso. Deve ser observado que o consumo de proteínas transgênicas virais, presentes em produtos agrícolas aprovados no Canadá e nos Estados Unidos, foi assumido como seguro com base no histórico de ingestão de vírus encontrados em plantas selvagens (Kuiper *et al.*, 2001).

Estudos toxicológicos com animais

Estudos com animais, análogos aos testes convencionais de toxicidade realizados para aditivos alimentares, podem ser necessários para a obtenção de informações sobre as características de novas proteínas expressas em alimentos (Kuiper *et al.*, 2001).

Se a proteína foi purificada a partir de um sistema de expressão como *E. Coli*, é necessário,

inicialmente, determinar sua equivalência à proteína vegetal com relação a alguns parâmetros, como peso molecular, imunorreatividade, ausência de glicosilação e atividade enzimática. Depois, é realizado um estudo de toxicidade oral aguda (“*acute mouse gavage*”), em que a proteína expressa é inserida com uma seringa diretamente no estômago do animal (Harrison *et al.*, 1996).

Se existir a possibilidade de que mudanças relevantes na composição do alimento possam ocorrer, em adição às mudanças desejadas, estudos em que animais são alimentados com o produto que foi genericamente modificado devem ser considerados. Entretanto, tais estudos devem ser analisados caso a caso, levando-se em consideração suas limitações, já discutidas neste trabalho. O requerimento mínimo necessário para demonstrar a segurança do consumo do alimento a longo prazo é a realização de um estudo subcrônico de 90 dias. Estudos mais longos podem ser necessários se os resultados do estudo subcrônico indicarem efeitos adversos (Kuiper *et al.*, 2001).

Alergenicidade

Alergias alimentares são reações adversas provocadas por um alimento, ou por um de seus componentes, o que envolve uma resposta anormal do sistema imunológico do organismo a proteínas específicas. As alergias alimentares atingem 2% da população mundial e, em alguns casos, podem levar a choques anafiláticos (OECD, 1997). Os tipos mais comuns de alergias a alimentos são mediados por anticorpos da classe IgE. Alimentos comumente alergênicos (amendoim, soja, leite, ovos, peixe, crustáceos, trigo e castanhas) respondem por 90% de todas as reações alérgicas a alimentos, de moderadas a severas. Quase todos os alergênicos alimentares são proteínas. Não há um grande número de alergênicos potenciais no suprimento de alimentos, mas novos alimentos alergênicos são às vezes introduzidos no mercado (WHO, 2000).

Até o momento, não se tem conhecimento de nenhum produto agrícola ou alimento geneticamente modificado aprovado que tenha causado alergias. A tecnologia de modificação genética oferece a oportunidade de reduzir ou eliminar alergênicos protéicos que ocorrem naturalmente em alimentos específicos (WHO, 2000). Pesquisadores têm trabalhado para retirar alergênicos naturalmente presentes em trigo, leite e até mesmo amendoim. Assim, a biotecnologia tem trabalhado para reduzir problemas com alergias alimentares e não para agravá-los (Avery, 2000).

Uma árvore de decisões para a avaliação do potencial de alergenicidade de novas proteínas em alimentos geneticamente modificados foi desenvolvida, em 1996, pelo Conselho Internacional de Biotecnologia de Alimentos e pelo Instituto de Alergia e Imunologia do ILSI (*International Life Sciences Institute*). Tal processo de decisão foi posteriormente revisado, em 2001, pelos peritos que participaram da consulta conjunta da FAO/WHO sobre alimentos derivados da biotecnologia (WHO, 2001).

Segundo a versão revisada da árvore de decisões, quando a fonte da nova proteína é sabidamente alergênica, a similaridade da seqüência com alérgenos conhecidos e subsequente teste específico *in vitro* com soros de pacientes alérgicos à fonte da proteína são recomendados. Considera-se positivo o resultado da similaridade da seqüência quando for obtida identidade superior a 35% entre as seqüências de aminoácidos da proteína expressa e de um alérgeno conhecido, ou quando for observada identidade numa seqüência de seis aminoácidos contíguos (Kuiper *et al.*, 2001).

A nova árvore de decisões, ao contrário da versão anterior, não faz distinção entre fontes comumente alergênicas e fontes menos comumente alergênicas, no que diz respeito aos testes com soro *in vitro*. Qualquer resultado positivo define o produto como sendo alergênico, levando à interrupção

do desenvolvimento do produto. Um resultado negativo implica a realização de testes *in vitro* adicionais, realizados com soro de pacientes hipersensibilizados a certos grupos de alérgenos relacionados à fonte original do gene; implica também o teste de resistência da proteína expressa à digestão pela pepsina (“*digestive fate*”) e a determinação da imunogenicidade em modelos animais. Testes *in vivo* com humanos podem ser considerados em alguns casos, porém não são obrigatórios. No caso da nova proteína proceder de uma fonte não reconhecida como alergênica, a árvore de decisões busca a similaridade da seqüência com alérgenos conhecidos e subsequente teste *in vitro* com soro de pacientes hipersensibilizados àqueles grupos de alérgenos relacionados à fonte original do gene. A proteína é considerada alergênica quando for verificada homologia da seqüência e o resultado do teste com soro for positivo. Quando os resultados forem negativos, testes adicionais de resistência da nova proteína à digestão pela pepsina e testes de imunogenicidade em modelos animais podem indicar a alta ou baixa probabilidade do potencial alergênico da nova proteína (Kuiper *et al.*, 2001).

Composição do alimento

Muitas plantas utilizadas como alimento contêm toxinas naturais, cujos níveis podem variar amplamente entre diferentes linhagens da mesma espécie. Esses níveis também podem variar entre plantas de uma mesma linhagem, como resultado da influência de fatores externos, como clima, estação do ano e local onde a planta foi cultivada (WHO, 1991).

Para a determinação da equivalência substancial, a composição do alimento geneticamente modificado deverá ser comparada à composição de seu análogo convencional, preferencialmente a linhagem parental direta, que, em alguns casos, não está disponível. Nesses casos, a OECD defende o uso de várias linhagens-controle para determinar se

quaisquer diferenças observadas são devidas a efeitos secundários da modificação genética. Análises de composição devem ser realizadas em plantas geneticamente modificadas e seus respectivos análogos convencionais/linhagens-controle que tenham se desenvolvido sob condições ambientais similares, uma vez que estas podem levar a diferenças na composição não relacionadas à modificação genética. Ao mesmo tempo, é necessário avaliar a nova variedade geneticamente modificada em diferentes locais (diferentes condições ambientais) e durante temporadas subsequentes (diferentes condições climáticas), com a finalidade de verificar se não houve alteração de rotas metabólicas, com possíveis efeitos adversos na composição da planta (Kuiper *et al.*, 2001).

As análises para a determinação da composição de alimentos geneticamente modificados e seus derivados devem focar o conteúdo de nutrientes-chave (macro e micronutrientes), de componentes tóxicos-chaves e de fatores antinutricionais-chaves. Uma análise de composição típica compreende: composição centesimal (cinzas, umidade, proteínas, lipídios, fibras e carboidratos) e perfis de aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, vitaminas e minerais. O análogo convencional deve refletir a composição centesimal média encontrada em alimentos convencionais semelhantes, seu consumo, sua importância na dieta e seus efeitos no processamento (ANZFA, 2000).

Outros componentes presentes em alimentos específicos também podem ser quantificados se apresentarem efeitos biológicos potencialmente benéficos, como as isoflavonas da soja. Também deve ser verificada a ocorrência de quaisquer antinutrientes conhecidos, naturalmente presentes no alimento, para se ter certeza de que os níveis dos mesmos não tenham aumentado significativamente, como resultado da modificação genética, em relação aos níveis encontrados em variedades convencionais. Para alimentos processados, a comparação pode também

ser realizada entre o alimento derivado de OGM processado e o análogo convencional processado. Com relação aos antinutrientes, o processamento também deve ser considerado, uma vez que o mesmo pode inativar fatores antinutricionais presentes no alimento não processado (ANZFA, 2000).

Estudos de equivalência nutricional

Na avaliação de segurança de alimentos geneticamente modificados, além dos estudos de composição e da avaliação de segurança da nova proteína introduzida, expressa pelo gene inserido, outro componente a ser considerado é a avaliação de sua equivalência nutricional. Esta avaliação é realizada através de estudos em que animais (como ratos, peixes, frangos, porcos e gado) são alimentados com rações produzidas a partir do organismo geneticamente modificado (Sidhu *et al.*, 2000).

No caso de uma soja desenvolvida para ser tolerante a um herbicida específico, estudos com animais foram conduzidos com a finalidade de prover suporte adicional à aceitação comercial dessa nova variedade de soja, embora sua equivalência a variedades comerciais já tivesse sido confirmada através de estudos de composição. Neste estudo, a linhagem de soja parental não modificada foi comparada com duas linhagens geneticamente modificadas, tendo sido constatado que estas são nutricionalmente equivalentes à linhagem parental, ou seja, a incorporação genética da tolerância ao herbicida não altera sua "saudabilidade". Este tipo de estudo não é normalmente utilizado na avaliação de qualidade de novas variedades de soja desenvolvidas através de técnicas convencionais de melhoramento genético (Hammond *et al.*, 1996).

Resistência a antibióticos

Desde o advento da tecnologia da modificação genética, pesquisadores têm utilizado genes que conferem resistência a antibióticos como

marcadores seletivos do processo, o que deu início à inquietação de que o uso difundido desses genes em plantas poderia aumentar a resistência a antibióticos de patógenos que provocam infecções em humanos (Transgenic Plants and World Agriculture, 2000).

O uso desse tipo de marcadores não se presta a nenhum propósito específico no produto final, ou seja, a planta modificada. Na verdade, já é possível remover tais marcadores após o passo inicial de multiplicação em bactérias, antes da introdução do novo DNA na planta receptora. Atualmente, está se tornando prática comum o uso de sistemas marcadores alternativos, ou a subsequente remoção do gene que confere resistência a antibióticos (Donaldson & May, 1999).

Uma questão relevante a ser considerada é a avaliação das consequências da transferência gênica horizontal, se esta ocorrer. Assim, informações sobre o papel do antibiótico em humanos, seu uso veterinário, seu espectro terapêutico específico, os níveis de resistência existentes no ambiente e as possíveis alternativas para o tratamento de doenças devem estar disponíveis (Kuiper *et al.*, 2001).

Entretanto, não existe nenhuma evidência definitiva de que genes para resistência a antibióticos utilizados como marcadores provoquem danos à saúde humana, e considera-se que a transferência desses genes para bactérias presentes no intestino humano a partir de plantas seja muito improvável. Contudo, esta hipótese não pode ser descartada (Donaldson & May, 1999).

A transferência do DNA de plantas para células microbianas ou de mamíferos, sob circunstâncias normais de exposição através da dieta, requereria que todos os seguintes eventos ocorressem: o gene (ou genes) relevante do DNA da planta teria que ser liberado, provavelmente, como um fragmento linear; o gene (ou genes) teria que sobreviver às nucleases na planta e no trato gastrointestinal; o

gene (ou genes) teria que competir com o DNA da dieta para ser transferido; as bactérias receptoras ou células de mamíferos teriam que ser competentes para a transformação e os genes teriam que sobreviver às suas enzimas de restrição; o gene (ou genes) teria que ser inserido no DNA hospedeiro por um raro reparo ou eventos de recombinação (WHO, 2000).

Rotulagem

À medida que a discussão sobre as questões de comércio internacional relacionadas à biotecnologia se intensifica, observa-se a crescente necessidade de se distinguir alimentos geneticamente modificados daqueles que não foram geneticamente modificados. Em vários países, a legislação para a rotulagem de alimentos estabelece limites permissíveis de OGMs, os chamados “*threshold levels*”. Assim, alimentos que contêm ingredientes geneticamente modificados em níveis acima do permitido devem ser rotulados como “geneticamente modificados” (Erickson, 2000).

Na União Européia, alimentos que contêm uma porcentagem superior a 1% de soja ou milho geneticamente modificado devem ser rotulados. No Japão, foi estabelecido o nível de 5% para a soja e, no caso do milho, devido à potencial polinização cruzada, nenhuma porcentagem foi estabelecida. Nos Estados Unidos, não existe nenhum requerimento obrigatório para a rotulagem de alimentos geneticamente modificados. O FDA mantém a posição de que, se alimentos geneticamente modificados são substancialmente equivalentes aos seus análogos convencionais, nenhum tipo de rotulagem é requerida, a não ser nos casos em que o conteúdo nutricional tenha sido alterado ou quando o produto contenha alergênicos conhecidos (Erickson, 2000).

No Brasil, o Decreto No. 3.871, de 18 de julho de 2001, estabelece que deverão ser rotulados os alimentos embalados, destinados ao consumo humano, que contenham ou sejam produzidos

com organismo geneticamente modificado, com presença acima do limite de 4% do produto. O rótulo deverá apresentar a expressão “(tipo do produto) geneticamente modificado” ou “contém (tipo do ingrediente) geneticamente modificado”.

Contudo, a rotulagem pode não ser requerida para alimentos que não contêm quantidades mensuráveis da nova proteína ou DNA (Beever & Kemp, 2000), como é o caso de alguns ingredientes alimentares altamente refinados (por exemplo, sacarose e óleos vegetais), uma vez que qualquer material genético e proteína que possam estar presentes são destruídos e removidos durante o processo de refino; assim, o produto final que entra na composição do alimento não é, em si, modificado e, portanto, não pode ser distinguido daquele produzido através de meios convencionais (Donaldson & May, 1999).

A utilização da modificação genética na melhoria da qualidade de alimentos

Nos dias de hoje, enquanto populações de países como o Brasil ainda não podem se beneficiar das vantagens oferecidas pela utilização de plantas geneticamente modificadas em sua alimentação, estão autorizados, nos Estados Unidos, 7.701 testes de campo para o estudo de novas variedades de plantas geneticamente modificadas (NBIAP, 2001). É importante ressaltar que, desses testes de campo, 1.486 são referentes a algum tipo de melhoria na qualidade do planta, quer seja pela alteração de sua composição nutricional, quer seja pelas modificação de suas características de pós-colheita.

Como exemplos de produtos com melhoria de qualidade nutricional em desenvolvimento nos Estados Unidos, temos (USDA, 2001):

Milho: - modificação no perfil lipídico, para a obtenção de óleo mais nutritivo;

- modificação no perfil de aminoácidos, com aumento dos teores de triptofano e lisina, implicando proteína de maior valor biológico;

- aumento do teor de carotenóides, para o aumento de vitamina A;

- alteração no metabolismo dos carboidratos;

- redução do nível de fitatos, otimizando o produto para ração animal.

Soja: - modificação no perfil lipídico, para a obtenção de óleo mais nutritivo;

- modificação no perfil de aminoácido, com aumento do teor de metionina.

Batata: - aumento do teor de amido e sólidos, para a redução da absorção de gordura na fritura.

Mandioca: - modificação no perfil de aminoácidos, para a obtenção de proteína de maior valor biológico.

Arroz: - modificação dos teores de amido e outros carboidratos;

- produção de novas proteínas para fins farmacêuticos.

Café: - redução do teor de cafeína.

Canola: - modificação no perfil lipídico, para a obtenção de óleo mais nutritivo.

Trigo: - modificação no perfil de aminoácidos, para a melhoria da qualidade nutricional;

- melhoria da digestibilidade;

- produção de novas proteínas para fins farmacêuticos.

Girassol: - melhoria na qualidade nutricional para ração animal.

Alfafa: - redução do teor de lignina, para a otimização do uso em alimentação animal.

Uva: - aumento do teor de açúcares, para a melhoria da qualidade do fruto.

Maçã: - alteração do teor de açúcares, para a melhoria da qualidade do fruto

Melão: - aumento do teor de açúcares, para a melhoria da qualidade do fruto.

Tomate: - aumento no teor de sólidos e açúcares para a melhoria na qualidade do fruto.

Como exemplos de produtos em desenvolvimento com melhoria nas características pós-colheita temos (USDA, 2001):

Uva: modificação no tempo de amadurecimento (longa vida).

Maçã: modificação no tempo de amadurecimento (longa vida).

Melão: modificação no tempo de amadurecimento (longa vida).

Tomate: modificação no tempo de amadurecimento (longa vida).

Ameixa: modificação no tempo de amadurecimento (longa vida).

Pimenta: retardo do amolecimento, modificação no tempo de amadurecimento.

Morango: retardo do amolecimento, modificação no tempo de amadurecimento.

A deficiência de Vitamina A é um sério problema nos países em desenvolvimento, provocando cegueira em milhares de crianças no mundo; o aumento da ingestão de pró-vitamina A ou carotenóides é uma das formas preconizadas para combater essa deficiência. O desenvolvimento do “arroz dourado” por pesquisadores das Universidades de Zurique (Suíça) e Freiberg (Alemanha), com o apoio da Fundação Rockefeller, é mais um exemplo de como a moderna biotecnologia pode gerar produtos de alto valor nutricional. No momento, este produto está sendo multiplicado para que sejam efetuados os testes de segurança alimentar e ambiental (Potrykus, 2001).

No Brasil, a Embrapa está desenvolvendo o milho com maior teor de metionina, aminoácido essencial que hoje é adicionado à ração animal à base de milho e soja. O lançamento do milho com alto teor de metionina não só proporcionará uma melhoria nutricional na dieta da população brasileira, como também poderá reduzir o custo da ração animal à base de milho.

Nos Estados Unidos e Canadá, já se encontra disponível no mercado o óleo de soja com

alto teor de ácido oleico (com 80% deste ácido graxo; os óleos produzidos a partir de variedades convencionais de soja contêm 24% de ácido oleico) (Du Pont, 1997). Está provado que a diminuição da ingestão de gorduras saturadas e o aumento da ingestão de gorduras mono e polinsaturadas reduz o risco de doenças cardiovasculares (Hu *et al.*, 1997).

Outro produto já disponível nos Estados Unidos e no Canadá é o óleo de canola com maior teor de ácido esteárico, largamente utilizado pela indústria de biscoitos, sorvetes, sobremesas congeladas e margarinas. A utilização desse óleo diminui a necessidade de hidrogenação da gordura, diminuindo a ingestão de ácidos graxos *trans*, tão prejudiciais para a saúde quanto as gorduras saturadas; foi demonstrado (Hu *et al.*, 1997) que o aumento de 2% na ingestão de ácidos graxos *trans* na dieta acarreta num aumento de 80% no risco de doenças cardiovasculares.

A batata com alto conteúdo de amido, já disponível na América do Norte, reduz a absorção de óleo durante a fritura, fazendo com que as batatas fritas tenham menor conteúdo de gordura (American Dietetic Association, 1995). É importante ressaltar que, nesses casos, poderá ocorrer uma mudança do perfil nutricional da população, sem necessidade de mudança de hábitos alimentares ou preço do produto final.

Pode-se, ainda, citar muitos outros estudos em andamento, que envolvem a modificação genética de plantas, com os seguintes objetivos: melhorar a utilização de nitrogênio; melhorar a tolerância a condições ambientais externas não biológicas (seca, enchentes, mudanças de temperatura, salinidade, acidez, alcalinidade e metais pesados); aumentar o rendimento; reduzir a concentração de fatores antinutricionais; alergênicos e toxinas; reduzir o conteúdo de lignina em árvores (aumentando a eficiência da polpa na produção de papel); desenvolver flores mais duráveis e em cores não tradicionais;

melhorar/intensificar o sabor e o aroma de frutas; produzir enzimas, plásticos e pigmentos; produzir anticorpos, vacinas comestíveis e proteínas terapêuticas; recuperar espécies em risco de extinção (Pew Initiative on Food and Biotechnology, 2001).

Como pode ser observado, essa nova tecnologia oferece grandes benefícios. Entretanto, seus riscos inerentes devem ser cuidadosamente avaliados, caso a caso, através de testes de segurança alimentar e ambiental.

Presente e futuro

Vivemos uma época de mudanças, em que os avanços nas ciências biológicas podem ser considerados tão significativos quanto os avanços nas áreas de comunicação e informação, que estabeleceram um mundo sem fronteiras.

Muitas questões relevantes têm sido levantadas sobre a segurança de alimentos geneticamente modificados que estão sendo introduzidos na cadeia alimentar. União Européia, Estados Unidos, Japão e Austrália, assim como vários outros países, estabeleceram processos de avaliação que demandam rigorosos testes de segurança antes que alimentos geneticamente modificados possam ser cultivados ou importados.

Atualmente, a modificação genética de plantas está direcionada ao melhoramento agrônômico, o que tem beneficiado agricultores, sem contudo apresentar grandes benefícios ao consumidor. Embora mudanças nutricionais possam resultar num maior impacto na saúde da população, no momento não estão disponíveis no mercado alimentos derivados de plantas cujas características nutricionais tenham sido geneticamente modificadas. Entretanto, tais produtos, com composição de nutrientes alterada pela tecnologia do DNA recombinante, encontram-se em desenvolvimento. Neste caso, a avaliação de segurança deverá focar a caracterização simultânea de riscos toxicológicos inerentes e benefícios

nutricionais, o que exigirá uma abordagem multidisciplinar integrada, que incorpore biologia molecular, toxicologia, nutrição e genética. Também será necessário apurar em que extensão o nutriente modificado se encontra biodisponível e se o mesmo se mantém estável em relação ao tempo, ao processamento e ao armazenamento.

A aplicação do conceito de equivalência substancial necessita elaboração adicional e harmonização internacional no que se refere à seleção de parâmetros críticos, requerimentos de testes de campo, análise estatística dos dados e interpretação dos mesmos no contexto das variações naturais.

Literatura Citada

AMERICAN Dietetic association. Position of the American Dietetic Association. Biotechnology and the future of food. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 95, n. 12, p. 1429-1432, 1995.

ANZFA (Australia New Zealand Food Authority). **GM foods and the consumer** - ANZFA's safety assessment process for genetically modified foods. ANZFA Occasional Paper Series. June 2000. Disponível em: (http://www.anzfa.gov.au/Documents/pub02_00.pdf). Acesso em: 18 de July 2000.

AVERY, D. T. Why we need food biotechnology. **Food Technology**, Chicago, v. 54, n. 9, p. 132, 2000.

BEEVER, D. E.; KEMP, C. F. Safety issues associated with the DNA in animal feed derived from genetically modified crops. A review of scientific and regulatory procedures. **Nutrition Abstracts and Reviews**, Series B: Livestock Feeds and Feeding, Farnham Royal, v. 70, n. 3, p. 175-192, 2000.

DONALDSON, L.; MAY, R. **Health implications of genetically modified foods**. May 1999. Site do Department of Health. Disponível em: (<http://www.doh.gov.uk/gmfood.htm>). Acesso em: 13 July 2000.

- DU PONT Petition 97-008-01p for Determination of Nonregulated Status for Transgenic High Oleic Acid Soybean Sublines G94-1, G94-19 and G168. Environmental Assessment and Finding of no Significant Impact. May 1997. APHIS-USDA.
- ERICKSON, B. E. Detecting genetically modified products in food. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 72. p. 454A-459A, 2000.
- FAO/WHO. **Biotechnology and food safety**. Rome, 1996. 61p., (FAO. Food Nutrition Paper, 61).
- HAMMOND, B.G.; VICINI, J.L.; HARTNELL, G.F.; NAYLOR, M.W.; KNIGHT, C.D.; ROBINSON, E.H.; FUCHS, R.L.; PADGETTE, S.R. The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 126, p. 717-727, 1996.
- HARRISON, L.A.; BAILEY, M.R.; NAYLOR, M.W.; REAM, J.E.; HAMMOND, B.G.; NIDA, D.L.; BURNETTE, B.L.; NICKSON, T.E.; MITSKY, T.A.; TAYLOR, J.L.; FUCHS, R.L.; PADGETTE, S.R. The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. Strain CP4, is rapidly digested *in vitro* and is not toxic to acutely gavaged mice. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 126, p. 728-740.
- HU, F.B.; STAMPFER, M.J.; MANSON, J.E.; RIMM, E.; COLDITZ, G.A.; ROSNER, B.A.; HENNEKENS, C.H.; WILLETT, W.C. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 337, n. 21, p. 1491-1499, 1997.
- IFT (The Institute of Food Technologists). Benefits and concerns associated with recombinant DNA biotechnology-derived foods Expert Report on Biotechnology and Foods. **Food Technology**, Chicago, v.54, n.10, p.61-80, 2000a.
- IFT (The Institute of Food Technologists). Human food safety evaluation of rDNA biotechnology-derived foods. Expert Report on Biotechnology and Foods. **Food Technology**, Chicago, v.54, n.9, p.53-61, 2000b.
- KUIPER, H.A.; KLETER, G.A.; NOTEBORN, H.P.J.; KOK, E.J. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. **The Plant Journal**, v. 27, n. 6, p. 503-528, 2001.
- MCHUGHEN, A. **Biotechnology and Food**. 2. ed. New York: ACSH, 2000. 42p.
- NBIAP (National Biological Impact Assessment Program). **Results of the search for all field tests in the Field Test Releases in the U.S. Database**. Disponível em (<http://www.nbiap.vt.edu/cfdocs/fieldtests1.cfm>). Acesso em: Oct. 2001
- OECD. **Safety Assessment of new foods: results of an OECD survey of serum banks for allergenicity testing, and use of databases**. 1997. Disponível em: (<http://www.oecd.org/ehs/ehsmono/surveydrEN.pdf>). Acesso em: 12 Nov. 1999.
- PEDERSEN, J. **Application of substantial equivalence data collection and analysis**. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. Topic 2, 2000. Disponível em: (<http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/ECONOMIC/ESN/gm/Bio-04.pdf>). Acesso em: 6 June 2000.
- PEW Initiative on Food and Biotechnology. Harvest on the Horizon: Future Uses of Agricultural Biotechnology. September 2001. Disponível em: (<http://pewagbiotech.org/research/harvest/harvest.pdf>). Acesso em: 5 Oct. 2001.

PORTUGAL, A.D.; SAMPAIO, M.J.; CONTINI, E.; ÁVILA, F. Agricultural biotechnology in Brasil – Institutional and implications of genetically modified organisms. Trabalho apresentado na 5th International Conference of the International Consortium on Agricultural Biotechnology Research (ICABR) on “Biotechnology, Science and Modern Agriculture: A New Industry at the Dawn of the Century”, Ravello, Italy, June 2001.

POTRYKUS, I. GOLDEN rice and beyond. **Plant Physiology**, Bethesda, v.125, n.3, p.1157-1161, 2001.

SIDHU, R.S.; HAMMOND, B.G.; FUCHS, R.L.; MUTZ, J.N.; HOLDEN, L.R.; GEORGE, B.; OLSON, T. Glyphosate-tolerant corn: the composition and feeding value of grain from glyphosate-tolerant corn is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). **Jornal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 6, p. 2305-2312, 2000.

TOMLINSON, N. **The concept of substantial equivalence, its historical development and current use.** Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. Topic 1, 2000. Disponível em: (<http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/ECONOMIC/ESN/gm/Bio-03.pdf>). Acesso em: 5 June 2000.

TRANSGENIC Plants and World Agriculture. Report prepared under the auspices of the Royal Society of London, the USA national Academy of Sciences, the Brazilian Academy of Sciences, the Chinese Academy of Sciences, the Indian National Academy of Sciences, the Mexican Academy of Sciences and the Third World Academy of Sciences.

Document 08/00, July 2000. Disponível em: (<http://www.royalsoc.ac.uk/policy/index/htm>). Acesso em: 11 July 2000.

USDA (United States Department of Agriculture). **Permitting, Notification and Deregulation. Biotechnology Permits Branch, USDA, APHIS.** Disponível em: (<http://www.aphis.usda.gov>). Acesso em: October 2001.

WALKER, R. **Safety testing of food additives and contaminants as the long term evaluation of foods produced by biotechnology.** Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. Topic 6, 2000. Disponível em: (<http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/ECONOMIC/ESN/gm/Bio-08.pdf>). Acesso em: 5 June 2000.

WHO. **Evaluation of allergenicity of genetically modified foods.** Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology. 2001. Disponível em: (<http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/ECONOMIC/ESN/gm/allergygm.pdf>). Acesso em: 5 April 2001.

WHO. **Safety aspects of genetically modified foods of plant origin.** Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. Geneva: WHO, 2000. 29p. Disponível em: (<http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/ECONOMIC/ESN/gm/biotec-e.htm>). Acesso em: 27 June 2000.

WHO. **Strategies for assessing the safety of foods produced by biotechnology.** Report of a Joint FAO/WHO Consultation. Geneva, 1991. 59p.