



EQUIVALÊNCIA SUBSTANCIAL

DA COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS DERIVADOS DE PLANTAS GENETICAMENTE MODIFICADAS (PGM)

Procedimentos propostos para o Brasil

O conceito de equivalência substancial (ES) foi introduzido para se comparar alimentos derivados dos recentes avanços da biotecnologia com seus análogos convencionais. Este conceito é amplamente utilizado nos procedimentos de avaliação de segurança de alimentos derivados de organismos geneticamente modificados (OGM). O presente artigo visa aprofundar a discussão sobre esse conceito com o intuito de: (I) padronizar a avaliação da ES de plantas geneticamente modificadas (PGM) no Brasil, respeitando sua diversidade ambiental e as diferenças de hábitos e consumo alimentares de sua população; (II) servir de orientação para a indústria brasileira de biotecnologia; e (III) garantir a segurança dos alimentos derivados de PGMs consumidos pelos brasileiros. Delineamentos experimentais e uma rede para tomada de decisão foram propostos para se estabelecer, ao nível de 5% de significância, a ES entre a composição dos alimentos derivados de PGMs e a composição dos alimentos análogos. Conseqüências esperadas para estes procedimentos foram discutidas.

Palavras-chaves: Equivalência substancial, organismos geneticamente modificados, transformação de plantas, delineamento experimental

Márcio A. F. Belém

*Pb.D., M.Sc, B.Eng., Consultor do Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura (IICA), Professor do Depto. Eng. de Alimentos da Universidade Estácio de Sá, Diretor-Presidente da Belem Biotech
ab_bel@yahoo.com ou bel_ab@uol.com.br*

Ilana Felberg

Elizabeth Borges Gonçalves

Lair Chaves Cabral

José Luís V. de Carvalho

Esdras Sundfeld

Pesquisadores da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos

Marília Regina Nutti

Chefe Geral da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos

Equivalência substancial (ES) é hoje um conceito internacionalmente aceito como um dos critérios utilizados para avaliação da segurança alimentar dos derivados dos recentes avanços da biotecnologia, entre eles, os alimentos oriundos de organismos geneticamente modificados (OGM) (FAO/OMS, 1996; Health Canada, 1994; The Commission of the European Communities, 1997; OCDE, 1992 e 1998). No entanto, recentemente, Millstone *et al.* (1999), em artigo na conceituada revista *Nature*, afirmaram que “equivalência substancial é um conceito pseudo-científico que tem, na verdade, base política e comercial”. Em resposta, Burke (1999) qualifica esse

artigo de “mistura confusa de sociologia mágica com ciência pobre”. O debate entre correntes divergentes de pensamento atinge a biotecnologia.

Todavia, já em 1996, o físico Alan Sokal, ao revelar que havia submetido um artigo propositalmente sem qualquer base científica à revista americana especializada em cultura, *Social Text* (Sokal, 1996a), que, após tê-lo revisado, o publicou, alertava para o uso indiscriminado de linguagem “científica” pela comunidade “humanista”^a (Sokal, 1996b). Neste, o autor se referia à teoria quântica e a associava a argumentações relativistas, usualmente mal empregadas pelos “humanistas”. O artigo causou intenso debate entre as comunidades científica e humanista norte-

americanas (Weinberg, 1996). Uma vez que o debate entre tais comunidades prossegue no que se refere a alimentos derivados de OGM (Burke, 1999; Millstone *et al.*, 1999) e uma vez que o conceito de ES não está previsto explicitamente na legislação brasileira (MCT-CTNBio, 1999), o presente artigo tem por objetivo propor procedimentos para avaliar a ES de plantas geneticamente modificadas (PGM) e seus derivados, que possam servir de referência tanto para as empresas de biotecnologia de alimentos instaladas e investidoras no Brasil quanto para as comunidades científica e reguladora^b nacionais.

Brasil e a biotecnologia

O Brasil tem tradição de pesquisa em biotecnologia aplicada às áreas de agricultura, nutrição, tecnologia de alimentos, saúde e meio ambiente. Incluem-se, por exemplo: (I) estudos inéditos para aumento de respostas positivas na transformação de plantas por engenharia genética (Rech & Aragão, 1999); (II) estudos, com os primeiros resultados positivos no mundo, sobre enriquecimento nutricional de feijão (alimento básico na dieta do povo nos países em desenvolvimento) com metionina (aminoácido essencial) através da inserção de gene de castanha do Pará (planta de espécie tropical) (Aragão *et al.*, 1992); (III) estudos sobre a biotransformação de resíduos industriais altamente poluentes (soro de leite) em alimentos nutracêuticos (oligossacarídeos, oligonucleotídeos e peptídeos bioativos) com efeitos anti-hipertensivos, imuno-estimuladores e anti-carcinogênicos (Belem & Lee, 1998); (IV) estudos sobre efeito inseticida de endotoxina de *Bacillus thuringiensis* sobre moscas transmissoras de doenças em animais e no homem, de imensuráveis aplicações no controle de doenças nos centros urbanos de países em desenvolvimento (Cavados *et al.*, 1998); e (V) os estudos pioneiros sobre a capacidade das

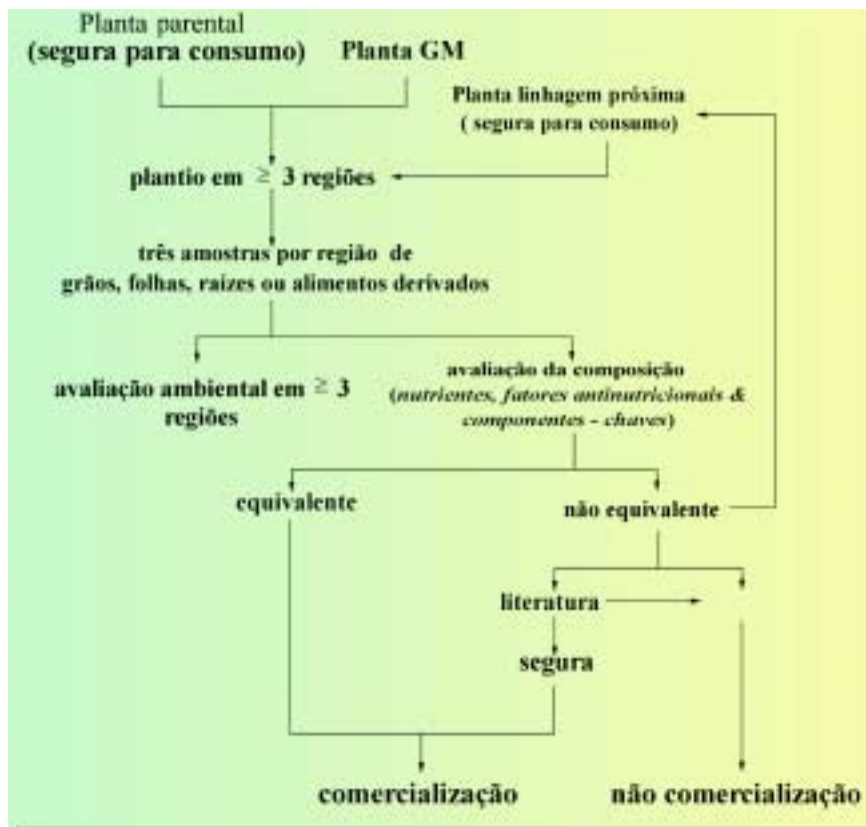


Figura 1:

Rede de tomada de decisões para se estabelecer a ES entre PGMs e plantas análogas convencionais

bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Rhizobium* em transformar N₂ em fonte de aminoácidos para plantas (Döbereiner, 1997).

Por outro lado, a agroindústria é um dos principais setores da economia brasileira, com importância tanto para o abastecimento interno quanto para o conjunto das exportações. Estima-se que represente mais de 30% da economia brasileira e 40% do total de nossas exportações e é, sem dúvida, neste setor em que o Brasil detém competitividade internacional. Empresas brasileiras de biotecnologia consideram a questão das PGMs fundamental para o desenvolvimento sustentável da agricultura brasileira (Costa, 1999). Além do milho, é neste país que se encontra uma das maiores biodiversidades do planeta. Por essas razões, existem, cada vez mais, uma crescente demanda por parte dos/as consumidores/as brasileiros/as e dos países em desenvolvimento por procedimentos de avaliação da segurança

alimentar de alimentos derivados de OGM (Macilwain, 1999). Estabelecer normas e procedimentos para avaliação da segurança alimentar de alimentos derivados de OGM é dever pois da comunidade científica nacional.

Equivalência substancial (ES)

ES engloba o conceito de que, se um alimento ou ingrediente alimentar derivado dos recentes avanços em biotecnologia for considerado substancialmente equivalente a um alimento ou ingrediente alimentar convencional^c, aquele alimento poderá ser considerado tão seguro quanto esse. Para se estabelecer a ES, os alimentos derivados dos recentes avanços em biotecnologia (ex: nutracêuticos, alimentos derivados de OGMs, bioingredientes obtidos por fermentação e tratamentos enzimáticos) devem ser comparados com as espécies ou com os alimentos derivados destas espécies



Figura 2: Casos onde não se constate haver ES entre PGMs e suas análogas convencionais (parental/linhagem mais próxima)

os mais próximos possíveis (FAO/OMS, 1996).

A mera constatação da ES não implica, no entanto, que um alimento seja necessariamente seguro ou nutritivo. Estabelecer a ES é uma maneira de se comparar as características do alimento derivado de OGM com seu análogo convencional. O mesmo procedimento comparativo é aplicado para qualquer alimento oriundo dos recentes avanços da biotecnologia e não se aplica somente a alimentos derivados de OGMs. O estabelecimento da ES é um exercício analítico que evolui com o tempo, em que, por exemplo, uma nova PGM, no futuro, poderá ser comparada com uma antiga PGM da mesma linhagem e não necessariamente com sua análoga convencional (The Commission of the European Communities, 1997).

No que se refere a PGMs, o estabelecimento da ES engloba: (I) avaliação em nível molecular da fonte alimentícia geneticamente modificada; (II) comparação das características fenotípicas da PGM com uma planta convencional; e (III) comparação analítica entre a composição da PGM e seus derivados e a composição de análogos convencionais (FAO/OMS, 1996). Análises para determinação da composição

dos alimentos derivados de OGMs devem focar o conteúdo de nutrientes-chave (macro e micronutrientes), de componentes tóxicos-chaves e de fatores antinutricionais-chaves (The Commission of the European Communities, 1997). A planta ou alimento convencional (planta/alimento-referência) utilizado na comparação pode ser a linhagem *parental* e/ou linhagem *comestível* da mesma espécie. Para alimentos processados, a comparação pode também ser realizada entre o alimento processado derivado de plantas geneticamente modificadas e um análogo convencional processado (FAO/OMS, 1996).

Como mencionado anteriormente, o conceito de ES não está previsto explicitamente na legislação brasileira. A lei que estabelece normas para o uso das técnicas de engenharia genética determina apenas que os organismos geneticamente modificados (OGM) devem oferecer a mesma segurança que o organismo receptor ou parental sem efeitos negativos para o meio ambiente (MCT-CTNBio, 1999). No entanto, o estabelecimento da ES dos alimentos derivados de OGMs é uma exigência dos parceiros econômicos do Brasil: Europa e América do Norte (OCDE, 1992 & 1998).

Procedimentos para se estabelecer a ES da composição de alimentos derivados de OGMs

Tanto a avaliação em nível molecular quanto a comparação das características fenotípicas são fatores determinantes no estabelecimento da ES de alimento derivado de OGM, mas fogem aos objetivos deste artigo e por isso não serão detalhadas aqui.

A escolha adequada de um alimento-referência para se estabelecer a ES em termos de composição depende de alguns fatores. É mais apropriado se comparar matérias-primas não processadas. Entretanto, se o alimento só for consumido uma vez processado (ex: óleo refinado de soja, farelo de soja), a comparação pode ser realizada entre o alimento derivado de OGM e o alimento convencional processados da mesma maneira. O alimento-referência deve refletir a composição centesimal média encontrada em alimentos convencionais semelhantes, seu consumo, sua importância na dieta e seus efeitos no processamento (Huggett *et al*, 1996). Dados da literatura, no que se refere à composição do alimento convencional, só podem servir de base de comparação se as técnicas analíticas tiverem sido *validadas* (OCDE, 1998). Muitas vezes porém, esses dados indicam apenas as médias dos resultados de composição e podem subestimar variações naturalmente encontradas (OMS, 1995).

A comparação para avaliação de efeitos não intencionais devido à inserção genética em alimentos derivados de OGM é mais apropriada e útil se for realizada com sua linhagem/cepa parental. O plantio das PGM deve ser realizado nas mesmas condições de plantio de plantas convencionais. Animais GM devem ser alimentados, manejados e transportados da mesma maneira que os animais convencionais. Alimentos derivados de OGMs (microorganismos)

mos GM, PGM, e animais GM) devem ser processados nas mesmas condições que os alimentos derivados de organismos convencionais. No caso de safras comerciais de grãos, porém, muitas vezes, linhagens de PGM, isogênicas à linhagem parental, não são possíveis, a exemplo dos grãos de milho, híbridos de duas linhagens. Assim, para comparação, a linhagem mais próxima possível deve servir de referência (OCDE, 1998).

Casos de complexidade no estabelecimento de ES

Com intuito de minimizar diferenças provenientes de variações do clima, do solo, do tratamento e da época de plantio que possam alterar a composição de PGM e levar a falsas interpretações de não equivalência substancial (NES), a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) sugere que sejam realizadas comparações com séries de plantas convencionais da *mesma linhagem*. É preciso lembrar que PGMs de espécies e *pool* genético diferentes das plantas convencionais não podem ser comparadas (OCDE, 1998). Dessa forma, plantas de café da espécie *Coffea arabica*, tetraploides, geneticamente modificadas para resistir a geadas não podem ser comparadas a plantas convencionais de café da espécie *Coffea canephora*^d, diploides, para se estabelecer a ES.

Porém, dentro dessa linha de comparação, híbridos, tal como a cultivar Icatu (tetraploide induzida por colchicina), obtidos por melhoramento genético “tradicional”^e de *Coffea canephora* (diploide) com *Coffea arabica* cv. Bourbon, seguido de cruzamentos com cultivares Mundo Novo e Catuaí da espécie *Arabica* (Söndahl & Lauritis, 1992), poderiam ser comparados a cultivares das variedades Mundo Novo ou Catuaí geneticamente modificadas para conferir resistência à geadas, uma vez que são da mesma espécie e são co-

mestíveis. A ES entre a variedade GM e a variedade não GM poderia ser estabelecida se a quantidade de componentes ou faixa de expressão destes componentes (no caso de enzimas, por exemplo) da PGM estivessem no intervalo de composição e expressão das variedades convencionais.

Formas de se avaliar a ES

O estabelecimento da ES para os alimentos derivados dos recentes avanços da biotecnologia segue procedimentos diferenciados caso a caso. O conceito de ES pode ser aplicado de maneira mais ou menos abrangente (OCDE, 1998). Diferentes formas de avaliação de ES são propostas e publicadas pela OCDE (1992). Quatro dessas propostas, específicas para estabelecimento de ES em alimentos derivados de OGMs, são revistas aqui.

(I) Chimosina, derivada de *E. coli* K-12 geneticamente modificada com DNA complementar (cDNA) de células bovinas, foi obtida por meio de processo completamente diferente da enzima referência, renina, extraída do estômago de bezerros. Os resíduos obtidos da purificação dessas enzimas também são diferentes (OCDE, 1992). No entanto, ambas apresentam a mesma estrutura e funcionalidade, são aplicadas na fabricação de queijos para favorecerem a precipitação de caseína (Lee, 1996) e seus resíduos de purificação são inócuos à saúde do consumidor. Assim, a enzima obtida de *E. coli* geneticamente modificada é considerada substancialmente equivalente à renina de estômago de bezerro (OCDE, 1992). (II) Tomate, *Lycopersicon esculentum*, geneticamente modificado com um gene que codifica uma seqüência antisense de RNA, e inibe parcialmente a atividade da poligacturonase, responsável pelo amadurecimento do fruto, não precisa ser comparado a seu análogo convencional, uma vez que o fruto modificado apenas contém essa enzima com velocidade de atividade reduzida

(OCDE, 1992; OMS, 1995)^f. (III) Eriskén & Pedersen (OCDE, 1992) propõem claramente que o estabelecimento de ES seja realizado por comparação entre o tomate GM, tolerante a herbicidas ou a vírus, e o organismo parental. Estes autores sugerem ainda que a avaliação do teor de alcalóides - componente tóxico chave em tomates - seja incluída e comparada, mesmo reconhecendo não haver métodos analíticos validados para o estabelecimento desses compostos em tomates. (IV) Na batata (*Solanum tuberosum*) geneticamente modificada para conferir resistência ao vírus “X”, a proteína desse vírus é expressa em pelo menos uma ordem de magnitude menor do que o observado em batata infectada naturalmente com vírus (OCDE, 1992). Batata infectada com vírus “X”, uma praga endêmica em certas regiões do planeta, é largamente consumida sem danos à saúde dos consumidores. Entretanto, batatas infectadas com este vírus causam graves prejuízos para o produtor e para as indústrias de processamento. Bergmans (OCDE, 1992) propõe, então, que a ES seja determinada entre a batata GM resistente ao vírus (“batata vacinada”) e a batata naturalmente infectada com esse vírus. Apesar da proteína expressa na batata resistente a vírus ser estruturalmente diferente da proteína expressa na batata infectada com vírus^g, ambas serão desnaturadas no cozimento. Portanto, segundo esse autor, as batatas podem ser consideradas substancialmente equivalentes.

Padgett *et al.* (1996), cujo trabalho representa um marco na avaliação da segurança alimentar de PGMs, compararam soja GM tolerante ao herbicida glifosato com sua linhagem parental, com uma linhagem controle, e com o espectro de variações de composição encontrados na literatura, através de 1422 análises dos grãos, 858 análises do farelo de soja

desengordurada, 60 análises do farelo de soja desengordurado não tostado, 114 análises do óleo de soja refinado, 12 análises da lecitina de soja, com um delineamento experimental em blocos aleatórios, com uma análise por amostra sem replicata para cada local de plantio. Fuchs (OCDE, 1998) relata que há variações de composição entre diferentes locais de plantio muito maiores do que entre análises de amostras com replicata, e entende que uma comparação entre as PGMs e os dados encontrados na literatura deve ser realizada quando, porventura, se verificam diferenças estatisticamente significativas entre a PGM e sua análoga parental. Este autor considera crítico um bom delineamento experimental para que haja uma interpretação criteriosa dos resultados de composição e para que se realize uma comparação efetiva.

ES e alergenicidade

Um dos aspectos analisados para se determinar a segurança alimentar de alimentos oriundos dos recentes avanços em biotecnologia e que tem ganho considerável atenção, é a avaliação do potencial alergênico desses alimentos. Alergias alimentares atingem cerca de 2% da população mundial e, em alguns casos, podem levar a choques anafiláticos (OCDE, 1997). Muitas proteínas alergênicas, particularmente aquelas presentes em soja e amendoim, mantêm seu potencial alergênico mesmo após processamento e desnaturação (Metcalfe *et al.*, 1996). Assim, a avaliação do potencial alergênico deve fazer parte da determinação da ES entre alimentos derivados de OGM e alimentos convencionais.

Ressalta-se, porém, que PGMs carregam proteínas expressas de genes exógenos à planta de origem em concentrações inferiores a 1% p/p da composição centesimal da planta, ou seja, geralmente em concentrações inferiores à concentração para que uma proteína alergê-

nica possa causar reações nos consumidores hipersensíveis^h (OCDE, 1997). Para se estabelecer a ES entre a PGM e a planta convencional, além de se comparar a composição e a concentração de proteínas alergênicas da PGM com a composição e a concentração de proteínas alergênicas *usualmente* encontradas nas plantas convencionais, *p. e.*, lectina da soja (Metcalfe *et al.*, 1996), é preciso comparar a seqüência de aminoácidos da proteína exógena expressa pelo gene inserido com a seqüência de quaisquer proteínas causadoras de alergia alimentar, *usualmente presentes ou não naquela planta* (Metcalfe *et al.*, 1996, Padgett *et al.*, 1996, Sander *et al.*, 1998). Para tal, bancos de dados (GenBank, BLAST, SWISS-PROT) contendo a seqüência de aminoácidos de proteínas alergênicas devem ser consultados (NCBI, 1999). Se houver homologia entre a proteína expressa pelo gene inserido e qualquer proteína alergênica, a planta não é substancialmente equivalente à sua análoga convencional. No entanto, o fato de uma proteína não ser homóloga a qualquer proteína alergênica não descarta seu potencial de alergenicidade. A determinação da homologia apenas permite que se preveja o potencial alergênico da proteína exógena expressa pelo gene inserido (OCDE, 1997). Outros ensaios *in vivo* e *in vitro* são necessários (Padgett *et al.*, 1996). Em testes de alergenicidade e determinação da ES nos ensaios *in vivo*, o placebo é o alimento convencional análogo ao alimento oriundo de OGMs (OCDE, 1997).

Comercialização de alimentos substancialmente equivalentes

Em suas recomendações, a US-FDA (1997) entende que se um alimento ou ingrediente alimentar é reconhecido como seguro ("generally recognized as safe", GRAS), esse alimento ou ingrediente alimentar pode ser comercializado sem restrições. Assim, alimentos

derivados de OGM substancialmente equivalentes a alimentos convencionais seguros (com histórico de consumo) são considerados GRAS. Isso implica, por exemplo, que milho geneticamente modificado por gene do *Bacillus thuringiensis* para expressar a proteína CryIA(b) e conferir resistência ao ataque de insetos (Munkvold, 1999) pode ser considerado um alimento GRAS, se for substancialmente equivalente ao milho convencional, mesmo que o *B. thuringiensis* em si não esteja incluído na lista de microorganismos GRAS do FDA (US-FDA, 1998) e não possa ser utilizado como bioingrediente na fabricação de alimentos.

Comercialização de alimentos não substancialmente equivalentes

Constatar a NES entre uma PGM e sua análoga convencional não implica necessariamente que a PGM e seus derivados causem prejuízos à saúde do consumidor e não possam ser comercializados. Porém, avaliações toxicológicas e nutricionais se fazem necessárias (OMS, 1995; Hammond & Fuchs, 1998). Redenbaugh *et al.* (OMS, 1995) citam o exemplo do óleo derivado de 'canola' geneticamente modificada para produzir altos teores de ácido láurico, não substancialmente equivalente aos óleos de 'canola' convencional (o primeiro apresenta teores mais baixos em ácido oleico e mais elevados em ácidos mirístico e láurico em relação ao segundo) e ao óleo de colza (o primeiro apresenta teores mais baixos em ácido oleico e erúico e mais elevados em ácidos mirístico e láurico em relação ao segundo), como um substituto comercial aos óleos de dendê (palma) e de coco, por possuir o mesmo teor em ácido láurico encontrado nesses dois últimos óleos e apresentar um perfil de composição em ácidos graxos reconhecido como seguro (GRAS).

Novas propostas, relativas ao Brasil, para estabelecimento da ES de PGMs

Diante do exposto neste artigo, está sendo proposto às empresas de biotec-

nologia do Brasil que realizem seus testes para estabelecimento da ES de PGMs comparando-as com as plantas parentais ou de linhagens próximas, seguras para consumo alimentar, seguindo um delineamento experimental em blocos aleatórios (Tabela 1), onde os locais de plantio (5) sejam blocos, e as variedades de plantas (GMs, parentais e linhagens as mais próximas possível, plantadas lado a lado) sejam tratamentos, com amostras em duplicata seguida de 2 repetições de análise por amostra (2 amostras diferentes do mesmo local de plantio, duas análises por amostra), por métodos validados, *aumentando assim o número de graus de liberdade* com relação aos casos em que não haja repetições de amostras, e *permitindo uma melhor avaliação dos efeitos* de tratamentos, dos efeitos de blocos, e dos efeitos *da combinação tratamento/bloco*¹ (Kempthorne, 1979; Anderson & McLean, 1974; Steel & Torrie, 1980). O emprego de amostras em replicatas permite o cálculo da interação local x variedade (cultivar), o que seria impossível sem repetições. O emprego de repetições de análises por amostra permite maior segurança sobre os resultados obtidos em laboratório. As médias das repetições das análises são utilizadas nos cálculos estatísticos. Assim, o modelo tem duas médias por local de plantio por tratamento (parcela) no delineamento experimental. Os locais de plantio deverão ser diversificados, de maneira que diferentes condições climáticas e condições de solo sejam representadas.

Com menos de cinco locais de plantio, um aumento do número de amostras por local de plantio é recomendável. Assim, outra *alternativa* seria seguir um delineamento experimental em blocos aleatórios (Tabela 2), onde os locais de plantio sejam blocos, e as variedades de plantas (GMs e parentais) sejam tratamentos com amostras em triplicata, seguida de uma análise por amostra (3 amostras diferentes do mesmo local de plantio, uma análise por amostra) por métodos validados.

Assim, o modelo tem três observações em cada local de plantio por tratamento (parcela) do delineamento. Neste caso, os locais de plantio também deverão ser diversificados, de maneira que diferentes condições climáticas e condições de solo sejam representadas. Aqui também, o emprego de amostras em replicatas *permite o cálculo da interação local x variedade* (cultivar). Permite ainda, neste caso, a redução do número de análises (sem repetições) a serem realizadas, sem que haja prejuízo no número de graus de liberdade. Adicionalmente, o uso de três amostras propicia maior representatividade, o que pode ser conveniente em amostras de plantas mais heterogêneas. Um mínimo de três locais de plantio é recomendado.

Uma rede para tomadas de decisão é mostrada na Fig. 1. A decisão sobre a ES será tomada comparando-se apenas a PGM com sua linhagem parental convencional ou com a mais próxima possível, do ponto de vista genético (por exemplo, quando a PGM é obtida após hibridação e transformação da planta convencional). Plantas híbridas entre PGM e plantas convencionais não precisarão ser analisadas para estabelecimento da ES, quando a PGM de origem tiver sido previamente analisada e for substancialmente equivalente à convencional parental (The Commission of the European Communities, 1997).

Se não houver diferença significativa, segundo o teste F com $\alpha \leq 0,05$ (Searle, 1971), entre as PGMs e a planta convencional segura para consumo alimentar (Tabelas 1 e 2), isso implica que as três plantas não diferem significativamente e que a PGM é substancialmente equivalente à planta análoga convencional (Hammond & Fuchs, 1998). Uma vez estabelecida a ES e tendo a planta análoga convencional histórico de consumo seguro, a PGM também será considerada segura para consumo, não havendo necessidade de ensaios posteriores para avaliação toxicológica ou para avaliação

nutricional desta PGM, (Huggett *et al.*, 1996; Hammond & Fuchs, 1998).

Se houver diferença significativa segundo o teste F, testes entre as médias dos resultados, dois a dois (teste T-Student, Tukey ou outros), para cada item de composição, deverão ser realizados (Beck & Arnold, 1977; Steel & Torrie, 1980). Assim, por exemplo, a média da composição para cada item (cada componente), de cada uma das PGMs, tratadas com diferentes tipos de herbicida (Tabelas 1 e 2), deverá ser comparada com a média de composição de cada item da planta análoga convencional.

Se após esta comparação, resultados significativamente diferentes forem obtidos, a composição de nutrientes-chaves, item a item, em quantidades maiores ou menores, deverá ser comparada com os dados de composição para aquela variedade de plantas encontrados na literatura (Hammond & Fuchs, 1998). Além disso, o impacto dessa variação na dieta do/a consumidor/a - incluindo os grupos de maior risco nutricional (grávidas, crianças e idosos) - deverá ser investigado. É importante mencionar que os dados da literatura sobre a composição de alimentos derivados de PGMs somente poderão ser utilizados para efeito de comparação se as técnicas e os métodos empregados nos laboratórios analíticos tiverem sido previamente validados, forem internacionalmente reconhecidos, e seguirem os procedimentos e as normas de boas práticas de laboratório (BPL).

Procedimento semelhante deve ser realizado, se forem verificadas variações na composição de fatores antinutricionais ou de componentes tóxicos. Quantidades observadas de fatores antinutricionais ou de componentes tóxicos estatisticamente superiores não implicam necessariamente que o alimento seja impróprio para consumo, mas que serão necessárias uma comparação posterior com os dados da literatura e uma avaliação toxicológica (nas condições usuais de consumo).

Comparar a linhagem GM so-

mente com a linhagem/variedade parental e/ou a linhagem geneticamente a mais próxima possível (conceito menos abrangente), como está sendo proposto neste artigo, parece, do ponto de vista dos autores deste artigo, o mais adequado. Mesmo que outros tipos de comparação (conceito mais abrangente) não implicassem em prejuízos à saúde do consumidor ou ao meio ambiente.

O caso do café é bastante elucidativo da necessidade de se adotar um conceito menos abrangente. A composição de café em coco é altamente complexa e apenas uma pequena quantidade de constituintes majoritários já pôde ser identificada. A presença de diterpeno-16-*o*-metilcafestol diferencia café da espécie *Coffea canephora* (tipo *robusta*) do café da espécie *Coffea arabica*. Apesar de existirem em cada espécie variações substanciais quanto à composição, pode-se chegar à conclusão, através de técnicas confiáveis para estabelecimento de composição, tal como espectroscopia de

infra-vermelho, que os espectros de composição de várias amostras das duas espécies possam ser bastante semelhantes (Kemsley *et al.*, 1995). A mesma semelhança pode ser detectada entre cultivares híbridas dessas duas espécies. Assim, a adoção de um conceito menos abrangente impede que, num futuro próximo, venhamos a estabelecer “estatisticamente” a ES entre cafés GM e convencional de linhagens diferentes, mesmo quando ambos tiverem sabores nitidamente percebidos e diferenciados pelo consumidor.

Propostas relativas ao Brasil para casos em que não se constate haver ES entre PGMs e suas análogas convencionais (Fig. 2)

Como mencionado anteriormente, constatar a NES entre uma PGM e sua análoga convencional ($\alpha \leq 0,05$) não implica necessariamente em prejuízos à saúde do consumidor e em sua proibição para comercialização.

Avaliações toxicológicas e nutricionais, contudo, devem ser realizadas antes de sua liberação para plantio e consumo (Hammond & Fuchs, 1998). Assim, considerando uma situação hipotética, em que uma laranja GM resistente ao cancro contenha teor de vitamina C inferior ao teor de vitamina C de sua parental convencional, e que as mesmas não sejam substancialmente equivalentes, as conseqüências nutricionais das diferenças observadas na PGM devem ser avaliadas (Fig. 2).

Numa primeira etapa (etapa 1), o teor de vitamina C em laranjas convencionais habitualmente consumidas pelo mercado a que se destinaria a laranja GM (mercado-alvo) deverá ser avaliado. Caso não haja dados obtidos por métodos validados sobre o teor de vitamina C em laranjas convencionais consumidas pelo mercado-alvo, a comercialização da laranja GM resistente ao cancro, não substancialmente equivalente ($\alpha \leq 0,05$) à sua análoga convencional, não deveria ser aceita pelo órgão

^a Nesse contexto, o termo “humanista” se refere aos estudiosos das áreas de ciências humanas, sociais e políticas, em contraposição à comunidade “científica”, que se refere aos estudiosos das áreas das ciências puras e exatas. Os termos seguem o conflito proposto/observado por Sokal, 1996 e Weinberg, 1996.

^b Comunidade reguladora se refere aos representantes governamentais responsáveis pela liberação ou não da comercialização de alimentos derivados de OGMs em território nacional.

^c Ao longo desse texto, planta convencional se refere a planta não geneticamente modificada, e alimento convencional aos derivados de planta convencional.

^d Café tipo *robusta*.

^e “Tradicional” se refere aos melhoramentos genéticos onde a modificação genética da planta não seja realizada pela inserção de genes exógenos por engenharia genética.

^f Muito embora a empresa fabricante deste tomate tenha solicitado ao US-FDA que regulamentasse a enzima aminoglicosídeo-3'-fosfotransferase II codificada pelo gene marcador, e que confere à planta resistência à canamicina, como sendo um aditivo alimentar (US-FDA, 1995).

^g A estrutura primária (seqüência de aminoácidos) das proteínas é a mesma.

^h Não incluída à hipersensibilidade ao glúten (Metcalfe, *et al.*, 1996).

ⁱ Comumente é usada uma transformação normalizante nos dados (Steel & Torrie, 1980).

^j α = nível de significância.

^k Neste exemplo, mulheres grávidas representam o mercado-alvo.

^l Situação puramente hipotética. Os autores desconhecem qualquer exemplo de avaliação de tomate GM resistente a vírus onde tenha sido verificada a NES.

^m Neste exemplo, crianças menores de 11 anos representam o mercado-alvo.

regulador.

Caso haja um banco de dados sobre o teor de vitamina C de laranja convencionais obtidos por métodos validados, a laranja GM poderá ser comparada numa segunda etapa com essas laranjas convencionais (etapa 2). Uma nova avaliação da média dos resultados dos teores de vitamina C da laranja GM em relação ao teor de vitamina C da laranja convencional encontrado na literatura, pelos testes de T-Student para uma média, ao nível de significância de 5% (Beck & Arnold, 1977; Steel & Torrie, 1980), deverá ser então realizada. Se não houver diferença significativa, a laranja GM poderá ser aceita pelo órgão regulador para comercialização. Se houver uma diferença significativa, o efeito dessa variação sobre a dieta básica do mercado-alvo deverá ser avaliado (etapa 3).

Por exemplo, uma laranja convencional de tamanho médio contém 74 mg de vitamina C (Potter & Hotchkiss, 1986). A média recomendada de consumo de vitamina C para mulheres grávidas^k é de 70 mg/dia (Recommended Dietary Allowances, 1989). Se a laranja for a única ou a mais importante fonte de vitamina C para aquele mercado-alvo, encontrar teores médios de vitamina C na laranja GM inferiores em até 5,4% p/p (4 mg / laranja) em relação ao teor de vitamina C de laranjas convencionais encontrado no banco de dados não seria suficiente para se rejeitá-la para consumo, uma vez que o teor de vitamina C encontrado não seria menor do que o limite mínimo de vitamina C recomendado para consumo diário para o mercado-alvo (70 mg/dia de vitamina C). Neste intervalo de teor em vitamina C (70-74 mg/laranja), a laranja GM poderá ser aceita pelo órgão regulador para comercialização, *mesmo não sendo substancialmente equivalente*. Encontrando um teor médio de vitamina C nas laranjas GMs, - ao nível de 5% de significância, pelo teste T-Student para uma média (Beck & Arnold, 1977; Steel & Torrie, 1980) - significativa-

Tabela 1: Delineamento experimental em blocos aleatórios

	PGM A	PGM B	Planta convencional B
Região Norte	2/2	2/2	2/2
Região Sul	2/2	2/2	2/2
Região Leste	2/2	2/2	2/2
Região Oeste	2/2	2/2	2/2
Região Centro	2/2	2/2	2/2

Nota: Duas amostras por combinação seguida de duas análises * de composição.
* Todas as análises devem ser realizadas por métodos validados seguindo as normas de boas práticas de laboratório.

A e B se referem a tratamentos aleatórios, por exemplo, uso de herbicidas, onde A se refere ao uso de um herbicida para o qual a PGM é tolerante e B a um herbicida convencional.

Tabela 2: Delineamento experimental em blocos aleatórios

	PGM A	PGM B	Planta convencional B	
Região Norte	3	3	3	necessário
Região Sul	3	3	3	necessário
Região Leste	3	3	3	necessário
Região Oeste	3	3	3	dispensável
Região Centro	3	3	3	dispensável

Nota: Três amostras por combinação seguida de uma análise * de composição.

* Todas as análises devem ser realizadas por métodos validados seguindo as normas de boas práticas de laboratório.

A e B se referem a tratamentos aleatórios, por exemplo, uso de herbicidas, onde A se refere ao uso de um herbicida para o qual a PGM é tolerante e B a um herbicida convencional.

mente inferior a 5,4% p/p em relação ao teor de vitamina C da laranja convencional, a comercialização da laranja GM deveria ser rejeitada pelo órgão regulador.

No entanto, o mesmo procedimento teria outras implicações se fosse realizado para se comparar o teor de vitamina C de um tomate GM para resistir a vírus não substancialmente equivalente a seu análogo convencional ($\alpha \leq 0,05$)^l. O procedimento seria idêntico nas etapas 1 e 2 ao descrito para a laranja GM. Mas na etapa 3, sabendo-se que o teor de vitamina C de um tomate grande é de 46 mg / tomate (Potter & Hotchkiss, 1986), e que a recomendação de consumo de vitamina C para crianças de até 11 anos de idade é de 45 mg / dia (Recommended Dietary Allowances, 1989), encontrar um teor médio de vitamina C em tomates GMs - ao nível de 5% de significância, pelo teste T-Student para uma média, (Beck & Arnold, 1977; Steel & Torrie, 1980) - significativamente inferior a 2,2% p/p ao

teor de vitamina C de tomates convencionais (1 mg/tomate), obtidos de bancos de dados, implicaria numa rejeição à comercialização pelo órgão regulador do tomate GM, *quando* este fosse a única e exclusiva fonte de vitamina C para aquele mercado-alvo^m.

Em tempo, se os teores médios de vitamina C forem *superiores* aos encontrados em plantas convencionais, a planta GM poderá ser comercializada. Um procedimento inverso deverá ser tomado (após etapas 1 e 2) quando ao invés de se avaliar o teor em nutrientes-chaves, se avaliar o teor de fatores anti-nutricionais-chaves. Neste caso, na etapa 3, as PGMs seriam rejeitadas para comercialização pelo órgão regulador quando, numa avaliação caso a caso, apresentassem teores médios em fatores anti-nutricionais (nas condições usuais de consumo)- ao nível de 5% de significância, pelo teste T-Student para uma média (Beck & Arnold, 1977; Steel & Torrie, 1980) - significativamente superiores ao teor

encontrado em plantas convencionais, obtidos de bancos de dados.

Observações complementares

O estabelecimento da ES não se restringe à comparação de alimentos derivados de OGMs com seus análogos convencionais. Como foi anteriormente mencionado, todo alimento oriundo dos recentes avanços da biotecnologia deve ser avaliado desta forma, *incluindo* as plantas obtidas pelas técnicas modernas de melhoramento genético tradicional (Huggett *et al.*, 1996). No entanto, a atenção das agências reguladoras e do público em geral para estabelecimento da ES está voltada (praticamente) unicamente para os alimentos derivados de OGMs. Os procedimentos aqui propostos visam servir de referência para as indústrias brasileiras de biotecnologia e para os órgãos reguladores. Visam ainda reduzir o tempo, simplificar as etapas decisórias necessárias para se estabelecer a ES entre PGMs e plantas convencionais, e evitar o que ocorre no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, que levam de 8,5 a 15 anos para sair da escala de laboratório e atingir o mercado (Belem, 1999). Porém, os autores deste artigo entendem ainda que propostas de procedimentos para estabelecimento da ES entre as características fenotípicas e entre os aspectos moleculares também devem ser elaboradas por outros setores da comunidade científica.

Conclusão

Alguns procedimentos básicos, envolvendo delineamentos experimentais e uma rede para tomada de decisão, para se estabelecer a ES entre PGMs e suas análogas convencionais foram propostos aqui. Estes procedimentos visam, por um lado, a servir de orientação para que a indústria brasileira de biotecnologia, de capital nacional e/ou estrangeiro, racionalize seus custos de investimento, e, por ou-

tro, forme um núcleo de opinião para o conjunto das classes científica, reguladora e industrial deste país.

Agradecimentos

Apreciamos muito as sugestões e os comentários dos pesquisadores M. R. Leão, R. Antoniassi, S. Couri, R. Germani, R. Lago e M. A. Lopes da EMBRAPA.

Referências:

Anderson, V. L. & McLean, R. A. (1974) Design of experiments, a realistic approach. Marcel Dekker Inc. Nova York. 418 p.

Aragão, F. J. L., Grossi, M. F., Almeida, E. R., Gander, E. S., Rech, E. L. (1992). Particle bombardment-mediated transient expression of a Brazil nut methionine-rich albumin in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Mol. Biol.* 20: 357-359.

Beck, J. V. & Arnold, K. J. (1977) Parameter estimation in engineering and science. John Wiley & Sons, Nova York. 501 p.

Belem, M. A. F. (1999) Application of biotechnology in the product development of nutraceuticals in Canada. *Trends Food Sc. Technol.* 10 (3): 101-106.

Belem, M. A. F. & Lee, B. H. (1998) Production of food bioingredients from *Kluyveromyces marxianus* grown on whey: an alternative. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38 (7): 565-598.

Burke, D. (1999) No GM conspiracy. *Nature*, 401: 640.

Cavados, C. F. G., Chaves, J. Q., Queiroz, M. M. C., Serra-Freire, N. M., Rabinovitch, L. (1998) An assessment of the biological activity of *Bacillus thuringiensis* LFB-FIOCRUZ in *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *Israel J. Entomology* 32: 117-123.

Costa, F. C. (1999) Resumo da posição da EMBRAPA sobre plantas transgênicas. *Cad. Ciênc. Tecnol.*, 16 (1): 11-16.

Döbereiner, J. (1997) A importância da fixação biológica de nitrogênio para a agricultura sustentável. *Biotecnol. Ciênc. Des.*, 1 (1): 2- 3 (encarte).

FAO/OMS (1996) Biotechnology and food safety. In: *Report FAO/OMS, FAO Food Nutrition Paper*, 61. Roma. 31 p.

Hammond, B. C. & Fuchs, R. L. (1998) Safety Evaluation for New Varieties of Food Crops developed Through Biotechnology. In: *Biotechnology and Safety Assessment, Second Edition*, Thomas, J. A., ed. (1999): 61-69. Taylor & Francis, Filadélfia.

Health Canada (1994) Guidelines for the safety assessment of novel foods. Food Directorate-Health Protection Branch. Ottawa.

Huggett, A. C. & Verschuren, P. M. (1996) The safety assurance of functional foods. *Nutrition Reviews*, 54 (11): S132-S139.

Kempthorne, O. (1979) The design and analysis of experiments. Robert E. Krieger Publishing Co., Huntington. 631 p.

Kemsley, E. K., Ruault, S. & Wilson, R. H. (1995) Discrimination between *Coffea arabica* and *Coffea canephora* variant *robusta* beans using infrared spectroscopy. *Food Chem.* 54: 312-326.

Lee, B. H. (1996) Fundamentals of Food Biotechnology. VCH Publishers, Inc. Nova Iorque. 431 p.

Macilwaine, C. (1999) Developing countries look for guidance in GM crops debate. *Nature*, 401: 831-832.

Metcalf, D. D., Fuchs, R. L.,

- Townsend, R., Sampson, H. A., Taylor, S. L., Fordham, J. R. (1996) Allergenicity of foods produced by genetic modification. *Crit. Rev. Food Sc. Nutr.* 36: S165-S186.
- MCT/CTNBio. (1999) Transgênicos. Brasília. 48 p.
- Millstone, E., Brunner, E. & Mayer, S. (1999). Beyond 'substantial equivalence'. *Nature*, 401: 525-526.
- Munkvold, G. P. (1999) Comparison of fumonisin concentrations in kernels of transgenic Bt maize hybrids and nontransgenic hybrids. *Plant Disease*, 83 (2): 130-137.
- NCBI (1999), National Center for Biotechnology Information. Disponível: NCBI site. URL: <http://ncbi.nlm.nih.gov>. Consultado em 20/11/99.
- OCDE (1992) Safety evaluation of foods derived from modern biotechnology, concepts and principles. Paris. 74 p. Disponível: OCDE site. URL: <http://www.oecd.org/subject/biotech/>. Consultado em 8/11/99.
- OCDE (1997) Safety Assessment of new foods: resulting of an OCDE survey of serum banks for allergenicity testing, and use of databases. Paris. 32 p. Disponível: OCDE site. URL: <http://www.oecd.org/subject/biotech/>. Consultado em 12/11/99.
- OCDE (1998) Report on the OCDE workshop on the toxicological and nutritional testing of novel foods. Paris. 48 p. Disponível: OCDE site. URL: <http://www.oecd.org/subject/biotech/>. Consultado em 10/10/99.
- OMS (1995) Application of the principles of substantial equivalence to the safety evaluation of foods or food components from plants derived by modern biotechnology. Report of a WHO Workshop. Geneva. 80 p.
- Padgett, S. R., Taylor, N. B., Nida, D. L., Bailey, M. R., Macdonald, J., Holden, L. R. & Fuchs, R. L. (1996) The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *J. Nutr.* 126: 702-716.
- Potter, N. N. & Hotchkiss, J. H. (1986) Food Science. Chapman & Hall, Nova Iorque. 608 p.
- Rech, E. and Aragão, F. J. L. (1999) A process for obtaining transgenic leguminous plants (Leguminosae) containing exogenous DNA. EMBRAPA, Brasília. *Patente: WO 99/18223*.
- Recommended Dietary Allowances (1989). *National Academy of Sciences, ed., décima edição*, National Academy Press, Washington DC. Disponível: USDA site. URL: <http://www.nat.usda.gov/fnic/dga/rda/pdf>. Consultado em 10/11/99.
- Sanders, P. R., Lee, T. C., Groth, M. E., Astwood, J. D., Fuchs, R. L. (1998) Safety assessment of insect-protected corn *In: Biotechnology and Safety Assessment, 2nd edition, Thomas, J. A., ed. (1999), 241-256*. Taylor & Francis, Filadélfia.
- Searle, S. R. (1971) Linear Models. John Wiley & Sons, 532 p. Nova York.
- Söndahl, M. R. & Lauritis, J. A. (1992) Coffee. *In: Biotechnology of Perennial Fruit Crops. Hammerschlag, F. A. & Litz, R. E., ed., 401-420*. CAB International, Wallingford.
- Sokal, A. (1996a) Transgressing the boundaries: toward a transformative hermeneutics of quantum gravity. *Social Text: spring/summer*
- Sokal, A. (1996b) A physicist experiments with cultural studies. *Lingua Franca, Maio-Junho: 62-64*.
- Steel, R. G. D. & Torrie, J. H. (1980) Principles and procedures of statistics, a biometrical approach. Mc-Graw-Hill, 633p. New York.
- US-FDA (1995) FDA's Policy for Foods Developed by Biotechnology. United States Food and Drug Administration, ed. Disponível: FDA site. <http://vm.cfsan.fda.gov> Consultado em 18/8/97.
- US-FDA (1997) Guidance on consultation procedures foods derived from new plant varieties. Office of Premarket Approval, Center for Food Safety and Applied Nutrition and Office of Surveillance and Compliance, Center for Veterinary Medicine, United States Food and Drug Administration, ed. Disponível: FDA site. <http://vm.cfsan.fda.gov>. Consultado em 20/11/99.
- US-FDA (1998) Partial list of microorganisms and microbial derived ingredients that are used in foods. Office of Premarket Approval, Center for Food Safety and Applied Nutrition and Office of Surveillance and Compliance, United States Food and Drug Administration, ed. Disponível: FDA site. URL: <http://vm.cfsan.fda.gov> Consultado em 22/10/99.
- The Commission of the European Communities (1997) Recommendations concerning the scientific aspects of information necessary to support applications for the placing on the market of novel foods and novel food ingredients. *OJ L 253, 16. 9. 1997*. Official Journal of the European Communities, ed. Bruxelas.
- Weinberg, S. (1996) Sokal's hoax. *New York Review: 08/08*.

