

Detecção de OGM e Qualidade Microbiológica de Soja (*Glycine max (L.) Merrill*) e seus Derivados

PINTON, Murilo Gallani
TSAI, Siu Mui
NASCIMENTO, Daniela Defavari do

Resumo

Com os avanços tecnológico e científico no campo da genética foi possível romper barreiras, especialmente, na área agrícola por meio do melhoramento genético permitindo a transferência de características de interesse agrônomo entre espécies que originaram os transgênicos. Dentre os alimentos transgênicos, a soja, uma planta rica em proteínas teve um aumento significativo de sua área plantada em nível mundial e vem ganhando cada vez mais destaque no cenário brasileiro devido aos inúmeros benefícios nutricionais à saúde humana de seu consumo e derivados. Assim, o presente trabalho teve como objetivo detectar a presença do promotor 35S em alimentos processados com soja transgênica por meio de técnicas moleculares e avaliar a qualidade sanitária dos alimentos usando análise microbiológica. Os resultados obtidos mostraram que as amostras analisadas apresentaram quantidade significativa de DNA (acima de 5,0nm/ μ L), embora de baixa qualidade. Para a análise de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), observou-se traços transgênicos somente no controle positivo, enquanto na análise microbiológica não foram observadas alterações nas amostras analisadas. Os resultados apresentados confirmaram a presença do gene transgênico somente na semente de soja geneticamente modificada. Nos alimentos analisados, que apresentavam em sua embalagem o símbolo transgênico, não foram encontrados traços transgênicos. Dessa forma, valida-se a qualidade e a segurança desses alimentos para a saúde humana. As técnicas moleculares e microbiológicas utilizadas foram precisas e adequadas para este tipo de análise.

Palavras-chave: Soja, OGM (Organismo Geneticamente Modificado), PCR.

Abstract

With the technological and scientific advances in the field of genetics it was possible to break down barriers, especially in the agricultural area through genetic improvement allowing the transfer of characteristics of agronomic interest among species that originated transgenics. Among transgenic foods, soybeans, a plant rich in proteins, have significantly increased their area planted worldwide and have been gaining more prominence in the Brazilian scenario due to the innumerable nutritional benefits to human health of their consumption and derivatives. Thus, the present work aimed to detect the presence of the 35S promoter in foods processed with transgenic soybean using molecular techniques and to evaluate the sanitary quality of the food using microbiological analysis. The results showed that the analyzed samples presented a significant amount of DNA (above 5.0nm / μ L), but of low quality. For PCR analysis (*Polymerase Chain Reaction*), transgenic traits were observed only in the positive control. And in the microbiological analysis, no changes were observed in the analyzed samples. In the present work, the presented results confirmed the presence of the transgenic gene only in genetically modified soybean. In the analyzed foods, which had the transgenic symbol in their packaging, no transgenic traits were found. In this way, the quality and safety of these foods is validated for human health. The molecular and microbiological techniques used were accurate and adequate for this type of analysis.

Key-words: Soybean, GMO (Genetically Modified Organism); PCR.

Resumen

Con los avances tecnológicos y científicos en el campo de la genética fue posible romper barreras, especialmente, en el área agrícola por medio del mejoramiento genético permitiendo la transferencia de características de interés agronómico entre especies que originaron los transgénicos. Entre los alimentos transgénicos, la soja, una planta rica en proteínas tuvo un aumento significativo de su área plantada a nivel mundial y vienen ganando cada vez más destaque en el escenario brasileño debido a los innumerables beneficios nutricionales a la salud humana de su consumo y derivados. Así, el presente trabajo tuvo como objetivo detectar la presencia del promotor 35S en alimentos procesados con soja transgénica por medio de técnicas moleculares y evaluar la calidad sanitaria de los alimentos usando análisis microbiológico. Los resultados obtenidos mostraron que las muestras analizadas presentaron una cantidad significativa de DNA (por encima de 5,0 nm / μ l), pero de baja calidad. Para el análisis de PCR (Polymerase Chain Reaction), se observaron rasgos transgénicos solamente en el control positivo. En el análisis microbiológico, no se observaron cambios en las muestras analizadas. En el presente trabajo, los resultados presentados confirmaron la presencia del gen transgénico solamente en la semilla de soja modificada genéticamente. En los alimentos analizados, que presentaban en su embalaje el símbolo transgénico, no se encontraron trazos transgénicos. De esta forma, se valida la calidad y la seguridad de esos alimentos para la salud humana. Las técnicas moleculares y microbiológicas, utilizadas fueron precisas y adecuadas para este tipo de análisis.

Palabras clave: Soja, OGM (Organismo Genéticamente Modificado), PCR.

INTRODUÇÃO

O termo transgenia representa uma evolução do melhoramento genético convencional, que permite transferir características de interesse agrônomo entre espécies diferentes. Isso acaba mostrando a importância desta tecnologia que permite aos cientistas isolarem genes de microrganismos, por exemplo, e transferi-los para plantas, com o objetivo de torná-las resistentes a doenças e a ações indesejadas de pragas ou fortalecer a planta deixando-as mais nutritivas, entre outras inúmeras aplicações, estabelecendo o desenvolvimento sustentável e controle dos recursos naturais. Essa alteração no DNA permite expressão de característica que não inexistente anteriormente. Na natureza, alterações ou mutações naturais acontecem e esses genes que contêm essas características acabam definindo o organismo ao receber um outro gene de outro organismo, como por exemplo, transformar um vegetal mais resistente a pragas ou deixá-lo mais nutritivo (EMBRAPA, 2018). Portanto, pode-se entender que transgênico é um organismo que possui uma sequência de DNA (ou parte do DNA) de outro organismo, que pode ser de uma outra espécie diferente. Já um OGM é um organismo que foi modificado geneticamente, que pode receber o gene transgênico de outro organismo ou ele pode possuir esse gene naturalmente. Portanto, um organismo transgênico foi submetido a técnica específica de inserção de um trecho de DNA de outra espécie. Assim, o transgênico é um tipo de OGM, mas nem todo OGM é um transgênico (EMBRAPA, 2018).

Com o avanço dessas técnicas de manipulação de genes e a eficiência que elas possuem, empresas viram potencial e começaram a investir em técnicas da engenharia genética, pois elas mostram os principais benefícios que seria a diminuição dos impactos do homem sobre a natureza, e as lavouras transgênicas, apresentando uma segurança para o meio ambiente e para a sociedade, oferecendo benefícios em relação às lavouras convencionais, substituindo técnicas convencionais como o preparo da terra, plantio e colheita por técnicas avançadas (GAVIOL; NUNES, 2015). Plantas transgênicas que estão disponíveis no mercado reduzem a necessidade de aplicação de defensivos agrícolas para combater as pragas, com isso colaboram a diminuir o gasto de água na preparação do agro defensivo e reduzir uso de combustíveis em máquinas utilizadas na lavoura. Assim as lavouras acabam se tornando mais produtivas e acabam contribuindo na redução de plantio em novas áreas (EMBRAPA, 2018).

Alimentos transgênicos têm ganhado bastante destaque no cenário brasileiro cada vez mais por conta da soja, milho e algodão. Por influenciarem na saúde, na economia, na política, na cultura e no meio ambiente como um todo, no entanto, a soja é a principal fonte de especulações e questionamentos, pois está em alta nos processos produtivos e mercado consumidor (HIRAKURI;

LAZZAROTTO, 2010). A produção de soja no Brasil é destaque nacional e internacional, concorrendo com grandes países como Estados Unidos, Argentina e China. A maior parte da soja produzida atualmente apresenta modificação genética, e os seus derivados mais relevantes são: grãos, farelos e óleos. Com base nas verificações iniciais, é notório o valor da soja brasileira partindo da avaliação de fatores micro e macroeconômicos que circundam a produção da oleaginosa nos contextos mundial e nacional (HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2010). O agronegócio brasileiro é responsável por 23,5% do Produto Interno Bruto (PIB), segundo dados da Confederação Nacional da Agricultura (CNA) de 2017, portanto o complexo da soja tem sido de extrema importância para a economia brasileira.

A soja (*Glycine Max*), é uma planta da família *Fabaceae* e hoje é cultivada mundo afora, principalmente na China que é seu país de origem. É importante ressaltar que sua agricultura duplicou a área de cultivo devido à expansão do setor produtivo e do crescimento mundial, seu grão contém de 18% a 20% de óleo e o farelo representa 79% (tem teor de proteína de 45%) (AGEITEC, 2019). O grão apresenta formato arredondado e cor amarela, da mesma família do feijão e é riquíssima em proteínas vegetais, com um perfil de aminoácidos de boa qualidade, apesar do teor reduzido de aminoácidos sulfurados, metionina e cistina. Por outro lado, possui alto teor de lisina, aminoácido limitante nos cereais (UFRGS, 2018).

A soja apresenta vitaminas do complexo B, com exceção da vitamina B12. Quando está na fase madura, contém as vitaminas E e K, mas não a D e quando está verde, apresenta bons teores de ácido ascórbico e β -caroteno. Além disso, a soja apresenta importantes fontes anti-nutricionais, tais como anti-tripsina, sendo encontrada no estado natural (crua) que inibe a absorção das proteínas. Após passar por um tratamento térmico amplia seu valor nutricional e inativa os fatores anti-nutricionais. Pode-se dizer que é considerada uma fonte de proteína completa, apresentando importantes aminoácidos essenciais para o organismo que devem ser adquiridos por fontes externas, por causa de sua inabilidade para sintetizá-los (UFRGS, 2018). A soja é também conhecida por possuir isoflavona (fito estrógeno), que auxilia a aliviar os sintomas relacionados à menopausa e climatério. O consumo da mesma, seria uma alternativa natural à terapia de reposição hormonal; onde colabora a reduzir propensão à osteoporose; além de ajudar diminuir os níveis de colesterol total e LDL (“colesterol ruim”), e eleva os níveis de HDL (“colesterol bom”), onde colabora a reduzir a incidência e o risco de determinados tipos de câncer, principalmente os hormônio-dependentes (GÓES-FAVONI et al., 2004).

Abrangendo todos os tópicos citados, o presente trabalho teve como objetivo detectar, por meio de técnicas moleculares, traços transgênicos em produtos derivados de soja a partir da extração de DNA e posterior utilização da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). A qualidade

dos produtos industrializados derivados de soja também foi avaliada por meio de análises microbiológicas, buscando pela presença de coliformes.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A soja, além de ser a principal cultura do agronegócio nacional e o principal grão cultivado no Brasil, vem se expandindo em diversas áreas, superando os demais grãos e cultivos da agricultura brasileira como a cana-de-açúcar (CONAB, 2018). Com esta grande expansão no mercado agrícola, a soja tem sido amplamente comercializada e distribuída interna e externamente, atraindo diversas empresas para este agronegócio, devido à alta demanda no mercado, que é promissora por conta da matéria prima e os seus produtos derivados como o farelo e óleo. Por conta das condições climáticas o Brasil, tem a expectativa de superar os Estados Unidos, em produção cultivada de soja, permitindo-o se tornar o principal produtor do grão (HIRAKURI et al., 2018).

A biotecnologia é, hoje, uma ciência essencial para disposição da área de pesquisa e para o pesquisador. Está em plena expansão e tem muito a contribuir para a sociedade do futuro. As novas descobertas na área consistirão importante material para diversas aplicações. Apresenta soluções para o futuro em relação aos problemas da alimentação humana, pois com seu grande avanço na produção anual dos alimentos pode-se aumentar consideravelmente e satisfazer às necessidades da população, e os produtos alimentícios acabam sendo mais econômicos e com melhor qualidade (OMS, 2008). Sendo assim a melhoria genética dos alimentos apresenta soluções para evitar cenários de fome por todo o mundo, situando que os alimentos transgênicos podem ser mais nutritivos, mais resistentes a pragas e ter maior adaptação em solos pobres em nutrientes do que os convencionais (THIEMAN; PALLADINO, 2004).

A agricultura tem alcançado não somente aumentar a produtividade dos alimentos, mas reduzir, ou mesmo eliminar, danos ao meio ambiente. O aprimoramento de técnicas agrícolas está aumentando a produtividade, melhorando a fertilidade do solo e protegendo o meio ambiente. Porém, deve-se considerar que o potencial produtivo e o melhoramento de plantas são considerados uma nova tecnologia para a obtenção de outras variedades melhoradas (THIEMAN; PALLADINO, 2004). Nesse contexto, a transgenia tem grande potencial considerando a variabilidade existente e disponível de seres vivos. Sendo assim, quando uma característica desejável não é encontrada no genoma da espécie de interesse, mas o gene responsável por essa característica é identificado em outra espécie, o gene pode ser transferido para a espécie a ser melhorada. Isso é possível porque o código genético é universal, ou seja, é o mesmo para todos os seres vivos (PATERNIANI, 2001).

A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) possui um desenvolvimento acelerado nos estudos de sequências de ácidos nucleicos (Molina; Tobo, 2004) e por meio de diversas etapas de variação de temperatura, a duplicação de cadeias de DNA *in vitro*. A reação tem como objetivo amplificar o DNA onde envolve o emprego dos quatro nucleotídeos (dNTP's do DNA); sequências iniciadoras que seriam os primers e uma DNA polimerase termoestável, possibilitando a obtenção de várias cópias de uma sequência específica de ácido nucleico, a partir da fita molde. Desde o início da utilização da técnica de PCR, o avanço na área de genética molecular vem se revolucionado cada vez mais (MOLINA; TOBO, 2004).

O conceito de qualidade principalmente em alimentos tem evoluído cada vez mais por conta das principais formas de contaminação, dentre as quais destacam-se a manipulação e a conservação inadequadas dos alimentos (FRANCESCATO et al., 2002). Com a modernização na ciência, métodos uteis surgiram a partir da década de 70, conseqüentemente, tendo a necessidade de se reduzir o tempo necessário para a obtenção de resultados e produtividade laboratorial, além de simplificar o trabalho e a redução de custos. Por isso os métodos de análise de alimentos são usados na maioria dos laboratórios em diversos países (CUNHA, 2006). As técnicas de análise, em relação a qualidade microbiológica são de extrema importância além de ser válida e reconhecida (PRIETO et al., 2008).

2 METODOLOGIA

As análises moleculares e microbiológicas deste presente trabalho foram realizadas no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), no Laboratório de Biologia Celular e Molecular

Utilizou-se metodologia simples e rápida de extração de DNA genômico da semente de soja, como descrito por Edwards; Johnstone e Thompson. (1991). Sementes da soja transgênica e convencional foram coletadas para a extração do DNA, conforme protocolo adaptado.

Após a coleta do material, o mesmo foi colocado em béquer com água ultrapura milli-Q autoclavada (para facilitar a maceração do mesmo), em seguida o material (sementes) foi macerado em cadinho usando pistilo de porcelana e nitrogênio líquido até obtenção de um pó (observação: nunca deixar o material descongelar). Após este processo foram transferidos 50 mg da amostra macerada para tubo Eppendorf de 1,5 mL, e adicionados 300 µL de tampão de Extração (200 mM Tris-HCl pH = 7,5; 200 mM NaCl; 25mM EDTA), colocando-o para homogeneizar em agitador tipo vortex por 30 segundos. Em seguida foi adicionado 10 µL de SDS 10%, e levado para centrifugar a 10.000g por 3 min a temperatura ambiente.

Posteriormente, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo e adicionado o mesmo volume de isopropanol e o tubo foi invertido 5 vezes, suavemente, levando-o para incubação a

temperatura ambiente por 5 min, e em seguida foi centrifugado a 10.000g por 10 min a temperatura ambiente. Após essa etapa, o sobrenadante foi descartado e foram adicionados 500 µL de etanol 70% gelado, e novamente centrifugado 10.000g por 5 min em temperatura ambiente. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi seco em temperatura ambiente por 30 min. Em seguida, colocando entre 50-75 µL de Tris-RNase, e levado para incubação do DNA a 37°C por 30 min, após foi mantido em freezer a -20°C até o uso.

O kit que foi utilizado para a extração de DNA dos alimentos é o Wizard® Magnetic DNA Purification System for Food, o qual é comumente utilizado para a extração e purificação de DNA de amostras de vários tipos de alimentos, incluindo os processados, de forma que o DNA extraído pode ser utilizado para detecção de traços transgênicos em alimentos. Os alimentos derivados de soja analisados foram hambúrguer de tofu; suco a base de soja não transgênica; bolacha com base de traços de soja transgênica e bolacha com base de traços de soja não transgênica.

Foram pesados 200 mg da amostra de alimento e transferidos para um tubo de 2 ml, assim foram adicionados 500 µL de Lysis Buffer A e 5 µL de RNase. Em seguida foi levado ao agitador tipo vortex por alguns segundos, adicionando posteriormente 250 µL de Lysis Buffer B, sendo novamente agitado em vortex por 15 segundos. Após esse processo a amostra foi incubada em temperatura ambiente (22-25 °C) por 10 minutos. Passado este tempo foi adicionado 750 µL de Precipitation Solution e novamente agitado em vortex. Em seguida foi centrifugado por 10 minutos a 13.000 xg. Após esse processo, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo (verificando exatamente o volume que foi transferido), foram utilizados 800 µL da amostra.

Foi necessário misturar vigorosamente a solução MagneSil® PMPs por 30 segundos e adicionar 50 µL ao tubo com o sobrenadante. Logo após foi adicionado isopropanol em uma proporção 0.8 µL em relação ao sobrenadante (ex: se foram transferidos 1000 µL de sobrenadante, adiciona-se 800 µL de isopropanol), foram adicionados 640 µL de isopropanol e incubados em temperatura ambiente por 5 minutos, misturando o conteúdo do tubo a cada minuto. Após este tempo, a amostra foi inserida no tubo e levada ao Magne Sphere® Technology Magnetic Separation Stand onde permaneceu por 1 minuto e, após, foi retirado o líquido com uma pipeta e descartado. O tubo foi removido do Stand e adicionados 250 µL de Lysis Buffer B. Invertendo o tubo 3 vezes para misturar. E novamente inserindo o tubo no Stand e deixando por 1 minuto e, após, foi retirado o líquido com uma pipeta e descartado.

Adicionou-se 1 ml de Etanol 70%, retornando o tubo para o Stand e deixando por mais 1 minuto. Retirou-se o líquido com uma pipeta e descartando. Este passo, foi repetido mais duas vezes, para um total de três lavagens com etanol 70%. Após terminar as lavagens as amostras, foram deixadas secando em (temperatura ambiente por 30 minutos, ou a 65 °C por 10 minutos, ou

a 45 °C no vácuo por 5 minutos), em processo a vácuo por 5 minutos a 45 °C. E em seguida foi adicionado 100 µL de TE (Tampão Tris EDTA), e levado para o agitador novamente para vortex por alguns segundos e incubado a 65 °C por 5 minutos em banho-maria. Por último as amostras contidas nos tubos foram levadas novamente ao Stand permanecendo por 1 minuto. Após este tempo, foi retirado o líquido - que é o DNA purificado - com uma pipeta e transferido para novo tubo.

As amostras de DNA de semente de soja e alimentos foram analisadas em relação a qualidade e quantidade de DNA em espectrofotômetro Nanodrop 2000c (Thermo Fisher Scientific), com densidade ótica de 260nm.

Para a verificação da presença de traços transgênicos nos alimentos industrializados, foi realizado o teste de prospecção do promotor35S (tamanho do fragmento 195 pb), por meio de PCR convencional no equipamento Termociclador Gene Amp PCR System 9700 (Life Technologies). Os *primes* utilizados para a reação de PCR foram o 5'-GCTCCTACAAATGCCATCA-3' (forward) e 5'-GATAGTGGGATTGTGCGTCA-3' (reverse). Foram utilizados como controle positivo e negativo da reação DNA extraídos das sementes de soja transgênica e convencional, respectivamente. As análises foram realizadas de acordo com protocolo descrito a seguir:

Reagentes e o volumes propostos para a condição do mix : 2,50 µL de BUFFER 10X PCR ; 0,75 µL de MgCl₂ 50 mM; 0,25 µL de DNTP's 10 mM ; 1,25 µL de P35SF 5 pMoles/µL; 1,25 µL de P35SR 5 pMoles/mL; 1,00 µL de DNA; 0,20 µL de Taq 5U/mL; e 17,8 µL de água. Tendo um total de 25,0 µL.

As condições de ciclagem que foram utilizadas para a reação de PCR convencional foram de 96°C por 3 minutos para a pré-desnaturação do DNA, seguido por 35 ciclos. O anelamento foi programado com um gradiente de temperatura, iniciando a 67°C e terminando com 62°C após 10 ciclos. Os 25 ciclos restantes foram programados da seguinte maneira: 94°C por 1 minuto para a desnaturação; 62°C por 1 minuto para o anelamento; e 72°C por 1 minuto para a extensão. Por fim, foi programado para a extensão final uma etapa de 10 minutos a 72°C. Após a reação de PCR, a confirmação da presença ou ausência de traços transgênicos nas sementes e nos produtos industrializados derivados de soja foram realizadas em gel de agarose 1%, corado com GelRed™ em Tris Buffered Saline (TSB). Em seguida o gel foi submetido a campo elétrico de 100V por aproximadamente 30 minutos e posteriormente foto-documentado.

Neste trabalho foi realizado análise microbiológica com as mesmas amostras de alimentos industrializados derivados de soja utilizados nas análises moleculares, seguindo o protocolo

“Análises Microbiológicas do Laboratório de Biologia Celular e Molecular” do CENA, para a análise de Teste Presuntivo.

Para o preparo do meio de cultura com concentração maior, foi pesado 4,2g do meio Lauryl Tryptose Broth (LTB) e adicionados 120 mL de água Ultrapura, após este passo é distribuído em quatro tubos de ensaio contendo o tubo Durhan invertido, 10 mL do meio de cultura em cada tubo e o tubo foi tampado, o mesmo serve para o preparo do meio de cultura menor porem foram pesados 4,2g do meio Lauryl Tryptose Broth (LTB) e adicionados 240 mL de água Ultrapura e distribuídos para oito tubos de ensaio contendo o tubo Durhan invertido, em seguida foram levados para autoclavar por 121°C (1Kg/cm² de pressão) durante 15 minutos; Para o preparo da amostra, foi pesado 10g de cada amostra em frascos de shot e diluídos com 90 mL de água Ultrapura, em seguida homogeneizada e levado para a capela de fluxo com o bico de Bunsen ligado, junto com o material já autoclavado.

Utilizando uma serie de doze tubos contendo o Caldo LTB, nos primeiros quatro tubos (os que contêm Caldo LTB de concentração maior) inoculou-se com pipeta esterilizada, 10 mL da amostra em cada tubo (Diluição 1:1); nos oito tubos restantes (os que contêm Caldo LTB de concentração menor), foram inoculados nos quatro primeiros tubos 1 mL da amostra (Diluição 1:10); e nos quatro últimos tubos, inocular 0,1mL da amostra, em cada tubo (Diluição 1:100). Após serem feitas as análises os tubos foram incubados em uma estufa BOD a 37°C por 48 horas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os DNAs extraídos das amostras foram submetidos a análises para identificar a quantidade e qualidade do DNA extraído (Tabela 1).

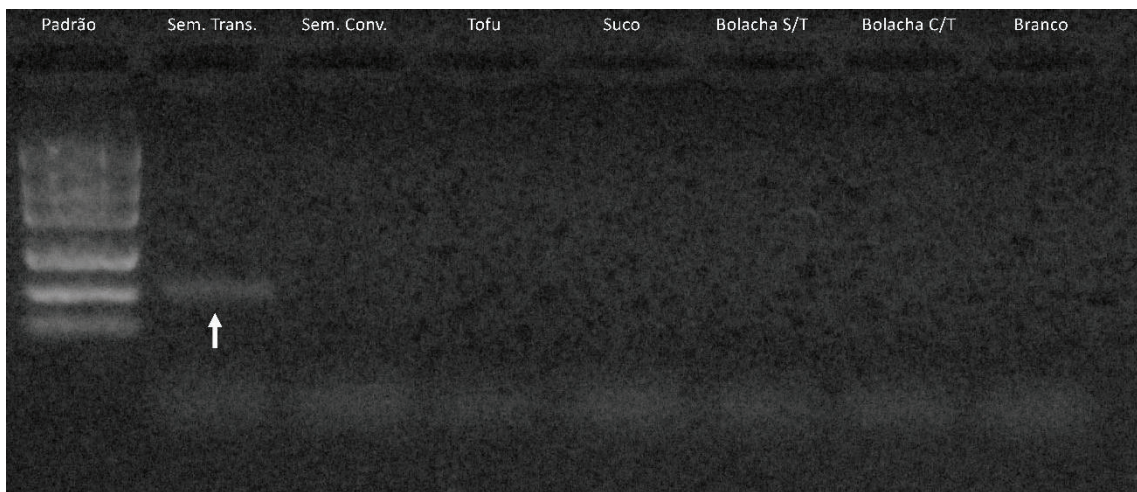
Tabela 1 - resultados de quantidade e qualidade do DNA extraído da semente de soja e dos alimentos derivados de soja

TIPOS DE AMOSTRAS	QUANTIDADE (mg/μl)	QUALIDADE (260nm/280nm)
Semente transgênica	83,0	1,66
Semente convencional	118,9	1,36
Tofu	5,8	8,54
Suco	42,6	4,64
Bolacha (S/T)	57,7	8,68
Bolacha (C/T)	59,7	7,81

As amostras apresentaram características distintas incluindo textura e umidade, conseqüentemente se comportaram diferentemente durante o processo de extração de DNA. O padrão 260/280 obtido foi abaixo do valor indicado que é entre 1,8 e 2,0 nm. Isso deve-se a possível presença de contaminantes e reagentes nas amostras (VENTURINI et al. 2019 submetido). Em relação à quantidade, foi possível obter uma boa quantidade de DNA, sendo que todas amostras testadas apresentaram concentração acima de 5,0ng/μL apesar de ter sido observada variação entre as amostras. O ácido nucléico necessita estar livre de impurezas (proteínas, lipídeos, outro ácido nucléico, reagentes de extração, etc.) apresentando uma concentração mínima de 5μg/mL, portanto quantidades menores não podem ser utilizadas (VIEIRA, 2008).

A análise de PCR foi realizada para as sete amostras, uma amostra de cada semente de soja convencional e transgênica; quatro alimentos industrializados derivados de soja; e o branco utilizado como controle negativo. Como resultado, obteve-se a confirmação da presença de traços transgênicos apenas na amostra da semente transgênica de soja, indicando que as amostras remanescentes não continham traços do gene transgênico, como pode ser visto na figura 1 abaixo:

Figura 3 - resultado da PCR das semente transgênicos e convencional e dos alimentos derivados de soja



A amostra de bolacha com indicação de presença de traços transgênicos na embalagem não apresentou a presença do promotor 35S. Sendo que o fator qualidade não foi um problema para a reação de PCR, pois o controle positivo que é a semente de soja transgênica amplificou normalmente (Figura 1). Isso pode estar relacionado a diversos fatores. É possível que tenha ocorrido a degradação completa do DNA da amostra devido ao processamento industrial a qual foi submetida ou pode estar de fato relacionado à ausência de material transgênico na amostra, embora partilhe de linha de produção na qual ingredientes provenientes de transgênicos sejam

usados, assim, sendo a indicação de transgênicos na embalagem apenas para se adequar à legislação no caso de possível presença de traços remanescentes da produção de outros produtos.

Para a análise microbiológica, foram utilizadas as amostras de alimentos industrializados derivados de soja, os mesmos que foram utilizados nas análises moleculares: o hambúrguer de tofu; suco a base de soja não transgênica; bolacha com base de traços de soja transgênica (C/T) e bolacha com base de traços de soja não transgênica (S/T). O protocolo foi seguido com sucesso, pois durante o processo de incubação de 48 horas não houve nenhuma alteração ou formação de gás, indicando que as amostras analisadas obtiveram o resultado negativo, sendo assim não foi necessário fazer as análises confirmativas (FMS, 2013). Esses resultados indicam que os alimentos estão adequados para o consumo (Tabela 2).

Tabela 2 - resultados das análises microbiológicas (não houve alteração)

ALIMENTOS	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
HAMBÚRGUER DE TOFU	-	-	-
SUCO	-	-	-
BOLACHA S/T	-	-	-
BOLACHA C/T	-	-	-

CONCLUSÃO

Foi possível identificar traços transgênicos apenas na semente de soja transgênica, que as amostras remanescentes não continham o gene transgênico. Além disso, amostras estão com qualidade aceitáveis para o consumo, indicando que as técnicas moleculares (extração de DNA e amplificação (PCR)) e microbiológica (deteção de coliformes), são precisas e convenientes para este tipo de análise.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fbl23vmz02wx5eo0sawqe3vtdl7vi.html>. Acesso em 24/05/2019.
- ANÁLISES Microbiológicas do (Laboratório de Biologia Celular e Molecular) Resp. Prof. ^a Dra. Tsai Siu Mui, 2004.
- CUNHA, M. A. Métodos de deteção de microrganismos indicadores. *Saúde & Ambiente em Revista*, v. 1, n. 1, p. 09-13, 2006.
- CAMARGO, C. F. D.; SILVA, P. R. Q. D. *Aplicação das técnicas de PCR e suas técnicas derivadas em diagnóstico molecular*. Disponível em: <http://www.cpgls.pucgoias.edu.br/6mostra/artigos/SAUDE/CLEYTON%20FLORENCIO%2>

ODE%20CAMARGO%20E%20PAULO%20ROBERTO%20QUEIROZ.pdf. Acesso em: 14 mai. 2019.

CONAB. Séries históricas de produção de grãos. 2018. Disponível em: Acesso em: 20 mai. 2019.
EDWARD, K.; JOHNSTONE, C.; THOMPSON, C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucleic Acids Research*, v. 19, n. 6, p.1349, 1991.

EMPRESA Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Transgenia: quebrando barreiras em prol da agropecuária brasileira. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-transgenicos/sobre-o-tema>. Acesso em: 10/09/2018.

ESTEVES, E. A.; MONTEIRO, J. B. R., 2001. Efeitos benéficos efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças. *Rev. Nutr*, 14(1), p. 43-52.

FRANCESCATO, R. F.; SEBASTIÃO, P. C. A.; SANTOS, H. H. P. Frequência de patógenos emergentes relacionados com doenças transmitidas por alimentos em áreas selecionadas no estado de São Paulo-julho de 1998 a julho de 2000. *NET-DTA*, v. 2, n. 1, 2002.

FUNDAÇÃO Nacional de Saúde (FMS) *Manual Prático de Análise de Água 4. Edição*. Brasília, 2013.
GAVIOLI, A. P. R. and NUNES, J. D. S. *A soja transgênica no Brasil e suas influências à saúde e ao meio ambiente*, 2015.

GÓES-FAVONI, S. P., BELÉIA, A. D. P., CARRÃO-PANIZZI, M.C. and MANDARINO, J. M. G., 2004. Isoflavonas em produtos comerciais de soja. *Ciênc. Tecnol. Aliment*, 24(4), p. 582-586.
GUERREIRO, L., 2006. Dossiê técnico: produtos de soja. *Rio de Janeiro: Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro (REDETEC), Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas (SBRT)*.

HIRAKURI, M.H., out 2018. *Análise de aspectos econômicos sobre a qualidade de grãos de soja no Brasil*. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/187998/1/CIRCULAR-TECNICA-145.pdf>. Acesso em: 22 mai. 2019.

JUHÁSZ, A. C. P., PÁDUA, G. D., WRUCK, D. S. M., FAVORETO, L. and RIBEIRO, N. R., 2013. Desafios fitossanitários para a produção de soja. *Informe Agropecuário*, 34(276), p. 66-75.
LAZZAROTTO, J. J. and HIRAKURI, M. H., 2010. Evolução e perspectivas de desempenho econômico associadas com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro. Londrina: *Embrapa Soja*, p. 46.

MATOS, E. C., ATUI, M. B., da SILVA, A. M., FERREIRA, A. R., NOGUEIRA, M. D., dos Santos Soares, J. and MARCIANO, M. A. M., 2015. Estudo da identidade histológica de subprodutos de soja (*Glycinemax* L.). *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 74(2), pp.104-110.

MOLINA, A. L.; TOBO, P. R. *Série Biologia Molecular Parte 2- Uso das Técnicas de biologia molecular para diagnóstico*. Hospital Israelita Albert Einstein. São Paulo-SP, 2004.
ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). *Convenção sobre Diversidade Biológica*, 2008.

PATERNIANI, E. Agricultura sustentável nos trópicos. *Estudos Avançados*, São Paulo, v. 15, n. 43, p. 303-326, 2001.

PRIETO, M.; MOUWEN, J. M.; PUENTE, S. L.; SÁNCHEZ, A. C. Concepto de calidad en la industria Agroalimentaria. *Interciencia*, v. 33, n. 4, p. 258-264, 2008.

THIEMAN, W. J.; PALLADINO, M. A. *Introduction to biotechnology*. 4. ed. San Francisco: Pearson/Benjamin Cummings, 2004.

UNIVERSIDADE Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). *O grão da soja*. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/alimentus/objetos-de-aprendizagem/soja/o-grao-de-soja>. Acesso em 13 out. 2018.

VIEIRA D. P. São Paulo. Universidade de São Paulo. *Técnicas de PCR: aplicações e padronização de reações*, 30 de junho de 2008. Disponível em: <http://www.imt.usp.br/wp-content/uploads/proto/protocolos/aula1.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2019.

1 PINTON, Murilo Gallani. Possui graduação em Tecnologia de Alimentos pela Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Deputado Roque Trevisan (2019). Com estágio no Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Laboratório de Biologia Celular e Molecular (CENA/USP). Tem experiência nas áreas Biologia Molecular, BPL (Boas Práticas de Laboratório) e Administração. Atualmente, é Auxiliar da Garantia da Qualidade BPL com ênfase em Resíduos de Agrotóxicos da Campo Verde Pesquisas Agrônomicas Ltda.

2 TSAI, Siu Mui. Graduada e licenciada em Engenharia Agrônômica pela Universidade de São Paulo (1971), com mestrado (1974) em Ciências (Energia Nuclear na Agricultura) e doutorado (1978) em Agronomia (Solos e Nutrição de Plantas) pela USP, especialização em Microbiologia pela Division of Plant Industry, CSIRO-Canberra, Austrália (1975), pós-doutorado em ecologia microbiana e em estudos genéticos da fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro, na Universidade de California - Davis (1989-1992). Prof. Livre-Docente em Biotecnologia Vegetal (1997) e Prof. Titular em 2006 pela USP, desenvolve pesquisas no Laboratório de Biologia Celular e Molecular (CENA-USP). Atualmente, exerce a função de vice-diretora do CENA/USP e vice-prefeita do Campus USP "Luiz de Queiroz". Foi membro do Comitê Gestor do Fundo Setorial do Agronegócio como representante do setor acadêmico-científico do MCTI-DF e membro do CA-Agrárias. Recipiente da Medalha Mérito Científico e Tecnológico, do Prêmio Scopus 2008, do Prêmio Desafio 2050 no Agronegócio (FAO) e Medalha "Amiga da Marinha" em 2018. Eleita membro titular da Academia Brasileira de Ciências em maio de 2008 e da Academia Mundial de Ciências em novembro de 2018. Áreas de Estudo: Agronomia, com ênfase em Microbiologia e Ecologia Microbiana Molecular, atuando principalmente nos seguintes temas: interação planta-microrganismos, simbioses, marcadores moleculares, sequenciamento de genomas, genes de defesa em plantas, ecologia microbiana, desmatamento e conversão do uso da terra com foco nos ciclos biogeoquímicos. Estudos com feijoeiro se concentram na determinação da tolerância ao estresse hídrico em genótipos elites na associação com microssimbiontes.

3 NASCIMENTO, Daniela Defavari do. Possui graduação em Engenharia Agrônômica pela Universidade de São Paulo (1997), graduação em Licenciatura em Ciências Agrárias pela ESALQ/USP (1998), mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas pela ESALQ/USP (2000) e doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) pela ESALQ/USP (2005). Especialista (MBA) em Agronegócios pelo PECEGE/ESALQ/USP (2012). Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Bioquímica e Biologia Molecular, atuando principalmente nos seguintes temas: cultura de tecidos, micropropagação de plantas, clonagem gênica, transformação genética de plantas (Tabaco, Arabidopsis, Eucalipto e cana-de-açúcar), análises moleculares. Desde 2010 é professora concursada por prazo indeterminado para as disciplinas: Biotecnologia e Bioetanol do curso de Graduação em Biocombustíveis; e Biotecnologia e Bioquímica de Alimentos do curso de Graduação em Alimentos, todos da FATEC Piracicaba "Deputado Roque Trevisan".