

Artigo Número 70

BIOTECNOLOGIA APLICADA AO VALOR NUTRICIONAL DOS ALIMENTOS

Gladstone Brumano¹

Introdução

A União das Nações Unidas projetou que a população mundial em 2050 será de 9,3 bilhões, com incremento de cerca de 35% da população atual. O mundo deverá produzir 50% a mais de alimentos para alimentar essa população, preservando a biodiversidade e sem devastar ecossistemas (FAO/WHO, 2000). O melhoramento de plantas e animais na busca pelo aumento da qualidade e quantidade de alimentos talvez constitua uma das soluções ao problema de suprimento alimentar.

O melhoramento genético clássico de plantas tem sido usado, com sucesso, há muitos anos no intuito de desenvolver espécies com características agrônômicas ou nutricionais importantes. No entanto, sempre existiram limitações, que foram superadas pela biotecnologia, utilizando a tecnologia do DNA recombinante. Essa nova tecnologia trouxe ganhos genéticos substanciais ao melhoramento de plantas, que não seriam possíveis com técnicas de melhoramento tradicionais (Herrera-Estrela, 2000). A Biotecnologia consiste num conjunto de aplicações tecnológicas que utilizam sistemas biológicos, sejam eles: plantas, animais, microrganismos, ou os seus derivados, para fabricar ou modificar produtos para um fim específico. Por vezes, a informação genética dos organismos utilizados é previamente manipulada, recorrendo a um conjunto de técnicas de engenharia genética que visam modificar os genes existentes, ou adicionar genes provenientes de um outro organismo. Estes organismos sujeitos à manipulação genética são designados organismos geneticamente modificados e podem eles próprios constituir um alimento, ou ser utilizados para produzir aditivos (vitaminas), ou auxiliares tecnológicos (enzima). Os alimentos obtidos por estas vias denominam-se alimentos transgênicos.

São citadas como características importantes dos alimentos geneticamente modificados, à resistência a pestes, doenças, herbicidas e estresses ambientais, melhoramento de estocagem pós-colheita, melhoria nas características de sabor, aroma e cor dos alimentos, bem como aumento no valor nutricional (Conner e Jacobs, 1999).

A existência de riscos associados aos organismos geneticamente modificados tem sido questionada há mais de vinte anos, muito antes de qualquer produto transgênico chegar ao mercado, gerando grandes discussões que envolveram governos, agricultores, comerciantes, associações de defesa dos animais, entre outros (Cavalli, 2001).

Dada a importância do milho e dos produtos do complexo da soja na alimentação animal - representando cerca de 30% e 17%, respectivamente, ou seja, 47% do total das matérias-primas consumidas - o debate em torno da utilização de organismos geneticamente modificados assume particular relevância na indústria de alimentos compostos para animais.

Alimentos geneticamente modificados que possuem resistência a determinados insetos e tolerância a herbicida são atualmente usadas como fontes de alimento pela indústria de produção animal. Outros alimentos alterados geneticamente que apresentam melhoria no valor nutricional também estão sendo produzidos. Os produtores querem

¹ gbrumano@yahoo.com.br

estar seguros quanto ao uso de certos alimentos transgênicos para o consumo animal. Além disso, é importante para os produtores que alimentos usados para animais, derivados de colheitas de transgênicos sejam tanto quanto ou mais nutritivos que os alimentos não transgênicos, e que os rendimentos de produtividade dos animais não variem pelo fato de ser uma fonte de alimento transgênico ou não transgênico.

Antes de uma colheita de transgênico ser trazida para ser comercializada, as companhias têm que mostrar se a variedade é "substancialmente equivalente" à variedade de não transgênico da qual foi derivado. São exigidos estudos para mostrar que os componentes bioquímicos da planta ou grão, como proteína total, fibra, aminoácidos e ácidos gordurosos, não diferem ou sejam superiores à variedade alterada. Então, o termo "equivalência substancial" para ambas as formas de variedade são o mesmo, com a exceção do gene recentemente introduzido e a proteína moderna expressa.

Melhoramento Genético Convencional

Com o melhoramento genético convencional tem sido possível a obtenção de maior produtividade, como o milho híbrido, e o desenvolvimento de variedades mais adaptadas às condições climáticas de certas regiões do Brasil, como a soja e a maçã. Tem sido possível ainda aumentar a resistência a pragas, como o feijão resistente a carunchos, e aumentar o valor nutricional de alimentos, como o milho QPM (milho de alta qualidade protéica). No melhoramento, a transferência de genes se dá por meio de cruzamentos (reprodução sexuada), misturando todo o conjunto de genes dos dois organismos em combinações aleatórias. Esses avanços, entretanto, demandam um longo tempo para serem alcançados, ao contrário dos obtidos pelo uso da tecnologia do DNA recombinante.

Tecnologia do DNA recombinante

O isolamento dos genes de interesse é conduzido por meio de técnicas de clonagem molecular que consiste em induzir um organismo e amplificar a seqüência de DNA de interesse, em sistemas que permitem uma fácil purificação e recuperação do referido fragmento de DNA. Para isso, são utilizados vetores de clonagem (plasmídeos ou vírus) nos quais a seqüência de DNA de interesse é inserida, utilizando a enzima DNA ligase. Quando necessário, o fragmento de DNA de interesse pode ser liberado do vetor por meio de enzimas de restrição. Uma vez isolado o gene de interesse, estes fragmentos de DNA (genes) são incorporados (por meio das técnicas de Engenharia Genética) no Genoma do organismo alvo, resultando em um organismo geneticamente modificado (OGM), cuja característica adquirida passa a ser hereditária.

A tecnologia do DNA Recombinante foi desenvolvida em 1973 e permite a transferência do material genético de um organismo para o outro de forma efetiva e eficiente. Ao invés de promover o cruzamento entre organismos relacionados para obter uma característica desejada, cientistas podem identificar e inserir, no genoma de um determinado organismo, um único gene responsável pela característica em particular. O gene inserido artificial ou intencionalmente no genoma de um organismo é denominado transgene. Desta forma, tem-se alteração precisa e previsível.

Transferência dos genes de interesse

A transferência dos genes se dá diretamente na célula vegetal, sendo o processo mais utilizado (especialmente para o caso de monocotiledôneas), ou através de agrobactérias. A transferência é alcançada por um dos métodos seguintes:

Eletroporação de protoplastos e células vegetais: protoplastos são células vegetais, desprovidas de parede celular. Para a transformação, são incubados em soluções que contêm os genes a serem transferidos e, em seguida, um choque elétrico de alta voltagem é aplicado por curtíssimo tempo. O choque causa uma alteração da membrana celular, o que permite a penetração e eventual integração dos genes no genoma.

Biobalística: técnica introduzida no início da década de oitenta. Baseia-se na utilização de microprojéteis de ouro ou tungstênio cobertos com os genes de interesse. Os microprojéteis são acelerados com pólvora ou gás em direção aos alvos que, neste caso, são os tecidos vegetais. Os genes entram nas células junto com o projétil de maneira não-letal, localizando-se aleatoriamente nas organelas celulares. Em seguida, o DNA é dissociado das micropartículas pela ação do líquido celular, ocorrendo o processo de integração do gene exógeno no genoma do organismo a ser modificado. A velocidade alcançada pelos microprojéteis atinge cerca de 1500 Km/h. Uma das vantagens do sistema é que este permite a introdução e expressão gênica em qualquer tipo de célula. Assim, foi permitida a transformação *in situ* de células diferenciadas sem necessidade de regeneração. Outra importante vantagem está na possibilidade de obtenção de plantas transgênicas através da transformação de células-mãe do meristema apical. A técnica de biobalística mostrou-se bastante eficiente, pois as micropartículas conseguem atingir as três camadas do meristema apical.

Vantagens do uso de alimentos geneticamente modificados

1. Aumentar a produção de alimentos com redução nos custos de produção;
2. Aumento da resistência induzida diminuindo assim, a necessidade do uso de herbicidas;
3. Produção de alimentos de maior qualidade nutricional e menor perecibilidade;
4. Produção de anticorpos em plantas transgênicas e a possibilidade de distribuí-las em massa;
5. Introdução de novas características não existentes no organismo em seu estado original.

Desvantagens do uso de alimentos geneticamente modificados

- Aumento das alergias pela transferência de genes de uma espécie para a outra porque a alergia é causada pelas proteínas que são produzidas por determinada espécie e a transferência de genes pode levar a esta característica de se fabricar mais ou outra proteína;
- Prejudicar seriamente o tratamento de algumas doenças de homens e animais. Isto ocorre porque muitos cultivos possuem genes de resistência antibiótica. Se o gene resistente atingir uma bactéria nociva, pode conferir-lhe imunidade ao antibiótico,

umentando a lista, já alarmante, de problemas médicos envolvendo doenças ligadas a bactérias imunes;

- Aumento de resíduos de agrotóxicos: alguns dos produtos transgênicos têm como característica adquirirem resistência aos efeitos dos agrotóxicos, como a soja transgênica "Roundup Ready", resistente ao herbicida Roundup, permitindo uma utilização mais intensa do agrotóxico, cujos resíduos permanecerão nos alimentos e poluirão os rios e o solo.
- Fluxo gênico: pode ocorrer a transferência de genes da planta transgênica para uma espécie diferente que pode ser um parente silvestre ou plantas daninhas sexualmente compatíveis podendo gerar desequilíbrio nas cadeias alimentares e no próprio ecossistema;
- Desenvolvimento de resistência em pragas e doenças se houver a transferência do gen resistente da planta;
- Impactos sobre a biodiversidade: O uso da engenharia genética na agricultura está se espalhando rapidamente com a globalização, sendo amplamente aplicado em monoculturas (são as monoculturas as grandes disseminadoras da engenharia genética) que, juntamente com outros fatores, são responsáveis pela diminuição da diversidade de espécies. A uniformidade genética leva a uma maior vulnerabilidade do cultivo porque a invasão de pestes, doenças e ervas daninha sempre é maior em áreas que plantam o mesmo tipo de cultivo.
- E outros efeitos colaterais que não podem ser previstos a curto prazo.

Fases da produção dos alimentos geneticamente modificados

Primeira Fase: O desenvolvimento da biotecnologia pode ser dividido em três fases. A primeira fase consiste na introdução de características agrônômicas. Desde 1995, alguns produtos com melhores aspectos culturais têm sido lançados no mercado, como a soja *Roundup Ready*, tolerante ao glifosato, um ingrediente ativo do herbicida Roundup. Outro exemplo de produto com melhores aspectos culturais é o milho *YieldGard*. Este milho possui um gene que codifica para uma proteína inseticida que ocorre naturalmente na bactéria *Bacillus thuringiensis* e confere resistência à broca no milho, inseto que infesta a cultura e reduz sua produção em 6% a 20%.

Segunda Fase: A segunda fase da biotecnologia visa à produção de culturas de melhor qualidade. O melhoramento genético clássico tem produzido alimentos diferenciados, como a canola com alto teor de ácido erúico e glicosinolato, milho ceroso com alto teor de amilose, arroz com grão longo e trigo *durrun*. Vários produtos para ração animal estão sendo desenvolvidos, dentre os quais aqueles com grãos com alta densidade calórica, devido ao elevado conteúdo de óleo; e os de grãos com alta densidade de nutrientes, principalmente teor de proteína, aminoácidos essenciais ou micronutrientes. O milho com alto teor de óleo (6% ou mais) e/ou alto teor de proteína é resultado do melhoramento molecular. Outro exemplo da biotecnologia, introduzindo genes que alteram vias metabólicas, é a produção de gordura sólida ou semi-sólida sem ácidos graxos *trans* nas sementes oleaginosas. Isso é possível inibindo-se a conversão de ácido esteárico para oléico em soja e canola. A melhoria de atributos como flatulência, *flavor* do feijão, propriedades de textura e emulsificação da soja também são exemplos de novos produtos da biotecnologia da segunda fase.

Terceira Fase: A terceira fase da biotecnologia objetiva o uso de plantas como "biofábricas", produzindo alimentos nutricionalmente fortificados e substituindo a adição

de constituintes sintéticos aos alimentos. Um exemplo é o óleo de canola rico em caroteno. Desse modo, a biotecnologia pode ser utilizada para suprir as deficiências nutricionais, como a vitamina A. A biotecnologia também pode ser usada para reduzir o conteúdo de fatores antinutricionais, assim como para fornecer novos nutrientes nos grãos, como os fitoesteróis, os quais têm o potencial de reduzir de 10% a 15% os níveis de colesterol em humanos. Outras aplicações da biotecnologia para um futuro próximo incluem a modulação de doenças pela manipulação de compostos antioxidantes, antiinflamatórios e estimulantes do sistema imune nos alimentos.

Avaliação de riscos de alimentos geneticamente modificados

Princípio da equivalência substancial

Em 1993, a Organização for Economic Cooperation and Development (OECD) formulou o conceito de equivalência substancial (ES) como ferramenta guia na avaliação de segurança de alimentos geneticamente modificados. O Conceito de ES partiu da idéia de que alimentos já existentes podem servir como base para a comparação do alimento geneticamente modificado com o análogo convencional. Críticas levantadas, ao longo do tempo, levaram a revisão das bases científicas da aplicação e limitações do conceito de ES. Tal fato resultou em recomendações sobre seus limites e aplicação, bem como sobre a avaliação dos efeitos em longo prazo (alergenicidade e genes marcadores). Também foi recomendado (FAO/WHO, 2001) o refinamento metodológico para superar algumas limitações da ES, especialmente para futuros produtos mais complexos, estimulando pesquisas sobre o tema. A discussão sobre as limitações do uso prático da ES mostrou a importância da uniformização do conceito nos diversos países (estabelecer etapas e parâmetros de avaliação bem-definidos, com padronização de metodologias para experiências de campo, para análises e estatística) e do desenvolvimento de bases de dados agrônomicos e da composição de plantas que permitissem comparações seguras. A ES (baseada na composição química dos alimentos geneticamente modificados) não representa aval de segurança, mas auxilia na identificação de semelhanças e diferenças entre os alimentos convencionais e modificados que orientam a necessidade e o tipo de avaliação nutricional e toxicológica a serem adotadas (Lajolo e Nutti, 2003).

Alergenicidade

A alergenicidade constitui risco muito importante a ser avaliado, levando-se em conta que os alergênicos alimentares são proteínas que podem ser oriundas de genes endógenos ou exógenos. Uma árvore de decisão foi idealizada pela Food and Agriculture Organization (FAO) com o objetivo de avaliar o potencial de alergenicidade de proteínas transgênicas (FAO/WHO, 2001). O primeiro passo refere-se à comparação da estrutura da nova proteína com estruturas de conhecidos alergênicos pelo alinhamento das seqüências de aminoácidos em bases de dados computacionais. A direção a seguir, após o primeiro passo, depende da fonte do gene. Se a fonte do gene for de alergênico conhecido, a sua reação com soro de pacientes alérgicos a essa fonte deve ser testada. No caso de resultado negativo, testes posteriores devem ser realizados envolvendo soro de pacientes alérgicos a organismos fortemente relacionados à fonte do gene. Dependendo do resultado, novos testes são requeridos envolvendo a digestão *in vitro* com pepsina e triagens em animais. Se em qualquer dos passos houver resultado positivo, o organismo geneticamente modificado é considerado como provável alergênico (Cockburn, 2002).

Toxicidade

O novo gene pode produzir tanto o efeito desejado como desencadear reação indesejável. Alguns genes de toxinas naturais, tais como inibidores de proteases nas leguminosas cianogênicas, poderiam ser induzidos à expressão e representar risco aos consumidores desses alimentos (Uzogara, 2000). Lajolo e Nutti (2003) afirmaram que proteínas expressas como consequência da modificação genética, em produtos apresentados para comercialização, não evidenciaram efeitos adversos relevantes em ensaios químicos e toxicológicos. Além disso, em sua maioria, não se mostraram potencialmente alergênicos.

Alterações na qualidade nutricional e funcional dos alimentos

Vários são os macro e micro nutrientes dos alimentos, compostos e aditivos alimentares que podem sofrer alterações por meio da introdução de genes exógenos, citam-se (Costa, 2002; Del Giudice et al., 2000):

Proteínas

A introdução dos genes que codificam as enzimas aspartato quinase e diidrodipicolinato sintase de bactérias menos sensíveis à inibição por lisina dentro da batata resultou em aumentos de 6, 8 e 2 vezes nos teores de lisina, treonina e metionina, respectivamente. O nível de lisina chegou a 15% do aminoácido total, enquanto nas plantas não transformadas esse nível foi de 1%. A metionina é o aminoácido limitante da soja e, devido à sua hidrofobicidade, sua inserção resulta na melhoria do valor nutricional e funcional dessa oleaginosa. O aumento da hidrofobicidade aumenta a formação de gel induzido pelo calor e a capacidade emulsificante da soja.

As plantas transgênicas podem ser uma fonte alternativa viável de hemoglobina, uma vez que elas constituem uma fonte de biomassa barata, e as produções de culturas transgênicas têm sido disponíveis comercialmente em alguns países. Plantas transgênicas podem expressar várias proteínas do leite humano. Por exemplo, tem sido demonstrado que o gene que codifica a β -caseína pode ser introduzido na batata, da mesma forma, α -lactoalbumina e lactoferrina podem ser expressas em tabaco.

Lipídios

A manipulação do perfil de ácidos graxos por meio da biotecnologia pode trazer benefícios nutricionais. O melhoramento convencional tem produzido óleos de girassol e amendoim ricos em ácido oléico, os quais são normalmente ricos em ácido linoléico. Por meio de mutações, em girassol, o conteúdo de ácido oléico aumentou de 29% para 84%. Mutantes da soja com menores teores de ácido palmítico e maiores teores de ácido esteárico têm sido obtidos. Essas alterações no perfil de ácidos graxos, aumentando o teor de ácidos graxos monoinsaturados e reduzindo o teor de ácido palmítico, têm implicações na redução do risco de doenças cardiovasculares.

Por meio da biotecnologia foi desenvolvida a canola com elevado teor de ácido esteárico (18:0), pela supressão da enzima-9-dessaturase. O ácido esteárico, embora seja saturado, tem menos implicações no perfil lipídico, uma vez que pode ser convertido em ácido oléico no organismo. O óleo requer menor ou nenhuma hidrogenação e, portanto, não são produzidos ácidos graxos *trans*.

Outra forma de evitar a hidrogenação e a geração de ácidos graxos *trans* é aumentando a expressão do ácido oléico (18:1 n-9) no lugar do ácido linoléico (18:2 n-6) e α -linolênico (18:3 n-3), pela supressão da enzima-12-dessaturase. O óleo com mais ácido oléico é menos suscetível à oxidação.

Com o uso da biotecnologia, o DNA que expressa a enzima-6-dessaturase foi introduzido no tabaco a partir de *Borago officinalis* L., cujas sementes contêm cerca de 20% a 25% de ácido γ -linolênico. Com isso, outras culturas com maior produtividade podem se tornar fontes deste ácido, que são importantes na manutenção da estrutura e função da membrana, na regulação da síntese e transporte de colesterol e na prevenção da perda de água pela pele e como precursores de eicosanóides, incluindo prostaglandinas e leucotrienos.

Os ácidos graxos saturados mirístico e palmítico aumentam os níveis de LDL-colesterol, enquanto o esteárico é neutro. Os ácidos graxos monoinsaturados (oléico) e os poliinsaturados linoléico e α -linolênico reduzem os níveis de LDL-colesterol e, conseqüentemente, o risco de doenças cardiovasculares. Cientistas do Departamento de Agricultura norte-americano (USDA) desenvolveram um germoplasma que pode levar à produção de óleo de soja com maiores níveis de gordura monoinsaturada, o que poderá melhorar seus benefícios à saúde, pela proteção cardiovascular desses ácidos graxos, além de reduzir a produção de ácidos graxos *trans* com o processo de hidrogenação do óleo de soja, na produção de margarina e gordura hidrogenada.

Minerais (Zinco e Ferro)

As estratégias do melhoramento de plantas para controlar deficiências de zinco incluem o aumento da concentração de zinco nas plantas, redução da quantidade de ácido fítico e aumento da concentração de aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína), os quais aumentam a absorção de zinco pelas plantas.

O enriquecimento com ferro, através do melhoramento genético ou da biotecnologia, tem sido uma alternativa com perspectivas sustentáveis para alimentos que fazem parte da dieta básica de populações. Essa forma de enriquecimento pode ser usada em substituição ou em conjunto com a suplementação medicamentosa, que tem efeitos colaterais, ou a fortificação de alimentos, que pode ter baixa abrangência, uma vez que somente os produtos industrializados são fortificados.

O conteúdo de ferro nos tecidos da planta pode ser aumentado pela maior captação de ferro do solo. Na deficiência de ferro, a enzima Fe³⁺ quelato redutase, que reduz o Fe³⁺ para a forma Fe²⁺ mais solúvel, é induzida e, finalmente, o Fe²⁺ é captado por transportadores. Gene que induz a superexpressão da redutase-oxidase 2 férrica de levedura tem sido expresso em tabaco, aumentando a atividade da Fe³⁺ quelato redutase.

Proteínas transportadoras de ferro como a Nramp (natural resistance-associated macrophage protein) e IRT1 (iron regulated transporter 1), podem ser superexpressas, aumentando a concentração de ferro nas plantas, como milho, trigo e arroz.

Com o objetivo de elevar o teor de ferro do arroz branco ou polido, foi realizada a inserção de genes que expressam três proteínas no endosperma central: fitoferrina de *Phaseolus*, proteína semelhante à metalotioneína, rica em cisteína endógena, e uma fitase de *Aspergillus fumigatus* termorresistente. A proteína semelhante à metalotioneína, rica em cisteína, superexpressa em arroz aumentou o conteúdo de resíduos de cisteína sete vezes e o nível de fitase 130 vezes. O consumo extra de ferro no arroz transgênico parece ser de significância nutricional, considerando-se um consumo diário de 300 g de

arroz por um adulto, o que representaria elevar de 3mg para 6 mg de ferro provenientes do arroz, o equivalente a 20% das recomendações diárias de ferro.

Os peptídeos ricos em cisteína melhoram a absorção de ferro no intestino, pois são considerados os principais contribuidores na absorção de ferro. Outra opção para aumentar o conteúdo de ferro em plantas é a introdução de ácido ascórbico, hemoglobina e peptídeos contendo cisteína no tecido vegetal.

Vitaminas (E, C e β -caroteno)

A vitamina E tem ação antioxidante e tem maior atividade de vitamina na forma de α -tocoferol. A introdução do gene tocoferol metiltransferase na planta converte γ -tocoferol em α -tocoferol, aumentando a atividade da vitamina. A vitamina C também tem ação antioxidante, além de aumentar a absorção de ferro da dieta. O nível de vitamina C pode ser aumentado, expressando-se o gene que codifica a enzima L-galactona- α -lactona desidrogenase. Em plantas e alguns animais, o ácido ascórbico é sintetizado a partir da glicose.

A engenharia genética foi usada para produzir grãos de arroz ricos em β -caroteno. O endosperma de arroz imaturo pode sintetizar o composto intermediário geranilgeranil difosfato, uma molécula isoprenóide de 20 carbonos. A condensação de duas moléculas de geranilgeranil difosfato produz o fitoeno, uma molécula com 40 carbonos. O fitoeno é o primeiro carotenóide precursor na via biossintética para a produção de β -caroteno, pela expressão da enzima fitoeno sintase.

Fatores Antinutricionais

Fatores antinutricionais reduzem a utilização de nutrientes dos alimentos. Dentre eles, os inibidores de proteases, como os inibidores Kunitz (KTI) e Boman-Birk (BBI) presentes na soja, que reduzem a digestibilidade das proteínas. As lipoxigenases também presentes na soja contribuem para o sabor indesejável e para a oxidação dos lipídios. Pela biotecnologia é possível eliminar a produção desses fatores antinutricionais, porém, isso pode implicar na redução de aminoácidos sulfurados, como a metionina e cisteína, que já são limitantes na soja.

A adição de fitase de *Aspergillus niger* em soja e canola, via transgênese, levou a uma menor excreção de fósforo nas fezes de frangos e de suínos, indicando maior biodisponibilidade de fósforo e de outros minerais normalmente quelados ao fitato, como ferro e zinco. Além disso, a menor liberação de fósforo no ambiente reduz seu arraste pela água, reduzindo o impacto ambiental. O uso de fitase em vez da remoção do fitato do alimento tem a vantagem de não reduzir o teor de fósforo do alimento, além de aumentar a sua biodisponibilidade.

Probiótico

Um probiótico recombinante derivado do *Lactobacillus johnsonii* possibilitou o desvio da rota do piruvato para produção de L-lactato em vez do D-lactato. Com isso, o uso dessa bactéria probiótica pode manter seus efeitos benéficos e, pela ausência do D-lactato, reduzir o risco de acidose e encefalopatia em pacientes com síndrome do intestino curto ou com disfunções intestinais. Probióticos podem ser geneticamente modificados para sintetizar determinados imunogenes que estimulariam o hospedeiro a responder mais eficientemente a certos microrganismos patogênicos. Os avanços recentes na engenharia genética prometem a geração de probióticos modificados com

benefícios específicos à saúde. Por exemplo, organismos probióticos produzindo determinadas enzimas podem facilitar a digestão de uma diversidade de fibras vegetais ou de digerir suas dietas de maneira mais eficiente, sendo este fato muito útil à produção de aves e suínos, que apresentam baixa digestão das fibras. Estirpes de probióticos mais resistentes ao calor poderiam facilitar o processo de peletização usado na produção de ração animal.

Prebiótico (Frutanas)

Frutanas são polímeros de frutose com ligações β -2,1 ou β -2,6, também chamadas de frutoligosacarídeos (FOS) ou inulina. Não são digeridas no trato gastrointestinal, porém, são amplamente fermentadas pela microbiota intestinal, resultando em ácidos graxos de cadeia curta, que são aparentemente os responsáveis pelos efeitos benéficos das frutanas na promoção da saúde. O consumo de cerca de 5 g de inulina por dia favorece o crescimento de bifidobactéria (efeito bifidogênico) e, por isso, a inulina e FOS são chamados de prebiótico. As bactérias bífidas estão associadas a uma série de efeitos benéficos, como inibição do crescimento de bactérias patogênicas, produção de vitaminas do complexo B, redução da concentração sanguínea de amônia e redução dos níveis de colesterol. O consumo de inulina tem sido associado ainda a um aumento na absorção de minerais e redução do risco de câncer de cólon. As enzimas que sintetizam frutanas nas plantas, sacarose:frutosiltransferase (SST) e frutana:frutana frutosil transferase (FFT), usam sacarose como substrato, o que faz da beterraba e da cana-de-açúcar fortes candidatas a serem "biofábrica" de frutanas. Os prebióticos juntamente com os probióticos são muito utilizados na alimentação de aves e suínos, em substituição aos antibióticos, como promotores de crescimento.

Antioxidantes

Carotenóides: Os carotenóides são antioxidantes, e alguns têm propriedade provitamina A. A introdução da biossíntese do β -caroteno em alimentos básicos como o arroz pela superexpressão da fitoene sintase, fitoene desaturase e licopeno β -ciclase é, portanto, uma importante conquista da biotecnologia. Níveis de 2 mg/kg de β -caroteno no arroz-dourado (*Golden rice*) e aumentos de 50 vezes no teor de β -caroteno na canola e de três vezes no tomate são alguns benefícios que a biotecnologia tem proporcionado. O licopeno, carotenóide que confere coloração vermelha ao tomate, também tem ação antioxidante. Os genes *crt* de *Erwinia* spp. têm sido usados para produzir licopeno, β -caroteno e zeaxantina em *E. coli* e outras bactérias.

Vitamina E: Os tocoferóis são antioxidantes lipossolúveis. Níveis de vitamina E foram aumentados em 10 vezes em óleo da semente de *Arabidopsis* pela superexpressão da enzima γ -tocoferol metiltransferase. Nas sementes naturais, há predominância de γ -tocoferol e, nas transgênicas, 85 a 95% que estão na forma de α -tocoferol, o que representa um aumento na atividade de vitamina E.

Flavonóides: A biossíntese de flavonóides e antocianinas foi um dos primeiros alvos para a engenharia genética, uma vez que suas vias biossintéticas são bem conhecidas. Em razão da atividade antioxidante, altos níveis de antocianinas e flavonóides têm sido conseguidos em muitos estudos.

Isoflavonas: Isoflavonas podem agir como fitoestrógenos, o que tem gerado grande interesse no uso desses compostos no tratamento e prevenção de certas desordens hormonais em humanos. A ocorrência de isoflavonas é limitada primariamente às leguminosas, nas quais a primeira etapa da biossíntese é catalisada pela IFS (isoflavona sintase). Recentes clonagens dos genes que codificam IFS têm aberto caminhos para a

engenharia de isoflavonas em plantas que normalmente não apresentam esses compostos.

Produção de aminoácidos

O primeiro aminoácido produzido industrialmente foi a L-lisina, em 1956, por descarboxilação enzimática do ácido aminopimélico, pela Pfizer. Em seguida foi desenvolvida a síntese microbiana pela Kyowa, em 1957.

Nos organismos produtores de lisina utilizados pela indústria, tais como mutantes de *Corynebacterium Glutamicum*, a enzima aspartato quinase, é regulada em retro inibição por treonina e lisina, sendo uma enzima chave na produção da lisina via L-aspartato. Pela remoção genética de homoserina-desidrogenase, uma linhagem de *Corynebacterium*, produtora de glutamato, foi convertida em um mutante super produtor de lisina. Assim, a tecnologia do DNA recombinante foi de grande importância na produção de lisina, que envolveu o aumento dos níveis de aspartato quinase, resultando em maior eficiência na produção da lisina.

O ácido L-glutâmico é produzido por espécies do gênero *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Microbacterium* e *Arrobacter*. Trabalhos conduzidos mais recentemente, utilizando técnicas de mutagênese dirigida e mutagênese por transposons, indicaram que a enzima fosfoenolpiruvato carboxilase era a peça chave para o fornecimento de 2-oxoglutarato e oxaloacetato, considerados os intermediários mais importantes na via biossintética do ácido glutâmico. Somente utilizando técnicas de ressonância magnética nuclear foi possível detectar a atividade do piruvato carboxilase em bactérias do gênero *Corynebacterium*. Desta forma, ficou evidente que a piruvato carboxilase, juntamente com a fosfoenolpiruvato carboxilase, suprem o oxaloacetato necessário para síntese do ácido glutâmico.

Na produção microbiana destacam-se duas características interessantes: o emprego de mutantes auxotróficos e a aplicação do conhecimento dos mecanismos de controle metabólico. A tecnologia da recombinação e a mutagênese tradicional, seguida de seleção, têm sido as principais metodologias usadas na construção de linhagens bacterianas capazes de produzir os seguintes aminoácidos: L-treonina, L-triptofano, L-lisina, L-isoleucina, L-valina, L-arginina, L-leucina, L-prolina, L-fenilalanina, L-histidina e L-tirosina.

Alimentos geneticamente modificados

Alguns alimentos que estão e foram desenvolvidos com o uso de organismos geneticamente modificados, com intuito de melhora nutricional, tem-se (Sharma, 2002):

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

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

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. O *Golden rice*, ou arroz-dourado, foi geneticamente modificado para expressar alto conteúdo de carotenóide, tem recebido atenção da mídia pelo seu potencial em suprir provitamina A para milhões de indivíduos. Três genes tirados do narciso-silvestre e da bactéria *Erwinia* sp foram introduzidos no arroz para produzir um grão amarelo, com altos níveis de β -caroteno, que é convertido em vitamina A no organismo. A introdução simultânea desses genes foi um dos maiores avanços tecnológicos, e 1,6 a 2 μ g de β -caroteno/g de arroz fresco foram expressos. Esforços iniciais com o *Golden rice* têm-se concentrado na Índia, mas a tecnologia deverá se estender a outros países da Ásia, África e América do Sul.

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 oléico (com 80% deste ácido graxo; os óleos produzidos a partir de variedades convencionais de soja contêm 24% de ácido oleico). Está provado que a diminuição da ingestão de gorduras saturadas e o aumento da ingestão de gorduras mono e poliinsaturadas 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 às 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.

Desempenho de animais utilizando alimentos geneticamente modificados

Aulrich et al. (1998) alimentando galinhas poedeiras com milho transgênico e não transgênico, não encontraram nenhuma diferença na composição nutricional, ganho de peso, digestibilidade da matéria orgânica e da proteína, como também da energia disponível para metabolismo. Brake e Vlachos (1998) administraram um estudo com frangos de corte até 38 dias de idade, comparando milho transgênico e não transgênico e não encontrou diferença em mortalidade, ganho de peso, consumo de ração, enquanto medindo uma melhoria ($p < 0,05$) na conversão alimentar. Dados de carcaça não diferiram entre grupos, exceto o rendimento de carne de peito que foi mais alto ($P < 0,05$) para os frangos alimentados com milho transgênico. Porém, diferenças leves na composição das dietas podem ter sido a causa para estas melhorias com o milho transgênico. Mireles et al. (2000) administrou um estudos para comparar composição nutricional e disponibilidade em milho transgênico e não transgênico. Medindo a energia metabolizável verdadeira e a digestibilidade dos aminoácidos, não encontraram nenhuma diferença entre as duas fontes de milho.

Weber et al. (2000) comparando o desempenho e as características de carcaça de suínos em crescimento e terminação alimentados com milho transgênico, não transgênico isogênico e milho CS (commodity-sourced), não encontraram nenhuma diferença em ganho de peso diário, consumo alimentar e eficiência alimentar. Porcos alimentados com milho transgênico e não transgênico não diferiram em peso de carcaça; porém, porcos alimentados com milho isogênico tiveram maiores pesos de carcaça e porcentagens de peso mais altos que os outros dois grupos ($P < 0,05$). Porcos alimentados com o milho controle isogênico tiveram porcentagens de carnes magras menores e maior profundidade de gordura na 10^a costela que porcos alimentados com dietas que contêm milho transgênico e o milho CS ($P < 0,05$). Porcos alimentados com o milho não transgênico tiveram maior profundidade de gordura nas últimas vértebras lombares que porcos alimentados com o milho CS ($P < 0,05$). Contagens de marmoreio eram mais altos para porcos alimentados com milho transgênico e não transgênico ($P < 0,05$). Os pesquisadores concluíram que milho transgênico não teve nenhum efeito adverso no desempenho e crescimento dos suínos ou em suas características de carcaça.

Milhos herbicida tolerante e não herbicida tolerante foram comparados em estudos de metabolismo de suíno por Bohme e Aulrich (1999). Os resultados não mostraram nenhuma diferença em digestibilidade da proteína, nitrogênio não protéico e energia digestível e metabolizável.

Faust e Miller (1997) alimentando vacas em pastejo em lactação com milho transgênico e não transgênico durante 14 dias, não verificaram nenhuma diferença no consumo de alimento, produção de leite, composição do leite ou saúde de úbere.

Donkin et al. (2000) alimentando vacas leiteira em lactação com silagem de milho glifosfato tolerante e glifosfato não tolerante e grão de milho em rações de misturas idênticas. Os autores não encontraram nenhuma diferença no consumo de matéria seca, produção de leite, rendimento de proteína do leite, rendimento de lactose e gordura, entre os dois grupos de tratamento. Igualmente, nenhuma diferença foi encontrada na composição do leite quando medido por porcentagem de gordura, proteína, lactose e sólidos sem gordura.

O desempenho animal de gado de corte que pastaram resíduo de milho transgênico e não transgênico foi comparado por um período de dois anos (Russell et al., 2000; Russell et al., 1999). Não houve nenhuma diferença no desempenho animal em qualquer ano do estudo.

Kerley et al. (2001) compararam milho transgênico e não transgênico alimentando bois de corte durante os últimos 49 dias do período de acabamento. Foram alimentados com 75% da dieta com os milhos teste e medidos o desempenho e parâmetros de carcaça. Não houve nenhuma diferença na composição do milho, ganho de peso diário, eficiência alimentar, grau de rendimento ou grau de qualidade entre os milhos transgênicos e não transgênicos.

Hammond et al. (1996) observaram resultados de alimentação que comparam dietas com farelo de soja derivados de soja glifosato tolerantes e soja convencional em frangos, peixe e vacas leiteira. Nenhuma diferença foi encontrada para consumo de alimento, ganho de peso, eficiência alimentar, composição de carne de peito e espessura de gordura nos frangos. Os peixes alimentados com dietas de ambos os farelos de soja não exibiram nenhuma diferença em ganho de peso, eficiência alimentar ou composição de carne. Finalmente, nenhuma diferença foi verificada em consumo de alimento, produção de leite, composição do leite, digestibilidade da matéria seca, e produtos e fermentação ruminal entre as vacas leiteira alimentadas com as dietas que continham os farelos estudados.

Estes estudos com alimentação animal tiveram como foco o milho e o farelo de soja porque estes alimentos compõem os ingredientes principais na maioria rações. Os resultados evidenciam que os alimentos derivados de grãos transgênicos podem ser considerados equivalentes substancialmente aos grãos não transgênicos.

Literatura consultada

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.

Aulrich, K.. The fate of genetically modified protein from Roundup Ready® soybeans in the laying hen. *Poultry Sciences*, Supplement 1; p 26; Palais de Congrès, Montreal Canada; August 18-21, 2000.

Bohme, H. and Aulrich, K. Ingredients and digestibility of transgenic sugar beets and corn in comparison to the isogenic varieties in the case of pigs. **VDLUFA Conference Proceedings**, 1999.

Brake, J. and Vlachos, D. Evaluation of event 176 "Bt" corn in broiler chickens. **J. Poultry Sci.** 77:648-653, 1998.

Cavalli, S.B. Segurança alimentar: a abordagem dos alimentos transgênicos. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 14, p. 41-46, 2001.

Cockburn, A. Assuring the safety of genetically modified (GM) foods: the importance of an holistic, integrative approach. **Journal of Biotechnology**, v. 98, p. 79-106, 2002.

Conner, A.J.; Jacobs, J.M.E. Genetic engineering of crops as potential source of genetic hazard in the human diet. **Mutation Research**, New Zealand, v. 443, p. 223-234, 1999.

Costa, N. M. B., **Alimentos geneticamente modificados na nutrição e saúde**. II Simpósio sobre alimentos transgênicos da Universidade Federal de Viçosa, 2002 Disponível em: www.cib.org.br/apresentacao/apresentacao_neuza_brunoro.pdf Acesso em 17 de abril de 2007.

Del Giúdice, M. P., Borém, A., Silva, P. H. A., Monteiro, J. B. R., Costa, N. M. B., Oliveira, J. S. **Alimentos transgênicos**. Universidade Federal de Viçosa. 291 p. 2000.

Donkin, S.S., J.C. Velez, E.P. Stanisiewski and G.F. Hartnell. Effect of feeding Roundup Ready[®] corn silage and grain on feed intake, milk production and milk composition in lactating dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 83 (Suppl 1):273 Abstract 1144,2000.

FAO/WHO. Codex Ad Hoc Task Force on foods derived from biotechnology. Codex Alimentarius Commission, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Report of a joint FAO/WHO food standards programme**. Rome, 2001. Disponível em: <http://www.fao.org/codex/alnorm01/al0134al.pdf>. Acesso em 18 de abril 2007.

FAO/WHO. **Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation on foods derived from biotechnology**: safety aspects of genetically modified food of plant origin. Genebra, 2000. Disponível em: <http://www.fao.org/es/esn/gm/biotec-e.htm>. Acesso em 18 de abril 2007.

Faust, M. and L. Miller. Study finds no Bt in milk. IC-478. **Fall Special Livestock Edition**. pp 6-7. Iowa State University Extension, Ames, Iowa, 1997.

Hammond, B., J. Vicini, G. Hartnell, M.W. Naylor, C.D. Knight, E. Robinson, R. L. Padgett, S.R. The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. **J. Nutr.** 126: 717-727, 1996.

Herrera-Estrella, L.R. Genetically modified crops and developing countries. **Plant Physiology**, v. 124, p. 923-925, Nov. 2000. 15 HOUDEBINE, L.M. Transgenesis to improve animal production. **Livestock Production Science**, v. 74, p. 255-268, 2002.

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.

Kerley, M.S., E.E.D. Felton, J.W. Lehmkuhler, and R. Shillito. Bt corn that is genetically modified to prevent insect damage is equal to conventional corn in feeding value for beef cattle. Abstract 301, **Midwester Section ASAS and Midwest Branch ADSA**, 2001.

Lajolo, F.M.; Nutti, M.R. **Transgênicos**: bases científicas da sua segurança. São Paulo: SBAN, 2003. 110 p.

Mireles, Jr., A., S. Kim, R. Thompson and B. Amundsen. GMO (Bt) corn is similar in composition and nutrient availability to broilers as non-GMO Corn. **J. Poultry Sci.** 79 (Suppl. 1): 65-66. Abstract 285, 2000.

Russell, J. and Peterson, T. Bt corn and non-Bt corn crop residues equal in grazing value. **Extension News**, June 30, 1999. Iowa State University Extension.

Russell, J.R., Farnham, R.K. Berryman, M.J. Hersom, A. Pugh and K. Barrett. Nutritive value of the crop residues from Bt-corn hybrids and their effects on performance of grazing beef cows. **Beef Research Report**, 2000 -Iowa State University.

Sharma, H.C. et al. Applications of biotechnology for crop improvement: prospects and constraints. **Plant Science**, v. 163, p. 381-395, 2002.

Weber, T.E., B.T. Richert, D.C. Kendall, K.A. Bowers and C.T. Herr. Grower-finisher performance and carcass characteristics of pigs fed genetically modified "Bt" corn. Purdue University, **Swine Day Report**, 2000.

Uzogara, S.G. The impact of genetic modification of human foods in the 21st century: a review. **Biotechnology Advances**, v. 18, p. 179-206, 2000.