

Ocorrência de Aflatoxinas em Amendoim e Produtos Derivados

137

Nathalia C. Rollemberg¹, Bárbara C. F. Ferrão¹, Joyce P. Marques¹, Carlos E. da S. Soares¹, Milena O. Dutra¹, Cristina L. Rüntzel¹, Bruna A. da Silva¹, Vanessa Simão¹, Vildes M. Sussel¹.

RESUMO

Micotoxinas são substâncias com importante relevância toxicológica, pois são contaminantes da alimentação humana e animal e ocasionam uma variedade de efeitos nocivos, os quais variam desde reações alérgicas, imunodepressão, podendo causar até mesmo câncer. Dentre as diversas classes de micotoxinas, as aflatoxinas (AFLs) são as mais tóxicas. As AFLs são metabólitos secundários produzidos naturalmente pelas espécies do gênero *Aspergillus*, podendo contaminar uma grande variedade de alimentos, entre eles o amendoim e seus produtos derivados. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência de aflatoxinas (AFLs) em amendoim e produtos derivados. Foram analisadas 75 amostras de amendoim cru e derivados, coletadas no período de janeiro do ano de 2017 a julho de 2018. Para separação, identificação e quantificação de aflatoxinas foi utilizada a metodologia de cromatografia de camada delgada (CCD), com prévia extração, líquido-líquido, dos analitos, conforme descrita por Soares e Rodriguez-Amaya (1989). Apenas 2 (2,67%) do total de amostras analisadas (n=75) apresentaram alguma contaminação por AFLs. Das três amostras contaminadas, uma (1,34%) apresentou níveis de AFLs acima do LMT permitido pela legislação brasileira vigente, e 1 apresentou contaminação em níveis abaixo do LMT. Correlacionando os resultados obtidos com os outros trabalhos já reportados, observa-se a diminuição dos níveis de contaminação de AFLs nessa matriz. Além disso, Os resultados sugerem que o monitoramento rígido e contínuo do amendoim e seus derivados deve ser mantido, como forma de controle da ingestão dessas toxinas para a população brasileira, além de garantir a alta qualidade dos produtos destinados à exportação.

Palavras chaves: ocorrência, aflatoxinas, amendoim, micotoxinas.

¹Laboratório de Micotoxinas e Contaminantes Alimentares (LABMICO), Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, 1346, CEP: 88040-900, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil. Email: vildescussel_2000@yahoo.co.uk

INTRODUÇÃO

O Amendoim (*Arachis hypogaea*, L.) é um alimento tradicional no Brasil, seu consumo é feito pela ingestão das sementes (grãos) cruas ou torradas, ou ainda na forma produtos derivados como é o caso da paçoca, pé de moleque, pasta de amendoim, entre outros. Na década de 70, o Brasil era o 7º produtor mundial de amendoim, porém atualmente ocupa 17º posição na produção dessa oleaginosa. De acordo com o relatório da Sociedade Nacional de Agricultura (SNA), na safra 2016/17, foram colhidas 433,4 toneladas de amendoim, sendo que a produção concentra-se no estado de São Paulo com cerca de 90% do total produzido (SNA, 2017).

O amendoim é um produto especialmente sujeito às infecções por fungos produtores de aflatoxinas (AFLs), pois suas sementes são ricas em carboidratos e proteínas, substâncias essas necessárias para o desenvolvimento fúngico. Além disso, as vagens são produzidas debaixo do solo, ficando, portanto, expostas a condições de umidade e temperatura favoráveis à proliferação de fungos aflatoxigênicos ali presentes. Ainda nesse contexto, os processos de colheita e descascamento e o ataque de insetos, produzem danos mecânicos às vagens e sementes, as quais ficam susceptíveis à contaminação, tanto no campo, como no armazenamento (CPT, 2018).

AFLs são metabólitos secundários produzidos por fungos, especialmente das espécies *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (AOAC, 1982). As condições que favorecem a proliferação desses fungos e produção de AFLs são: umidade relativa do ar de 85% e temperatura ambiente de 27°C, condições essas características de países tropicais como é o caso do Brasil (PREGNOLATTO; SABINO, 1969).

A presença de AFLs em alimentos é um sério problema para a saúde pública e para a qualidade dos alimentos. Estes metabólitos fúngicos são causadores de efeitos tóxicos à saúde humana e animal, esses efeitos variam substancialmente de acordo com a espécie animal, o tempo de exposição, a dose, a dieta, o estado nutricional, o gênero e a idade. A AFB₁ é a micotoxina de maior prevalência e também a de maior toxicidade, provocando desde hemorragias, imunodepressão, lesões agudas e crônicas nos hepatócitos podendo causar câncer hepático. Além de possuir efeitos teratogênicos e mutagênicos (IARC, 1993).

As principais AFLs encontradas naturalmente são: AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂. A AFB₁ é classificada como potencialmente carcinogênica (EATON; GROOPMAN, 1994). As aflatoxinas são difurocumarolactonas complexas que apresentam intensa fluorescência quando expostas à luz ultravioleta em ondas longas. São classificadas de acordo com a cor da fluorescência, em B (*blue-azul*) ou G (*green-verde*), sendo esta propriedade importante para sua identificação em diversos tipos de alimentos (YOUSEF; MARTH, 1985). Atualmente, as técnicas rotineiramente usadas para determinação de micotoxinas são principalmente por cromatografia em camada delgada (CCD),

imunoensaio enzimático (ELISA) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (GILBERT, 2002; AMARAL et al., 2006).

A legislação vigente no Brasil é regida pela RDC n° 7, de 2011, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e recomenda limites máximos toleráveis (LMT) de AFLs totais, (AFB₁ + AFB₂ + AFG₁ + AFG₂), em amendoim e seus derivados, de 20,0 µg/kg (BRASIL, 2011). Complementado, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), adota o limite de 50 µg/kg de AFLs totais para alimento destinado ao consumo animal. Já a União Europeia (2003) preconiza os seguintes LMTs em amendoim para consumo direto em 2,0 µg/kg (AFB₁) e 4,0 µg/kg para o somatório de AFLs (AFB₁ + AFB₂ + AFG₁ + AFG₂) ou como ingrediente de alimentos: 8,0 µg/kg (AFB₁) e 15,0 µg/kg (AFB₁ + AFB₂ + AFG₁ + AFG₂).

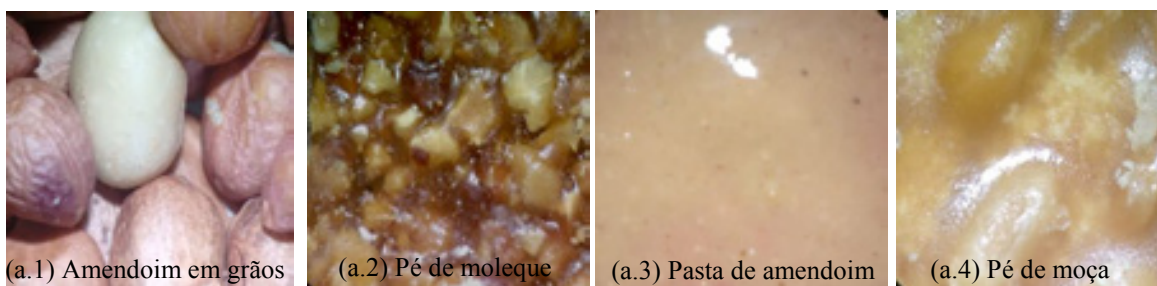
A contaminação por AFLs (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂), em amendoim e produtos derivados tem sido reportada na literatura científica nacional, como em Ricciardi e Ferreira (1986), Freitas e Brígido (1998), Sabino, Milanez e Lamardo (1999), Santos, Lopes e Kosseki (2001), Eizendeher, Freitas e Cançado (2005), Einloft, Hoeltz e Noll (2009), Imamura et al. (2014), entre diversos outros.

Diante do exposto, e considerando que o consumo de alimentos contaminados por AFLs representa risco à saúde humana e animal, o presente trabalho teve por objetivo fazer um levantamento da ocorrência, bem como do grau de contaminação de AFLs em amendoim e seus derivados.

MATERIAIS E MÉTODOS

AMOSTRAS

As amostras de amendoim e seus derivados (n=75) foram coletadas de diferentes Cooperativas e Unidades Armazenadoras da região do Sul do Brasil, no período de 2017 à 2018. O total de amostras foi de 49 e 26 para os anos de 2017, 2018 (até julho), respectivamente. As amostras eram divididas em grãos de amendoim, quebrados ou não (n=61), paçoca (n=4) e outros doces contendo amendoim, p.ex. pé de moleque, pé de moça, pasta de amendoim, entre outros, (n=10).



Quadro 1. Características das sementes de amendoim e produtos derivados

ANÁLISE DE AFLATOXINAS

As amostras foram trituradas e homogeneizadas para a análise das AFLs. A metodologia seguiu as recomendações de Soares e Rodrigues-Amaya (1989). As etapas foram divididas em: (a) Extração com metanol e solução aquosa de KCl 4 % seguida de filtração rápida através de papel filtro (Whatman nº4); (b) Limpeza do extrato com sulfato de amônia 10 % e terra diatomácea. Após, foi extraído duas vezes com clorofórmio e foi evaporado com fluxo de nitrogênio a 60 °C. (c) Leitura: a corrida cromatográfica foi realizada com a fase móvel tolueno/acetato de etila/ ácido fórmico (6.0; 4.0; 0.05) nas placas cromatográficas. (d) Quantificação: por cromatografia de camada delgada com leitura em ultra-violeta (UV) 364 nm. Sendo os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) de 2 e 4 µg/kg, respectivamente, para AFLs.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de apresentaram boa qualidade com relação a contaminação por AFLs, uma vez que apenas 2 amostras (2,67%) do total de amostras analisadas (n=75) apresentaram alguma contaminação por AFLs. Das três amostras contaminadas, uma (1,34%) apresentou níveis de AFLs acima do LMT permitido pela legislação brasileira vigente, e 1 (1,33%) apresentou contaminação em níveis abaixo do LMT. Cabe ressaltar, que de acordo com a legislação brasileira, o limite máximo tolerável de AFLs em amendoim e seus produtos derivados é de 20 µg/kg para o somatório das 4 AFLs (BRASIL, 2011). Na Tabela 1 são apresentados os resultados encontrados a partir das análises

TABELA 1. Presença de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados

Amendoim		n. amostra	%	Aflatoxinas				
				AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	AFLs
Grãos	Inteiro Quebrado Claro	37	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		10	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Vermelho	6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Paçoca		4	ND	<38µg/kg*	ND	ND	ND	ND
Pé de moleque		6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pé de moça		2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pasta de amendoim		2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Farelo		2	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND: não detectado NA: não aplicável AFLs: aflatoxinas LOD e LOQ: 2 e 4 µg/kg para AFLstotais; >LMT (limite máximo tolerável). *LOQ

Em um levantamento de dados Santos, Lopes e Kosseki (2001) observaram que do total de 178 amostras de amendoim analisadas no período de 1996 a 2000, 70 delas,

ou seja, 39,3% apresentaram algum tipo de contaminação por AFLs. Das 70 amostras contaminadas 63 continham níveis acima do LMT de 20 µg/kg. Em 2003, Mallman et al. (2003) analisaram 664 amostras de amendoim e seus derivados comercializado no Rio Grande do Sul, destas 31,3% apresentaram algum nível de AFLs. Das amostras contaminadas, 98 (14,9% do total avaliado) estavam acima do LMT permitido. Einloft, Hoeltz e Noll (2009) em um estudo rápido, pesquisaram AFB₁ em 28 produtos de amendoim. A toxina foi encontrada em 3 (10,71%) amostras, sendo que todas estavam acima do LMT. Imamura et al. (2014) analisaram 966 amostras de amendoim cru com casca no período de 2010 a 2012, deste total foram analisadas um total 169 (17,5%) apresentaram níveis detectáveis de AFLs, sendo que apenas 27 (2,8 %) das amostras estavam com níveis de AFLs acima de 20 µg/kg.

Corroborando com os resultados supracitados, percebeu-se uma diminuição no número de amostras contaminadas por AFLs, porém os níveis encontrados nesta pesquisa e nos estudos anteriores sugerem que o monitoramento rígido e contínuo do amendoim e seus derivados deve ser mantido. Cabe ressaltar, a importância de se conhecer os níveis de contaminação de AFLs em amendoim e derivados, como forma de controle da ingestão dessas toxinas para a população brasileira, além de garantir a alta qualidade dos produtos destinados à exportação.

Além disso, resultados obtidos sugerem que as medidas de prevenção e de controle de AFLs em amendoim têm sido utilizadas de forma eficaz e eficiente, uma vez que, a diminuição dos níveis de contaminação de AFLs nessa matriz tem apresentado regressão. Dentre essas medidas é importante ressaltar, o melhoramento genético das variedades de amendoim, desenvolvimento de alternativas de armazenagem e descontaminação dos produtos, entre outros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, K. A. S.; NASCIMENTO, G. B.; SEKIYAMA, B. L.; JANEIRO, V.; MACHINSKI, J. R. Aflatoxinas em produtos à base de milho comercializados no Brasil e riscos para a saúde humana. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 336-342, 2006.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS **Official methods of analysis of the Association Official Analytical Chemists** 12 nd ed. AOAC: Washington, 1982. Cap.10

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução – RDC nº 7 de 18 de fevereiro de 2011 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Aprova o Regulamento Técnico sobre limites máximos de aflatoxinas, amendoim e seus derivados, especiarias, castanha do Brasil e milho. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 21 de agosto de 2006.

CE. COMUNIDADE EUROPEIA. REGULAMENTO (CE) Nº 2174/2003 DA COMISSÃO de 12 de Dezembro de 2003 que altera o Regulamento (CE) n.o 466/2001 no respeitante às aflatoxinas. **Jornal Oficial da União Europeia**, Bruxelas, L. 326, p. 12-13, 13 dez. 2003.

CPT. CENTRO DE PRODUÇÕES TÉCNICAS. Produção de Amendoim: contaminação por Aflatoxina pode intoxicar homens e animais, 2018. Disponível em: <<https://www.cpt.com.br/cursos-agricultura/artigos/producao-de-amendoim-contaminacao-por-aflatoxina-pode-intoxicar-homens-e-animais>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

EATON, D. L.; GROOPMAN, J. D. **The toxicology of aflatoxins: human health, veterinary and agricultural significance**. San Diego (CA): Academic Press, 1994.

EINLOFT, T. C.; HOELTZ, M.; NOLL, I. B. Aflatoxina B1 em amendoim e produtos derivados comercializados na cidade de Porto Alegre. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – PUCRS, 10., Porto Alegre: EDIPUCRS, 2009.p. 26-28

EIZENDEHER, L. B.; FREITAS, R. J. S.; CANÇADO, R. A. Incidência de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em doces de amendoim e amendoim in natura comercializados no Estado do Paraná. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, p. 101-104, 2005.

FREITAS, V. P.; BRIGIDO, B. M. Occurrence of aflatoxins B1 , B2 , G1 and G2 in peanuts and their products marketed in the region of Campinas, Brazil in 1995 and 1996. **Food Additives and Contaminants**, v. 15, p. 807-811, 1998.

GILBERT, J. Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, p. 468-486, 2002;

IARC. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Human**, France: Lyon, 1993. v. 56, p. 257-263,

IMAMURA, K. B.; TONI, J. C.; BOCCHÉ, M. A. L.; SOUZA, D. A. de; GIANNONI, J. Incidência de aflatoxinas no amendoim (*Arachis hypogaea* L) cru em casca da região da Alta Paulista-SP, durante o período de 2011 a 2012. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 73, n. 2, p. 178-187, 2014.

MALLMANN C. A.; KOWALSKI, C. H.; ALMEIDA, C. A.; MÜRMANN, L.; SILVEIRA, V. G. Prevalência de aflatoxinas em amendoim e seus derivados destinados ao consumo humano no Estado do Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2., Florianópolis: 2003. **Anais...** Florianópolis, Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2003. 4p. 1 CD-ROM

PREGNOLATTO, W.; SABINO, M. Pesquisa e dosagem de Aflatoxina em amendoim

e derivados e em outros cereais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 29/30, p. 65-71, 1969.

RICCIARDI, A. J.; FERREIRA, J. F. Dosagem de aflatoxina B1 em amendoim e doces de amendoim. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 67, p.111-117, 1986.

SABINO, M.; MILANEZ, T. V.; LAMARDO, L. C. A. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos contendo amendoim, consumidos no Estado de São Paulo/Brasil no período 1995-1997. **Revista de Microbiologia**, v. 1, p. 85-88, 1999.

SANTOS, C. C. M. dos; LOPES, M. do R. V. E.; KOSSEKI, S. Y. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de São José do Rio Preto/SP. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 60, n. 2, p. 153-157, 2001.

SNA. SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA SP produz 90% da safra de amendoim estimada em 433 mil toneladas 26/04/2017. . Disponível em: <<http://www.sna.agr.br/sp-produz-90-da-safra-de-amendoim-estimada-em-433-mil-toneladas/>>. Acesso em: 30 ago.2018

SOARES, L. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.. Survey of aflatoxins, ocratoxin A, zearalenona, sterigmatocystin in some Brazilian Foods by Using Multi-toxin Thin-Layer Chromatography Method. **Journal of Association Official Analytical Chemists**, v, 72, p. 22-26, 1989.

YOUSEF, A. E.; MARTH, E. H. Degradation of aflatoxin M1 in milk by ultraviolet energy. **Journal of Food Protection**, v. 48, p. 697- 698, 1985.