



DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS EM AMOSTRAS DE GRÃOS DE AMENDOIM E DERIVADOS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE MARÍLIA – SP, 2002-2009

Rosângela Aguilar da SILVA*
Isabel Tacaco YAMAMOTO*
Luci Ochi FERREIRA*
Lilian Regina Macelloni MARQUES*

■RESUMO: O objetivo do trabalho foi analisar retrospectivamente a ocorrência e a quantidade de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ em amostras de grãos de amendoim e derivados coletadas em estabelecimentos comerciais da região de Marília, Estado de São Paulo, no período 2002-2009. Entre as 75 amostras analisadas, 12 (16%) continham níveis detectáveis de aflatoxinas ($\geq 2 \mu\text{g/Kg}$) pelo método de cromatografia em camada delgada, sendo 4 amostras de amendoim e 8 amostras de paçoca. A aflatoxina do tipo B₁ foi detectada em todas estas amostras isoladamente ou em combinação com os tipos B₂, G₁, e G₂. Embora a frequência de detecção de aflatoxinas em amendoim e derivados no presente estudo tenha sido relativamente baixa, a continuidade e a otimização do controle de qualidade pela cadeia produtiva e das ações governamentais para avaliação da qualidade destes produtos são essenciais para evitar riscos à saúde do consumidor e prejuízos econômicos.

■PALAVRAS-CHAVE: Aflatoxinas; amendoim; detecção; quantificação; cromatografia em camada delgada.

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas são substâncias químicas de baixo peso molecular produzidas como metabólitos secundários durante o crescimento de fungos filamentosos. Estes fungos pertencem a algumas espécies do gênero *Aspergillus* e a produção de aflatoxinas varia tanto qualitativa como quantitativamente entre cepas de uma mesma espécie. Os quatro principais tipos de aflatoxinas são denominados B₁, B₂, G₁ e G₂ com base na fluorescência emitida quando expostas à luz ultravioleta (“Blue” ou “Green”) e mobilidade relativa durante cromatografia de camada delgada. A contaminação de produtos agrícolas utilizados na alimentação com cepas de fungos toxigênicos representa um sério problema de saúde pública e para a economia de áreas produtoras, podendo ocorrer durante o cultivo, colheita ou armazenamento. (IARC, 2002; BENNETT; KLICH, 2003; KENSLER et al., 2011).

A ingestão de produtos alimentícios contendo aflatoxinas pode resultar em efeitos adversos agudos ou crônicos. (BENNETT; KLICH, 2003). Em animais, a aflatoxicose aguda é caracterizada principalmente por alterações no fígado e alta letalidade, enquanto na intoxicação crônica ocorre mais acentuadamente a redução da taxa de crescimento de animais jovens. (PIER, 1992). Em seres humanos, o consumo de alimentos contaminados tem sido associado ao desenvolvimento de câncer hepático, sendo que diversos estudos epidemiológicos em populações expostas e experimentos com animais forneceram evidências suficientes para a classificação das aflatoxinas como agentes carcinogênicos do Grupo 1 pela Organização Mundial da Saúde. (IARC, 2002). Surto de aflatoxicose aguda em seres humanos foram identificados em alguns países em desenvolvimento, e a principal característica clínica observada foi falência hepática potencialmente letal. (STROSNIDER et al., 2006).

Aflatoxinas têm sido detectadas em diversos produtos agrícolas, especialmente no amendoim e no milho. (STROSNIDER et al., 2006). O amendoim pertence ao grupo das plantas leguminosas oleaginosas que têm grande importância econômica pelo fato de seus grãos terem alta qualidade nutricional e serem ricos em óleo comestível. Os grãos de amendoim são consumidos nas formas “in natura” e processados, sendo uma das principais matérias primas da indústria de confeitos. No Brasil, tem sido verificado um aumento da produção e uma melhoria na qualidade do amendoim nos últimos anos graças ao desenvolvimento de novas tecnologias e do Programa de Autorregulação e Expansão do Consumo do Amendoim (Pró-amendoim). A Região Sudeste, principalmente o Estado de São Paulo, é responsável por grande parte da produção, processamento e distribuição deste produto agrícola. As regiões conhecidas como Alta Mogiana e Alta Paulista no Estado de São Paulo concentram a maior área produtiva. (LOURENZANI; LOURENZANI, 2009).

O laboratório de referência do Estado de São Paulo para análises de alimentos (Instituto Adolfo Lutz) possui uma unidade regional no município de Marília que aten-

* Centro de Laboratório Regional – Instituto Adolfo Lutz de Marília – IV – 17506-210 – Marília – SP – Brasil. E-mail: rasilva@ial.sp.gov.br.

de as demandas da vigilância sanitária deste e de outros municípios da região da Alta Paulista. O objetivo do presente trabalho foi analisar retrospectivamente a ocorrência e a quantidade de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ em amostras de grãos de amendoim e derivados coletadas em estabelecimentos comerciais da região de Marília, Estado de São Paulo, no período 2002-2009.

MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 75 amostras de grãos de amendoim cru e derivados (amendoim frito, com cobertura de chocolate, com cobertura colorida, amendoim tipo japonês e paçoca), coletado aleatoriamente em diferentes estabelecimentos comerciais da região de Marília, Estado de São Paulo, Brasil, foi submetido à pesquisa qualitativa e quantitativa de aflatoxinas no período 2002 a 2009. Amostras de 5 kg de grãos de amendoim cru e de 1 kg de derivados foram trituradas, homogeneizadas e submetidas (alíquotas de 50 gramas) à extração líquido-líquido de aflatoxinas de acordo com o método descrito por Soares & Rodrigues-Amaya (1989). Os extratos foram então submetidos à cromatografia em camada delgada. A quantificação das aflatoxinas foi realizada por comparação visual com os padrões quantitativos, e a confirmação foi através de derivatização com ácido trifluoroacético em cromatografia em camada delgada. (SOARES; RODRIGUES-AMAYA, 1989). As análises foram realizadas em duplicadas e o limite de detecção do método é de 2 µg/kg.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como pode ser observado na tabela 1, 12 (16%) das 75 amostras analisadas continham níveis detectáveis de aflatoxinas (≥ 2 µg/kg), sendo 4 (5,3%) amostras de amendoim cru e 8 (10,7%) amostras de paçoca. Ao contrário da

paçoca, as amostras contaminadas de amendoim foram coletadas em quatro anos distintos. Duas amostras de paçoca contaminadas foram coletadas em anos distintos (2003 e 2009), três amostras em 2002 e três amostras em 2007. A aflatoxina do tipo B₁ foi detectada em todas as amostras, isoladamente ou em combinação com os tipos B₂, G₁, e G₂. Considerando o somatório das concentrações de cada tipo detectado, níveis de contaminação nas amostras de amendoim cru variaram de 2 a 300,0 µg/kg, enquanto nas amostras de paçoca a variação foi de 9,0 a 466,0 µg/kg.

Em estudos realizados no Estado de São Paulo até 2001, as proporções de amostras de amendoim e/ou produtos contendo amendoim contaminadas por aflatoxinas variaram de 44 a 64%. (RODRIGUEZ-AMAYA; SABINO, 2002; SHUNDO et al., 2003). Amostras comercializadas na mesma região geográfica do presente estudo apresentaram a maior frequência de contaminação. (SHUNDO et al., 2003). A detecção de aflatoxinas em apenas 16% das amostras comercializadas no período estudado (2002-2009) indica que os esforços governamentais e da iniciativa privada iniciados em 2001 para a melhoria da qualidade da produção e processamento de amendoim resultaram no surgimento de melhores produtos para o consumidor.

Uma das estratégias governamentais para reduzir a exposição à aflatoxinas consiste no estabelecimento de concentrações máximas permitidas em certos produtos agrícolas destinados ao consumo humano e animal. (IARC, 2002; BENNETT; KLICH, 2003). No Brasil, a concentração máxima de aflatoxinas tolerada em amendoim e produtos contendo amendoim para o consumo humano é de 20 µg/kg, sendo considerado o somatório das concentrações dos quatro tipos. (BRASIL, 2011). Entre as 87 amostras analisadas por Shundo et al. (2003), no período 1999-2001, 34 (39%) continham teores de aflatoxinas acima do limite máximo tolerado. No presente estudo, apenas 6 (8%) das 75 amostras analisadas apresentaram teores acima do limite (duas amostras de amendoim e quatro de paçoca). Oliveira

Tabela 1 – Ocorrência e quantificação de aflatoxinas em amostras de grãos de amendoim e derivados comercializados no período de 2002 a 2009.

Produto	Total	Amostras (%)			
		≥ 2 µg/kg**	Contaminadas com Aflatoxina(s)		
			B ₁	B ₁ , B ₂	B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂
Amendoim	10	4 (40)	2 [5 - 9,5] ***	-	2 [2 - 196]
Paçoca	47	8 (17)	6 [9 - 65]	1 [66 - 400]	1 [6 - 130]
Outros *	18	0	-	-	-
Todos	75	12 (16)	8 (11)	1 (1,3)	3 (4)

* amendoim frito, com cobertura de chocolate, com cobertura colorida e amendoim tipo japonês;

** Limite de detecção do método;

*** Concentração mínima e máxima detectada.

et al. (2009) relataram uma proporção ainda menor (3,7%) de amostras contaminadas com níveis de aflatoxinas superiores ao limite máximo em um estudo realizado em municípios da região nordeste do Estado de São Paulo no período de junho de 2006 a maio de 2007.

Entre as ações desenvolvidas pelo setor privado merece destaque o Programa de Autorregulamentação e Expansão do Consumo de Amendoim (Programa Pró-amendoim), criado em 2001, cujo objetivo é estimular toda a cadeia produtiva para a obtenção de amendoim em conformidade com os limites estabelecidos para a concentração de aflatoxinas. As empresas têm investido muito para a melhoria da qualidade do amendoim produzido no Brasil, implantando Boas Práticas de Fabricação (BPF), Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e monitoramento laboratorial dos produtos industrializados para verificar se o produto atende aos requisitos mínimos estabelecidos pela legislação. Em 2002, a Associação Brasileira da Indústria de Chocolate, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados (ABICAB) criou o selo “Amendoim de Qualidade ABICAB” para estimular o consumo de amendoim e assegurar a qualidade dos grãos processados e seus derivados. Atualmente, este selo é denominado “Selo Qualidade Certificada Pró-amendoim ABICAB”. (PRÓ-AMENDOIM, 2011).

A escolha adequada de variedades e técnicas de manejo na produção do amendoim, assim como procedimentos de colheita, beneficiamento e armazenamento do produto são muito importantes para prevenir o desenvolvimento dos fungos toxigênicos que comprometem a qualidade do grão e, conseqüentemente, dos seus derivados. (FACCA; DALZOTO, 2010). Considerando que ainda existem dúvidas se as concentrações máximas de aflatoxinas toleradas em certos alimentos destinados ao consumo humano não constituem risco à saúde pública (KENSLE et al., 2011), os níveis de contaminação por estas micotoxinas deverão ser tão baixos quanto razoavelmente possível. Para tanto, a continuidade e a otimização do controle de qualidade pela cadeia produtiva e das ações governamentais para avaliação da qualidade destes produtos são essenciais para que se evitem riscos à saúde do consumidor e prejuízos econômicos.

SILVA, R. A.; YAMAMOTO, I. T.; FERREIRA, L. O.; MARQUES, L. R. M. Detection and quantification of aflatoxins in samples of peanut grains and derivatives traded in the Marília-SP region, 2002-2009. **Alim. Nutr.= Braz. J. Food Nutr.**, Araraquara, v. 24, n. 1, p. 61-64, jan./mar. 2013.

■**ABSTRACT:** The aim of this study was to retrospectively evaluate the occurrence and amount of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in samples of peanut grains and derivatives randomly collected in markets in the region of Marília, Sao Paulo State, in the period 2002-2009. Among the 75 samples analyzed, 12 (16%) contained detectable levels of aflatoxins (≥ 2 mg / kg) by the method of thin layer

chromatography, being 4 samples of peanuts and 8 samples of peanut candy. Aflatoxin type B₁ was detected in all these samples alone or in combination with types B₂, G₁, and G₂. Although the frequency of detection of aflatoxins in peanuts and derived in this study was relatively low, the continuity and optimization of quality control by the supply chain and government actions to assess the quality of these products are essential to avoid risks to consumer health and economic losses.

■**KEYWORDS:** Aflatoxins; peanuts; detection; quantification; thin layer chromatography.

REFERÊNCIAS

- BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 16, n. 3, p. 497-515, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 7, 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 9 mar. 2011. p.66.
- FACCA, M. C. J.; DALZOTO, P. R. Aflatoxinas: um perfil da situação do amendoim e derivados no cenário brasileiro. **Biológico**, v. 72, n. 1, p. 25-29, 2010.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Some traditional herbal medicine, some mycotoxins and styrene. In: _____. **Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**. Lyon, 2002.
- KENSLE, T. W. et al. Aflatoxin: a 50-year odyssey of mechanistic and translational toxicology. **Toxicol. Sci.**, v. 120, s. 1, p. S28-S48, 2011.
- LOURENZANI, W. L.; LOURENZANI, A. E. B. S. Perspectivas do agronegócio brasileiro de amendoim. **Inf. Econ.**, v. 39, n. 2, p. 55-68, 2009.
- OLIVEIRA, C. A. F. et al. Determination of aflatoxins in peanut products in the northeast region of São Paulo, Brazil. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 10, p. 174-183, 2009.
- PIER, A. C. Major biological consequences of aflatoxicosis in animal production. **J. Anim. Sci.**, v. 70, p. 3964-3967, 1992.
- PRÓ-AMENDOIM. **Selo de qualidade: garantia de qualidade**. 2011. Disponível em: <http://www.proamendoim.com.br/selo.php>. Acesso em: 26 ago. 2011.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SABINO, M. Micotoxins research in Brazil: the last decade in review. **Braz. J. Microbiol.**, v. 33, n. 1, p. 1-11, 2002.
- SHUNDO, L.; SILVA, R. A.; SABINO, M. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de Marília – SP, Brasil no período de 1999-2001. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 62, n. 3, p. 177-181, 2003.

SILVA, R. A.; YAMAMOTO, I. T.; FERREIRA, L. O.; MARQUES, L. R. M. Aflatoxinas em amostras de amendoim cru e derivados. **Alim. Nutr.= Braz. J. Food Nutr.**, Araraquara, v. 24, n. 1, p. 61-64, jan./mar. 2013.

SOARES, L. V.; RODRIGUES-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using a multitoxin thin-layer chromatographic method. **J. AOAC Int.**, v. 72, n. 1, p. 22-26, 1989.

STROSNIDER, H. et al. Workgroup report: public health strategies for reducing aflatoxin exposure in developing countries. **Environ. Health Perspect.**, v. 114, n. 12, p. 1898-1903, 2006.

Recebido em: 07/01/2012

Aprovado em: 03/03/2013