

# Aflatoxinas em amendoim: melhoria da qualidade e programas de controle

## Aflatoxins in peanut: quality improvement and control programs

RIALA6/1330

Luzia SHUNDO\*, Sandra Aparecida NAVAS, Valter RUVIERI, Janete ALABURDA, Leda Conceição Antonia LAMARDO, Myrna SABINO

\*Endereço para correspondência: Núcleo de Contaminantes Orgânicos, Instituto Adolfo Lutz, Av. Dr. Arnaldo, 355, São Paulo/SP, Brasil. CEP 01246-902. Fone 11 30682922. E-mail: lushundo@ial.sp.gov.br

Recebido: 12.07.2010 – Aceito para publicação: 29.12.2010

### RESUMO

Trezentas amostras de amendoim e de derivados de amendoim colhidas no Estado de São Paulo pela Vigilância Sanitária em 2000, 2002 e 2009 foram analisadas para a determinação de aflatoxinas, em cumprimento ao programa de monitoramento da Secretaria de Estado da Saúde. Das 56 amostras coletadas em 2000, 25 apresentaram valores de aflatoxinas acima da legislação em vigor, cujas concentrações variaram de 18 µg/kg a 1947 µg/kg. Das 73 e 171 amostras coletadas em 2002 e 2009, sete e três amostras apresentaram valores acima da legislação em vigor, em que as concentrações variaram, respectivamente, de 4,4 µg/kg a 648 µg/kg e de 0,03 µg/kg a 71 µg/kg. Houve decréscimo nos teores de contaminação, embora ainda com valores elevados de aflatoxinas. Esse fato pode ser atribuído a ações do governo juntamente com a iniciativa privada e produtores para melhorar a qualidade do amendoim. Por ser recorrente, a contaminação com aflatoxinas muitas vezes é inevitável. Desta forma, os programas de monitoramento constituem uma ferramenta importante para manter os valores de aflatoxinas nos limites da legislação em vigor, para diminuir o risco à saúde humana e do animal a essa micotoxina.

**Palavras-chave.** Aflatoxinas, amendoim, programas de controle.

### ABSTRACT

Three hundred samples of peanut and peanut products were collected from the state of São Paulo by Public Health Surveillance in 2000, 2002 and 2009. The occurrence of aflatoxins was analyzed in these samples, in conformity of the monitoring program regulation of the São Paulo State Health Department. Of 56 samples collected in 2000, 25 were contaminated with value above the legal limit for aflatoxin contents ranging from 18µg/kg to 1947 µg/kg. Of 73 and 171 samples collected in 2002 and 2009, seven and three samples were contaminated with levels above the established limit for aflatoxins, ranging from 4.4 µg/kg to 648 µg/kg, and 0.03 µg/kg to 71µg/kg, respectively. Decrease in the aflatoxin contamination levels were found, although its values were still high. This fact should be attributed to the government actions and a joint effort with the private sectors and peanut producers, in order to improve the quality of these products. Aflatoxins are recurrent, sometimes unavoidable contaminants of peanuts. For this reason, monitoring programs constitute an important tool for keeping the aflatoxin levels under the regulatory limits, for decreasing the human and animal health risk to this mycotoxin.

**Key words.** Aflatoxins, peanut, monitoring programs.

## INTRODUÇÃO

A micotoxicologia moderna iniciou-se com a descoberta das aflatoxinas no início da década de 1960, embora haja evidências dos problemas causados pelas micotoxinas desde os tempos mais remotos. O envolvimento do Brasil no episódio dos anos 60 ocorreu por meio do farelo de amendoim contaminado exportado para a Inglaterra, quando mais de 100.000 perus morreram após a ingestão de ração produzida com tal matéria prima. Entretanto, somente nas últimas décadas as micotoxinas vêm ganhando atenção global, devido a seus efeitos adversos para a saúde humana e animal e para a economia<sup>1</sup>.

As aflatoxinas são metabólitos tóxicos produzidos principalmente pelo *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, sendo considerada uma das substâncias naturais de maior carcinogenicidade conhecida. Foi classificada como carcinogênica para humanos (grupo 1) pela IARC (International Agency for Research on Cancer)<sup>2</sup>.

No Brasil, as pesquisas relacionadas com as aflatoxinas iniciaram em 1967, envolvendo 3 instituições: ESALQ/USP (Escola Superior de Agricultura Luiz de Queirós/Universidade de São Paulo), IAL/SP (Instituto Adolfo Lutz/São Paulo) e ICB/USP (Instituto de Ciências Biomédicas/USP)<sup>1</sup>. Entretanto, em 1961, Amaral, do Instituto Biológico da Secretaria da Agricultura de São Paulo, atribuiu a morte de suínos à ingestão de farelo de amendoim que mostrou ser tóxicos para cobaias. Este pode ser considerado o primeiro trabalho publicado no Brasil em micotoxinas<sup>3</sup>.

A primeira legislação brasileira para aflatoxinas em alimentos foi estabelecida em 1976, com a Resolução nº 34/76, da CNNPA/MS (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos/Ministério da Saúde)<sup>4</sup>, fixando o limite máximo permitido para a somatória das concentrações das Aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> em 30 µg/kg. Em 2002, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), por meio da Resolução RDC nº 274/2002<sup>5</sup>, internalizou a Resolução MERCOSUL/GMC nº 25/2002<sup>6</sup> que estabeleceu limite de 20 µg/kg para a somatória das aflatoxinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>. Na Europa, o limite máximo para esta micotoxina é o estabelecido pela EU nº 165/2010<sup>7</sup> em que o teor máximo permitido de aflatoxina B<sub>1</sub> é de 2 µg/kg e, para a somatória das aflatoxinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>, é de 4 µg/kg.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas trezentas amostras de amendoim em grãos e derivados coletados pela Vigilância Sanitária

do Estado de São Paulo em 2000, 2002 e 2009, referente ao Programa Paulista e outras análises fiscais.

Em 2000 e 2002, as aflatoxinas foram determinadas por cromatografia em camada delgada (CCD), como descrito por Soares e Rodriguez-Amaya<sup>14</sup>, e em 2009, a determinação foi por cromatografia líquida de alta eficiência-fluorescência (CLAE-FL), com derivatização pós-coluna (Kobra cell) utilizando colunas de imunoafinidade. As colunas de imunoafinidade utilizadas foram das marcas R-Biopharm, Romer e Vicam, cujo procedimento obedeceu o protocolo estabelecido pelo fabricante, atendendo o limite de recuperação superior a 80%.

## RESULTADOS

A Tabela 1 mostra os resultados das determinações das aflatoxinas em amendoim em grãos e seus derivados nos anos de 2000, 2002 e 2009. Em 2000, das 56 amostras analisadas de amendoim e derivados, 25 apresentaram concentrações de aflatoxinas acima da legislação em vigor. As amostras contaminadas apresentaram teores variando de 18 µg/kg a 1947 µg/kg. Da mesma forma, em 2002, das 73 amostras analisadas, 7 apresentaram concentrações de aflatoxinas acima da legislação em vigor e os teores das amostras contaminadas variaram de 4,4 µg/kg a 648 µg/kg. Cabe ressaltar que em outubro deste ano, o limite máximo passou para 20 µg/kg, para a somatória das aflatoxinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>. Em 2009, das 171 amostras analisadas, 3 apresentaram concentrações de aflatoxinas acima da legislação em vigor, com teores variando de 0,03 µg/kg a 71 µg/kg.

O limite de quantificação (LQ) obtido por CCD foi de 3,0 µg/kg e o limite de detecção (LD) e LQ por CLAE foram de 0,03 µg/kg e 0,06 µg/kg, respectivamente, para as aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>.

## DISCUSSÃO

Comparando os resultados das determinações das aflatoxinas nestes períodos estudados, observou-se um decréscimo nos níveis de contaminação dos amendoins, embora ainda com valores elevados. Sabe-se que os problemas com o cultivo deste alimento estão concentrados principalmente na colheita e no armazenamento. Algumas iniciativas, com a finalidade de melhorar a qualidade do amendoim, com relação à contaminação por aflatoxinas têm sido estabelecidas. Em 1989, o Programa de Melhoria da Qualidade do Amendoim coordenado pelos

pesquisadores da ESALQ, consistiu em um programa de extensão para levar aos produtores instruções sobre práticas recomendadas para minimizar a incidência de aflatoxinas. Este programa foi levado para as principais regiões produtoras de amendoim do Estado de São Paulo<sup>8</sup>.

Em 2002, a ABICAB (Associação Brasileira da Indústria de Chocolate, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados) criou um selo o qual informa ao consumidor que os produtos que estampam esta informação em suas embalagens são seguros por seguirem normas de controle de qualidade baseadas naquelas estabelecidas pela FAO-ONU (Food and Agriculture Organization-Organizações das Nações Unidas). Além disto, as empresas participantes se comprometem a adotar o comportamento ético industrial implantando Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), a fim de atender a legislação em vigor. O selo surgiu com o objetivo de estimular o consumo de amendoim no Brasil. Este projeto conta com o apoio da ANVISA e da iniciativa privada<sup>9</sup>. Também, os produtores deste setor, juntamente com técnicos da Secretaria de Agricultura e Abastecimento, vem continuamente desenvolvendo esforços para a implantação de novas políticas para o setor produtivo do amendoim. Os produtores do oeste paulista estão propondo a criação de programas visando a obtenção de variedades de sementes mais produtivas e adaptadas às condições do clima e solo<sup>10</sup>.

Comparando os resultados da incidência, com os de outros autores de outras regiões do país neste período

estudado, observou-se uma tendência de melhora na qualidade dos amendoins, embora com teores máximos elevados e variados. Caldas et al<sup>11</sup>, em um programa de monitoramento de aflatoxinas em diversos alimentos no Distrito Federal, realizado no período de 1998 a 2001, encontraram aflatoxinas em 39,2% das amostras de amendoim cru, 29,4% em paçocas e doces de amendoim e 26,3% em amendoim confeitado com valores máximos de 1421 µg/kg, 1710 µg/kg e 660 µg/kg para a somatória das aflatoxinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>, respectivamente. Em 2002, Batatinha et al<sup>12</sup> analisaram 100 amostras de amendoim e seus derivados comercializados no Estado da Bahia. Das 100 amostras analisadas, 58 continham aflatoxinas com contaminação máxima de 6625 µg/kg. Rocha et al<sup>13</sup> analisaram 36 amostras de amendoim e paçoca comercializadas na cidade de Alfenas/MG de junho de 2006 a fevereiro de 2007. A incidência de contaminação foi de 38% para as amostras de amendoim e 13% para as amostras de paçoca, sendo que os teores variaram de 23 a 137 µg/kg para a somatória das aflatoxinas B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>.

Para atender as crescentes exigências da legislação que vem restringindo os limites máximos permitidos a níveis cada vez mais rigorosos, é importante a utilização de métodos sensíveis e precisos nas análises de micotoxinas. O método utilizando derivatização pós-coluna por CLAE atende às necessidades da legislação nacional e internacional, bem como fornece subsídios para estudos da ingestão diária, entre outros.

**Tabela 1.** Aflatoxinas em amendoim e derivados de amendoim referente aos anos de 2000, 2002 e 2009 no Estado de São Paulo

Ano	nº de amostras	Distribuição das amostras por intervalo de concentração					faixa de concentrações µg/kg
		<LQ*/LD**	LQ*/LD** - 4 µg/kg	4,1- 20 µg/kg	21-30 µg/kg	>30 µg/kg	
2000	56	26*	0	2	3	25	18-1947
2002	73	57*	0	6	3	7	4,4-648
2009	171	107**	55	6	1	2	0,03-71

\*LQ - Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> = 3 µg/kg (Método por Cromatografia em Camada Delgada - CCD)

\*\*LD - Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> = 0,03 µg/kg (Método por CLAE/derivatização pós-coluna -Kobracell)

Estima-se que cerca de 35% dos casos de câncer humano estejam relacionados diretamente à dieta, e a presença de aflatoxinas nos alimentos é considerada um fator importante na produção de câncer hepático, principalmente nos países tropicais<sup>15</sup>.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicam um decréscimo dos níveis elevados de contaminação das amostras com aflatoxinas, evidenciando uma redução da contaminação com relação às amostras de amendoim e derivados consumidos no Estado de São Paulo. Entretanto, nota-se que ainda é necessário juntar esforços dos produtores e órgãos governamentais para oferecerem produtos seguros à população. Neste sentido, os programas de monitoramento, com o compromisso de manter os alimentos dentro dos limites legais, representam uma importante ferramenta para fornecer subsídios e informações a órgãos do governo e setores envolvidos para a implementações de ações corretivas, a fim de diminuir o risco da exposição humana as aflatoxinas. A continuidade desses programas é uma importante estratégia de prevenção, pois as aflatoxinas são recorrentes e sua presença nos alimentos, muitas vezes, é difícil de ser evitada.

## REFERÊNCIAS

1. Micotoxinas no Brasil e no mundo. [acesso em 16 de junho de 2010]. Disponível em: [http://www.mycotoxins.com.br/].
2. IARC - International Agency for Research on Cancer. Aflatoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 1993; 56:245-395.
3. Amaral LBS. Torta de amendoim e morte de suínos. *Biológico*. 1961; 27:63.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 34 de 1976 da CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolve fixar para os alimentos, tolerância de 30 ppb (trinta partes por bilhão) para as Aflatoxinas, calculada pela soma dos conteúdos das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF. 19 de janeiro de 1977. Sec. I.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 274 de 15 de outubro de 2002. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Aprova o Regulamento Técnico sobre limites máximos de aflatoxinas no leite, amendoim e milho. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF. 16 de outubro de 2002. Sec I.
6. MERCOSUL/GMC (Mercado Comum do Cone Sul/Grupo Mercado Comum). Resolução nº 25 de 2002. Regulamento Técnico Mercosul sobre limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, amendoim e milho. [acesso em 16 de junho de 2010]. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/mercosul/alimentos/25\_02.pdf].
7. COMMISSION REGULATION (EU) nº 165/2010 amending Regulation (EC) nº 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. Official Journal of the European Union, L 50/8, 27 of february 2010.
8. Fonseca H. Micotoxinas on-line. Prevenção e controle de micotoxinas em produtos agrícolas. Práticas usuais e novas dos produtores de amendoim. [acesso em 16 de junho de 2010]. Disponível em: [http://www.micotoxinas.com.br/Boletim7.htm].
9. Pró-amendoim. Selo de qualidade. Garantia de produto seguro. [acesso em 16 de junho de 2010]. Disponível em: [http://www.pro-amendoim.com.br/selo.php].
10. Unisite-Economia. Produtores de amendoim debatem necessidades da cadeia produtiva. [acesso em 16 de junho de 2010]. Disponível em: [http://www.unisite.com.br/Economia/25773/Produtores-de-amendoim-debatem-necessidade-da-cadeia-produtiva.xhtml].
11. Caldas ED, Silva SC, Oliveira JN. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. *Rev Saúde Pública*. 2002; 36(3):319-23.
12. Batatinha MJM, Santos MM, Botura MB, Almeida GN, Domingues LF, Kowalski CH et al. Ocorrência de Aflatoxinas em amendoim e seus produtos comercializados no Estado da Bahia durante o ano de 2002. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2003; 62(3):183-7.
13. Rocha MD, Maia PP, Rodrigues MAC, Martins I. Incidência de aflatoxinas em amostras de amendoim e paçoca comercializadas na cidade de Alfenas-MG, Brasil. *Rev Bras Toxicol*. 2008; 21(1):15-9.
14. Soares LV, Rodrigues-Amaya DB. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods using a multi-toxin thin layer chromatographic method. *J Assoc Off Anal Chem*. 1989; 72(1):22-6.
15. Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst*. 1981; 66:1191-308.