



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO DA POPULAÇÃO AS AFLATOXINAS
PELO CONSUMO DE AMENDOIM EM MARINGÁ, BRASIL**

ALINE CRISTINI DOS SANTOS

Maringá
2015

ALINE CRISTINI DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO DA POPULAÇÃO AS AFLATOXINAS
PELO CONSUMO DE AMENDOIM EM MARINGÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Maringá

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S237a Santos, Aline Cristini dos
Avaliação da exposição da população as
aflatoxinas pelo consumo de amendoim em Maringá,
Brasil/Aline Cristini dos Santos. – Maringá, 2015.
23 f. , tabs.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Machinski Junior.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de
Pós-graduação em Ciência de Alimentos, 2015.

1. Aflotoxinas. 2. *Aspergillus flavus*. 3.
Amendoim. 4. Avaliação de risco. 5. Saúde Pública.
I. Machinski Junior, Miguel, orient. II.
Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências
Agrárias. Programa de Pós-graduação em Ciência de
Alimentos. III. Título.

CDD 22. ED.615.95295657009812

JLM-000726

Orientador
Dr. Miguel Machinski Junior

BIOGRAFIA

Aline Cristini dos Santos nasceu na cidade de Astorga-PR. Possui graduação em Nutrição pela Pontifícia Universidade Católica (PUC/PR). Possui experiência nas seguintes linhas de pesquisa: Indicadores de Qualidade em Terapia Nutricional Enteral, Desenvolvimento de produtos, Educação Nutricional, Avaliação do Estado Nutricional, Boas Práticas de Alimentação e Nutrição, Microbiologia de Alimentos, Toxicologia de alimentos.

Dedico

À minha família, por sempre me apoiar.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a Deus, pela realização de mais um grande sonho e pela força para superação dos momentos mais difíceis.

A minha mãe Alice (em memória), que apesar de não estar presente nesta fase da minha vida, conseguiu me preparar e me dar o discernimento necessário para que eu conseguisse ir à busca dos meus objetivos.

Ao meu esposo, Randor pela atenção e pelo incentivo dispensado, que mesmo quando eu não podia estar presente, sempre me apoiou.

A minha filha Ana Clara, que por ser essa criança tão doce e compreensiva, foi meu porto seguro ao longo desta caminhada.

Aos meus familiares no geral, por entender que a minha ausência era necessária para a realização do meu sonho.

Ao Professor Dr. Miguel Machinski Junior, por aceitar me orientar e me dar suporte para a realização dos meus objetivos.

As minhas amigas do mestrado Angela e Natália, que sempre tiveram paciência para me ouvir nos momentos de desespero e me proporcionaram momentos de distração.

As parceiras de laboratório, Milena e Alexandra, que não pouparam esforços para me ajudar em meus experimentos, mesmo quando tudo dava errado.

A Érika Bando, a Fátima e aos técnicos do laboratório, Evanilde e Gessé, que tiveram muita paciência para me ensinar.

Aos amigos e colegas que pude conhecer ao longo do mestrado, Samuel, Paula, Lydiana, Francine, Geleys, Natália e Gabi, que contribuíram para meu amadurecimento profissional.

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação de mestrado está apresentada na forma de um artigo científico.

1 – SANTOS, A. C.; SILVA, M. V.; NERILO, S. B.; SOUZA, A. P. M.; BANDO, E.; MACHINSKI, M. J. Avaliação da exposição da população as aflatoxinas pelo consumo de amendoim em Maringá, Brasil. *Brazilian Journal of Microbiology*.

GENERAL ABSTRACT

Peanut is a food widely consumed worldwide, due to its nutritional properties and its accessibility. In Brazil, due to tropical and subtropical characteristics of the country, peanut samples often are contaminated by fungi produce toxins, mainly the species: *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, aflatoxin producers.

Aflatoxins are hepatocarcinogenics, particularly aflatoxin B₁. Human exposure aflatoxins is through consumption of contaminated food. This study aimed to evaluate the exposure of the population aflatoxins in peanuts marketed in the city of Maringa, Parana State, Brazil, during the period from May 2013 to April 2014.

Forty-seven samples of three brands of peanut were collected in three major markets of the city of Maringa, Parana State, Brazil. The samples were analyzed by thin layer chromatography and confirmed by chemical derivatization with trifluoroacetic acid. Recovery was accomplished by the addition of known quantities of standard solutions satisfactorily test the four aflatoxins (B₁ + B₂ + G₁ + G₂) in five samples free of contamination peanuts. Daily likely average intake was assessed by multiplying the average concentration of aflatoxin, found in this study, the average consumption of peanut population of Maringa region (6.7 g / person / day) divided by the average body weight of an adult (70 kg).

The average recovery method presented for aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ 106, 120, 106.7 and 90%, respectively. Aflatoxin B₁ and B₂ were identified in 25.5% of all samples. We did not find any samples with detectable levels of G₁ and G₂ aflatoxins. All positive samples showed levels above the maximum permitted level for the sum of the four aflatoxins according to Brazilian law. Aflatoxin levels in positive samples ranged from 36-832 µg / kg.

The daily average intake probable (IDPM) was 7.4 µg / kg body weight / day for the sum of aflatoxin B₁ and B₂ aflatoxin. The value found exceeds the maximum daily intake provisional tolerable (IDMTP) of 0.001 µg / kg body weight / day of aflatoxin B₁ for adults and children with no diagnosis of hepatitis B and 0.0004 µg / kg body weight / day of aflatoxin B₁ to hepatitis virus carriers B. IDPM for aflatoxin B₁ (6.5 µg / kg body weight / day) obtained in this study exceeded both IDMTP values, indicating the need for further studies to assess the overall risks for the health of the population by exposure to aflatoxins in Brazil.

Key words: Aflatoxin, *Aspergillus flavus*, daily intake, peanuts, risk assessment, public health.

RESUMO GERAL

O amendoim é um alimento muito consumido em todo o mundo, devido as suas propriedades nutricionais e sua acessibilidade. No Brasil, devido as características subtropicais e tropicais do país, amostras de amendoim, frequentemente, estão contaminadas por fungos produtores de toxinas, principalmente pelas espécies: *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, produtores de aflatoxinas.

As aflatoxinas são hepatocarcinogênicas, principalmente a aflatoxina B₁. A exposição humana as aflatoxinas se dá pelo consumo de alimentos contaminados. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a exposição da população as aflatoxinas em amendoim comercializado em Maringá, Brasil, durante o período de maio de 2013 a abril de 2014.

Foram coletadas 47 amostras de três marcas de amendoim em três mercados de grande porte da cidade de Maringá, Estado do Paraná, Brasil. As amostras foram analisadas por cromatografia em camada delgada e confirmadas por derivação química com ácido trifluoroacético. Foi realizado teste de recuperação por meio da adição de quantidades conhecidas das soluções-padrão contento as quatro aflatoxinas (B₁+B₂+G₁+G₂) em cinco amostras de amendoim livres de contaminação. A ingestão diária provável média foi avaliada através da multiplicação da concentração média de aflatoxinas, encontrada neste estudo, pelo consumo médio de amendoim da população da região de Maringá (6,7 g/pessoa/dia) dividido pelo peso corporal médio de um adulto (70 kg).

O método apresentou recuperação média para aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ de 106, 120, 106,7 e 90%, respectivamente. Aflatoxinas B₁ e B₂ foram identificadas em 25,5% de todas as amostras analisadas. Não foi encontrada nenhuma amostra com níveis detectáveis de aflatoxinas G₁ e G₂. Todas as amostras positivas apresentaram níveis acima do nível máximo permitido para a soma das quatro aflatoxinas de acordo com a legislação brasileira. Os níveis de aflatoxinas nas amostras positivas variaram de 36-832 µg/kg.

A ingestão diária provável média (IDP_M) foi 7,4 µg/kg peso corpóreo/dia para a soma de aflatoxina B₁ e aflatoxina B₂. O valor encontrado ultrapassa a ingestão diária máxima tolerável provisória (IDMTP) de 0,001 µg/ kg peso corpóreo/dia de aflatoxina B₁ para adultos e crianças sem diagnóstico do vírus da hepatite B e de 0,0004 µg/ kg peso corpóreo/dia de aflatoxina B₁ para portadores do vírus da hepatite B. A IDP_M para aflatoxina B₁ (6,5 µg/ kg peso corpóreo/dia) obtido no presente estudo superou ambos os valores de IDMTP, indicando a necessidade da realização de mais estudos para avaliar os riscos globais para a saúde da população pela exposição a aflatoxinas no Brasil.

Palavras chave: Aflatoxinas, *Aspergillus flavus*, ingestão diária, amendoim, avaliação de risco, saúde pública.

ARTIGO

Brazilian Journal of Microbiology

**Avaliação da exposição da população as aflatoxinas pelo consumo de
amendoim em Maringá, Brasil**

1 Resumo

O amendoim é um alimento nutritivo e muito consumido no mundo todo. Aflatoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos do gênero *Aspergillus* que frequentemente colonizam o amendoim. A exposição humana as aflatoxinas ocorre por meio do consumo de alimentos contaminados. O objetivo deste estudo foi avaliar a exposição da população as aflatoxinas em amendoim comercializado na cidade de Maringá, Estado do Paraná, Brasil, durante o período de maio de 2013 a abril de 2014. Foram avaliadas 47 amostras de amendoim por cromatografia em camada delgada e confirmadas por derivação com ácido trifluoroacético. A frequência de contaminação foi de 25,5%. Todas as amostras positivas apresentaram-se acima do limite máximo permitido no Brasil para a somatória das quatro aflatoxinas. A ingestão diária provável média encontrada foi de 7,4 µg/kg peso corpóreo/dia, superando a ingestão diária máxima tolerável provisória. De acordo com os elevados níveis de aflatoxinas encontrados nas amostras analisadas, há necessidade de um maior monitoramento da presença de aflatoxinas em alimentos, tendo em vista a redução nos níveis de contaminação dos alimentos.

Palavras chave: Aflatoxinas, *Aspergillus flavus*, ingestão diária, amendoim, avaliação de risco, saúde pública.

1. INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea*) é um alimento básico na alimentação de muitas pessoas no mundo todo, constitui uma fonte de proteínas, gordura, minerais e vitaminas de baixo custo na dieta (BANKOLE et al., 2005). Culturas de amendoim são altamente vulneráveis a contaminação por fungos, principalmente fungos produtores de toxinas, essa contaminação ocorre, principalmente, durante e após a colheita, afetando qualidade e segurança dos alimentos (SOUZA et. al, 2014). As micotoxinas são responsáveis por grandes perdas econômicas que ocorrem mundialmente, devido aos problemas que causam à saúde humana e animal, além dos prejuízos que causam na produção agrícola (HUSSEIN; BRASEN, 2001).

A contaminação de amendoim e derivados assume destacada relevância em saúde pública, dado o elevado consumo desses produtos, principalmente por crianças (OLIVEIRA, GERMANO; 1997).

As condições climáticas, como alta umidade e temperatura elevada, também aumentam a probabilidade de desenvolvimento de *Aspergillus* e produção de aflatoxinas. Ocorre agravamento dessa situação durante a

40 estação chuvosa e sob condições de estresse como seca ou alta proliferação
41 de insetos (SCUSSEL, 2005). O Brasil é um país de clima predominantemente
42 tropical com condições favoráveis à contaminação de alimentos por aflatoxinas
43 (FREITAS; BADOLATO, 1992).

44 Dados da ocorrência de aflatoxinas no Brasil revelaram elevada
45 incidência. Em um estudo realizado por Rodriguez-Amaya (2001) que avaliou
46 amostras de amendoim e derivados das Regiões Sul e Sudeste, 27% e 47%,
47 respectivamente, das amostras analisadas apresentaram contaminação por
48 aflatoxinas em níveis maiores que 20 µg/kg. Mallman et al. (2005) realizou um
49 estudo no Rio Grande do Sul, onde foram analisadas 664 amostras de
50 amendoim e seus derivados, e, 31,33 % estavam contaminadas com
51 aflatoxinas. Santos et al. (2001) analisaram amostras de amendoim e produtos
52 de amendoim comercializado na região de São José do Rio Preto/SP. Das 178
53 amostras analisadas 70 (39,3%) apresentaram contaminação por aflatoxinas e
54 59 (33,2%) apresentaram valores superiores a 20 µg/kg.

55 A exposição humana as aflatoxinas ocorre principalmente através do
56 consumo de milho e amendoim, que são alimentos básicos em países tropicais.
57 Segundo a IARC (2002), as aflatoxinas são carcinogênicas para os seres
58 humanos (Grupo 1), devido ao aumento estatisticamente significativo do risco
59 de carcinoma hepatocelular em indivíduos expostos a aflatoxinas. A
60 carcinogenicidade hepática de aflatoxinas em indivíduos portadores do vírus
61 da hepatite B é maior do que em indivíduos sem diagnóstico de hepatite B
62 (HERRMAN; WALKER, 1999).

63 O objetivo do presente estudo foi avaliar a exposição da população as
64 aflatoxinas em amendoim comercializado na cidade de Maringá, Estado d
65 Paraná, Brasil, durante o período de maio de 2013 a abril de 2014.

66

67 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

68

69

70

71 **2.1 Amostragem**

72 A amostragem foi determinada de acordo com a aquisição alimentar per
73 capta anual da Região Sul de leguminosas, com base na Pesquisa de
74 Orçamentos Familiares - POF (2008-2009).

75 Foram coletadas 47 amostras de amendoim em grãos de duas marcas
76 populares em três supermercados de grande porte localizados na cidade de
77 Maringá, Paraná, Brasil, durante o período de maio/2013 a abril/2014. As
78 amostras adquiridas eram de lotes distintos e o peso não foi inferior a 500 g.

79

80 **2.2 Controle de qualidade analítica**

81 Como critério analítico para a coleta de amostras, utilizou-se a aquisição
82 de amostras disponíveis aos consumidores em embalagens plásticas, à
83 temperatura ambiente, em condições apropriadas, sem indicio de deterioração
84 e/ou contaminação visível por fungos. O amendoim estava exposto em local
85 seco, como recomendado pelo fabricante A coleta de amostras foi realizada
86 semanalmente. O número de amostras coletadas em cada supermercado era
87 dependente do número de lotes diferentes disponíveis.

88 As embalagens contendo as amostras foram transportados para o
89 laboratório e triturados por completo em blender (Waring Co., Torrington, CT,
90 USA), homogeneizadas em tamiz de 20 mesh, para evitar que possíveis
91 contaminações, que não estiverem bem distribuídas, ficassem misturadas e
92 assim obter uma amostragem significativa. As amostras tratadas foram
93 armazenadas em sacos plásticos a -20 °C até o momento da análise.

94 As amostras positivas foram analisadas em duplicatas em dias
95 diferentes. Cada análise de aproximadamente 11 amostras foi acompanhada
96 de 1 amostra adicionada com 20 µg/kg de aflatoxinas B₁ e G₁ e 5 µg/kg de
97 aflatoxinas B₂ e G₂.

98 O teste de recuperação foi feito em duplicata por meio da adição de
99 quantidades conhecidas das soluções-padrão, contendo as quatro aflatoxinas,
100 em cinco amostras, previamente analisadas, livres de contaminação. Foi
101 utilizado, como critério analítico, recuperação entre 70 e 140% segundo Horwitz
102 et al. (1993).

103

2.3 Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau p.a (Merck, Darmstadt, Germany). Os padrões de aflatoxinas B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁) e G₂ (AFG₂) foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). As soluções foram preparadas de acordo com Manual de Métodos Oficiais de Análise da AOAC (2005). Soluções estoque individuais foram preparadas para cada aflatoxina e a concentração foi determinada em espectrofotômetro ultravioleta (Shimadzu UV-1601P, Tokyo, Japan) em 350 nm. As soluções de trabalho foram preparadas em benzeno-acetonitrila (98:2, v/v), contendo uma mistura das quatro aflatoxinas nas seguintes concentrações: 5 µg/ml AFB₁ e AFG₁ e, 1,5 µg/ml AFB₂ e AFG₂.

2.4 Extração de aflatoxinas

Para o processo de extração das aflatoxinas cinquenta gramas de amostra foram homogeneizadas em blender (Waring Co., Torrington, CT, USA) a baixa rotação, com 270 ml de metanol e 30 ml de cloreto de potássio a 4%, por 5 minutos. A mistura foi filtrada em filtro de papel comum e, 150 ml do filtrado foi transferido para um béquer. O filtrado foi clarificado com 150 ml de sulfato de cobre a 10% e 20 g de celite. A mistura foi filtrada, novamente, e 150 ml do filtrado foi transferido para um funil de separação. Após adição de 150 ml de água, esta mistura foi fracionada duas vezes com 10 ml de clorofórmio. A fase clorofórmica da primeira e da segunda partição foi coletada e 10 ml foi evaporado a secura em banho de água a 80 °C. O resíduo obtido foi resuspendido em 200 µl de benzeno-acetonitrila (98:2, v/v) para análise (RODRIGUEZ-AMAYA, 1989).

2.4 Quantificação e análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Para triagem, 5 µl do extrato foi aplicado em placa de CCD (Alugram®SIL G Silica gel 60, Macherey-Nagel, Duren, Germany). A placa foi colocada em uma cuba contendo a fase móvel constituída por tolueno-acetato de etila-clorofórmio-acido fórmico (35:25:25:10, v/v/v/v) de acordo com Gimeno

136 (1979). As aflatoxinas foram visualizadas por incidência de luz UV longa a 366
137 nm e quantificadas por comparação de fluorescência através da aplicação de
138 volumes conhecidos de amostras e padrões de aflatoxinas nas placas. Todos
139 os cálculos foram feitos de acordo com Manual de Métodos Oficiais de Análise
140 da AOAC (1995).

141 A identidade das aflatoxinas foi confirmada por reações de derivação
142 química com ácido trifluoroacético de acordo com Przybylski (1975).

143

144 **2.5 Estimativa da Ingestão Diária Provável Média (IDP_M)**

145 A IDP_M foi calculada de acordo com Herrman e Younes (1999), através
146 da multiplicação da concentração média da soma de AFB₁ e AFB₂ encontrada
147 nas amostras analisadas neste estudo, pela média do consumo diário de
148 produtos derivados de amendoim no Estado Paraná (Magrine et al.,2011),
149 dividido pelo peso corporal médio de um adulto (70 kg). Optou-se pela inclusão
150 da AFB₂ na análise da IDP_M, devido a importância que essa substância
151 representa quanto a toxicidade e pelo fato da legislação brasileira considerar
152 para o limite de 20 µg/kg a soma das quatro aflatoxinas, independente da
153 concentração individual de cada aflatoxina.

154 De acordo com dados relatados por Magrine et al. (2011), o consumo
155 médio de amendoim foi de 6,7 g/pessoa/dia. Esses dados foram determinados
156 por meio da aplicação de questionários à indivíduos maiores de 18 anos,
157 durante maio e agosto de 2007. As entrevistas foram realizadas em Maringá,
158 Sarandi e Paiçandu, onde para cada um dos endereços selecionados, um
159 indivíduo foi entrevistado. O questionário continha dados relativos a sexo,
160 idade, produtos de amendoim consumido, frequência de consumo e quantidade
161 consumida.

162

163 **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

164 Foram adquiridas em média 4,3 amostras por mês. As duas marcas
165 escolhidas para serem analisadas se destacaram entre as mais vendidas na
166 região e estavam disponíveis aos consumidores no período da coleta das
167 amostras. Os supermercados selecionados estavam localizados em regiões

168 diferentes da cidade de Maringá e atendiam grande parte do público dessas
169 regiões.

170 O limite de quantificação do método foi de 2 µg/kg para cada aflatoxina.
171 A recuperação média obtida pelo método utilizado é mostrada na tabela 1. De
172 acordo com a Comunidade Europeia os níveis aceitáveis para recuperação
173 estariam entre 70-100%, portanto as recuperações médias permanecem dentro
174 da faixa aceitável. Os resultados encontrados neste trabalho são semelhantes
175 a outros já realizados (MAIA; SIQUEIRA, 2002; SEKIYAMA et al., 2005;
176 AMARAL et al., 2006). Rocha et. al (2008) encontrou para o método CCD uma
177 recuperação média de 93% para a soma das quatro aflatoxinas em amendoim
178 e paçoca.

Tabela 1 – Valores de recuperação (%) para aflatoxinas em produtos de amendoim amostrados na cidade de Maringá, no período de maio-2013 à abril-2014 (n=5).

Aflatoxinas	µg/kg	Recuperação (%)					Recuperação Média (%)
		1	2	3	4	5	
		M ^a ± DP ^b	M ± DP	M ± DP	M ± DP	M ± DP	
AFB ₁	20	90 ± 14	140 ± 85	107 ± 38	107 ± 38	107 ± 38	106,0
AFB ₂	5	140 ± 38	90 ± 14	140 ± 14	80 ± 0	120 ± 57	120,0
AFG ₁	20	80 ± 0	90 ± 14	120 ± 57	107 ± 38	107 ± 38	106,7
AFG ₂	5	90 ± 14	80 ± 0	140 ± 38	80 ± 0	90 ± 14	90,0

179

180 Os resultados encontrados para a ocorrência de aflatoxinas em
181 amendoim comercializado na cidade de Maringá são apresentados na tabela 2.
182 Os dados revelaram elevada frequência de aflatoxinas nas amostras, das 47
183 amostras analisadas, 25,5 % estavam contaminadas por aflatoxinas, sendo que
184 todas as amostras positivas apresentaram níveis de aflatoxinas (AFB₁ + AFB₂)
185 acima de 20 µg/kg, limite máximo para presença de aflatoxinas em amendoim e
186 derivados no Brasil (ANVISA, 2011). No presente estudo não foi encontrada
187 nenhuma amostra contaminada com níveis detectáveis de AFG₁ e AFG₂ (< 2
188 µg/kg).

189

190

191

192

Tabela 2 - Teor de aflatoxinas em amostras de amendoim comercializadas e amostradas em Maringá, Brasil no período de maio de 2013 à abril de 2014.

Aflatoxinas	N° Amostras positivas	Incidência (%)	Todas as amostras		Amostras positivas			
			M ^a ± DP ^b	Cv ^c	Faixa de concentração (µg/kg)	M ± DP	Cv ^c	Faixa de concentração (µg/kg)
B ₁	12	25,5	68±173	254	36-720	266±26 ₁	98	36-720
B ₂	11	23,4	9 ± 24	267	8-112	37 ±36	97	nd ^d -112
G ₁	0	0,0	nd ^d	nd ^d	nd ^d	nd ^d	nd ^d	nd ^d
G ₂	0	0,0	nd ^d	nd ^d	nd ^d	nd ^d	nd ^d	nd ^d
B ₁ +B ₂	11	23,4	77±197	256	nd ^a -720	77±197	256	36-832

^aMédia (µg/kg)

^bDesvio Padrão (µg/kg)

^cCV: Coeficiente de variação (%)

^dnd: Abaixo do limite de detecção (2 µg/kg)

193

194 Os níveis de aflatoxinas (B₁+B₂) nas amostras positivas analisadas
 195 variaram de 36-832 µg/kg. A comparação dos resultados encontrados neste
 196 estudo com outros trabalhos realizados no Brasil (Tabela 3) indica que a
 197 incidência de aflatoxinas nas amostras analisadas é semelhante, o que
 198 demonstra que as aflatoxinas continuam sendo ainda um risco para o
 199 consumidor (SHUNDO et al., 2003).

200 No entanto, os níveis de aflatoxinas encontradas neste estudo são
 201 maiores que os reportados em outros países. Iqbal et. al (2013) avaliou 198
 202 amostras de amendoim e derivados comercializados em Punjab no Paquistão e
 203 encontrou 93 (47%) amostras positivas para aflatoxinas, das quais 16% (32/98)
 204 excederam o limite de 4 µg/kg, limite máximo de aflatoxinas da União Europeia
 205 (COMMISSION REGULATION (EC) N. 1881/2006). Egalet. al (2005)
 206 encontraram *A. flavus* em 58,3% das amostras de amendoim analisadas em
 207 Benin e Tongo. Bankole et al. (2005) reportaram que cerca de 64,2%

208 das amostras analisadas de amendoim torrado comercializados na Nigéria
 209 estavam contaminadas com AFB₁ em uma concentração média de 25,5 µg/kg.

Tabela 3 - Ocorrência e níveis de aflatoxinas em amendoim e derivados no Brasil.

Pais (ano)	Estado	Tipo de amendoim	Incidência (%)	Média 4 AFLAs (µg/kg)	Concentração máxima (µg/kg)	Nº de amostras > 20 µg/kg	Referência
Brasil (2012)	São Paulo Distrito	Amendoim e derivados	8/23 (35)	8,5 ± 12,7	36,7	1,0	Jager et. al 2013
Brasil (2011)	Federal	Amendoim sem casca torrado e salgado	29/359	14,2 85,1	1496,0	N.d. ^a	Andrade et al., 2012
		Manteiga e doces de amendoim	8/295	6,7 24,1	340,0	N.d. ^a	
Brasil (2010)	Rio Grande do Sul	Amendoim cru	7/12 (58,3)	126,2	16,2	2,0	Oliveira; Koller, 2011
		Paçoca	6/10 (60)	1,6	3,7	0,0	
Brasil (2007)	São Paulo	Amendoim cru	19/48 (39,6)	12,88 ± 2,42	N.d. ^a	4,0	Oliveira et al., 2009
		Paçoca	35/48 (72,9)	8,97 ± 1,61	N.d. ^a	4,0	
		Amendoim torrado	15/48 (31,2)	1,60 ± 0,25	N.d. ^a	0,0	
		Amendoim salgado	20/48 (41,7)	3,32 ± 0,67	N.d. ^a	1,0	
		Amendoim doce	17/48 (35,4)	3,47 ± 0,46	N.d. ^a	0,0	
Brasil (2007)	Minas Gerais	Amendoim	8/21 (38)	64,0	N.d. ^a	8,0	Rocha et al., 2008
		Paçoca	2/15 (13)	26,0	N.d. ^a	2,0	
Brasil (2002)	Paraná	Amendoim cru	1/6 (16,67)	N.d. ^a	3421,8	N.d. ^a	Eizendeher et al., 2005
		Doce de amendoim	28/38 (73,68)	N.d. ^a	350,0	N.d. ^a	
Brasil (2001)	São Paulo Distrito	Amendoim e derivados	56/87 (64)	306,0	1659,0	42,0	Shundo et al., 2003
Brasil (2000)	Federal	Amendoim cru	26/53 (51,2)	107,0	1421,0	18,0	Caldas et al., 2002
		Paçoca e doces de amendoim	21/41 (49,1)	84,0	1710,0	15,0	
		Amendoim confeitado, frito e torrado	4/10 (40)	48,0	660,0	3,0	

^a Não determinado

211

212 A IDP_M encontrada neste estudo foi de 7,37 µg/kg peso corpóreo/dia.

213 Essa ingestão foi bem maior que a estimada por outros autores. Jager et al.

214 (2013) encontraram uma IDP_M de 0,0137 µg/kg peso corpóreo/dia para a soma

215 das quatro aflatoxinas. Já Magrine et. al (2011) analisou a IDP_M somente para

216 aflatoxina B₁ e encontrou 0,010 µg/kg peso corpóreo/dia para o consumo
217 elevado de amendoim.

218 Kuiper-Goodman (1998) propôs um ingestão diária máxima tolerável
219 provisória (IDMTP) de 0,001 µg/kg peso corpóreo/dia de AFB₁ para adultos e
220 crianças sem diagnóstico do vírus da hepatite B e de 0,0004 µg/kg peso
221 corpóreo/dia de AFB₁ para portadores do vírus da hepatite B. A IDP_M para AFB₁
222 (6,51 µg/kg peso corpóreo/dia) obtido no presente estudo superou ambos os
223 valores da IDMTP, indicando a necessidade da realização de mais estudos
224 para avaliar os riscos para a saúde do ser humano por meio da exposição as
225 aflatoxinas no Brasil.

226

227 **CONCLUSÕES**

228 A alta incidência de aflatoxinas nos produtos analisados demonstraram a
229 necessidade de um maior monitoramento quanto a presença de aflatoxinas em
230 grãos de amendoins, para que possa haver redução nos níveis de
231 contaminação nos alimentos disponíveis ao consumidor. O risco presente na
232 dieta da população analisada mostrou-se maior do o encontrado em outras
233 regiões e pode representar um problema de saúde importante para a
234 população exposta. Sugere-se que outros trabalhos sejam realizados para
235 avaliar o risco da exposição humana à aflatoxinas, tendo em vista a IDP_M
236 relatada neste estudo. De acordo com os elevados níveis de aflatoxinas
237 encontrados nas amostras analisadas, há necessidade de um maior
238 monitoramento da presença de aflatoxinas em alimentos, tendo em vista a
239 redução nos níveis de contaminação dos alimentos.

240

241 **AGRADECIMENTOS**

242 À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

243 **REFERÊNCIAS**

- 244 AOAC. *Association of Official Agricultural Chemists. Official. Methods of*
245 *Analysis of the Association of Analytical Chemists*, 17th ed. Arlington,
246 Washington, 2005.
- 247
248 AOAC. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical*
249 *Chemists*, 16th ed. Method 971.22; 985.17. The Association: Arlington,
250 Washington, 1995.
- 251
252 Amaral KAS; Nascimento GB, Sekiyama BL, Janeiro V, Machinski MJ (2006).
253 Aflatoxinas em produtos à base de milho comercializados no Brasil e riscos
254 para a saúde humana. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 26:336-342.
- 255
256 Andrade PD, Mello MH, França JA, Caldas ED (2012). Aflatoxins in food
257 products consumed in Brazil: a preliminary dietary risk assessment. *Food Addit.*
258 *Contam: Part A*, 1–10.
- 259
260 ANVISA. 2011. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução N° 7.
261 Brasília: Diário Oficial da União. 18 de fevereiro de 2011.
- 262
263 Bankole SA, Ogunsanwo BM, Esegbe DA (2005). Aflatoxins in Nigerian
264 dryroasted groundnuts. *Food Chem.* 89:503-506.
- 265
266 Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006, setting
267 maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the*
268 *European Union*.
- 269
270 Egal S, Hounsa A, Gong YY, Turner PC, Wild CP, Hall AJ, Hell K, Cardwell KF
271 (2005). Dietary exposure to aflatoxin from maize and groundnut in young
272 children from Benin and Togo, West Africa. *Int. J. Food Microbiol.* 104:215-224.
- 273
274 Eizendeher LB, Freitas RJS, Cançado RA(2005). Incidência de aflatoxinas B₁,
275 B₂, G₁ e G₂ em doces de amendoim e amendoim *in natura* comercializados no
276 Estado do Paraná. *Hig. Aliment.* 19:101-104.
- 277
278 FAO (1995). Guidelines for the application of the hazard analysis critical control
279 point (HACCP) system (CAC/GL 18-1993). *In: Codex Alimentarius*, Vol. 1B,
280 *General Requirements (Food Hygiene)*, pp. 21–30, Rome, FAO/WHO.
- 281
282 Freitas VPS, Badolato MIC (1992). Incidência de aflatoxinas em paçocas de
283 amendoim consumidas na cidade de Campinas, estado de São Paulo. *Rev.*
284 *Inst. Adolfo Lutz* 52:83-87.
- 285

- 286 Gimeno A (1979). Thin layer chromatographic determination of aflatoxins,
287 ochratoxins, sterigmatocystin, zearalenone, citrinin, T-2 toxin,
288 diacetoxyscirpenol, penicillic acid, patulin, and penitrem A. *J. Assoc. Off. Anal.*
289 *Chem.* 62: 579-585.
- 290
- 291 Gonçalves E, Nogueira JHC, Homero F, Joana DF, Pino FA, Corrêa B (2008).
292 Mycobiota and mycotoxins in Brazilian peanut kernels from sowing to
293 harvest. *International. J. Microbiol.* 123:184–190.
- 294
- 295 Herrman JL, Walker R. (1999). Risk analysis of mycotoxins by the Joint
296 FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). *Food Nutr. Agric.*
297 23:17–24.
- 298
- 299 Herrman JL, Younes M (1999). Background to the ADI/TDI/PTWI. *Regul.*
300 *Toxicol. Pharmacol.* 30:109-113.
- 301
- 302
- 303 Horwitz W, Albert R, Nesheim S (1993). Reliability of mycotoxin assays– an
304 update. *J. AOAC Int.* 76:461-491.
- 305
- 306 Hussein HS, Brasel JM (2001). Review: toxicity, metabolism, and impact of
307 mycotoxins on humans and animals. *Toxicology.* 167:101-134.
- 308
- 309 IARC (1993) *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to*
310 *Humans, Vol. 56. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and*
311 *Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins, Lyon, IARC Press,*
312 *pp. 245–395.*
- 313
- 314 IARC (2002). Some traditional herbal medicines, some mycotoxins,
315 naphthalene and styrene. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* 82: 1–556.
316 PMID:12687954
- 317
- 318 Iqbal SZ, Asi MR, Zuber M, Akrama N, Batool N (2013). Aflatoxins
319 contamination in peanut and peanut products commercially available in retail
320 markets of Punjab, Pakistan. *Food Control* 32: 83-86.
- 321
- 322 Kuiper-Goodman T (1998). Food safety: mycotoxins and phytotoxins in
323 perspective. *Mycotoxins and Phytotoxins e Developments in Chemistry,*
324 *Toxicology and Food Safety* (pp. 25-48). Fort Collins: Alaken.
- 325
- 326 Kurtzmann CP, Horn BW, Hesseltine CW (1987). *Aspergillus nomius*, a new
327 aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamaris*.
328 *Antonie van Leeuwenhoek.* 53:147–158.
- 329
- 330 Maia PP, Siqueira MEPB (2002). Occurrence of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in
331 some Brazilian pet foods. *Food Addit. Contam.* 19:1180-1183.
- 332

- 333 Magrine ICO, Ferrari SSC, Souza GF, Minamihara L, Kimmelmeier C, Bando
334 E, Machinski JrM (2011). Intake of aflatoxins through the consumption of peanut
335 products in Brazil. *Food Addit. Contam; Part B*, 4:99–105.
- 336
337 Mallmann CA, Kowalski CH, Almeida CA, Mürmann L, Silveira VG. Prevalência
338 de aflatoxinas em amendoim e seus derivados, destinados ao consumo
339 humano, no estado do Rio Grande do Sul. *Anais 2º Simpósio em Ciência de*
340 *Alimentos*. Available at: <http://www.lamic.ufsm.br/papers/2.pdf>. Accessed 20 Apr.
341 2015.
- 342
343 Oliveira CAF, Germano PML (1997). Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos
344 de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular.
345 *Saúde Públ.* 31: 417-424.
- 346
347 Oliveira CAF, Gonçalves NB, Rosim RE, Fernandes AM (2009). Determination
348 of Aflatoxins in Peanut Products in the Northeast Region of São Paulo, Brazil.
349 *Int. J. Mol. Sci.* 10: 174-183.
- 350
351 Oliveira LSF, Koller FFC (2011). Occurrence of *Aspergillus* and aflatoxin in
352 samples of peanuts *in natura* and peanut sweet. *Ciênc. Amb.* 5:57–68.
- 353
354 POF. Pesquisa de Orçamentos Familiares (2008-2009). Aquisição Alimentar
355 Domiciliar *per Capita* Brasil e Grandes Regiões. Available at:
356 [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_20](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/)
357 [09_aquisicao/](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/). Accessed 20 Jan. 2015.
- 358
359 Przybylski W (1975). Formation of aflatoxin derivatives on thin layer
360 chromatographic plates. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 58:163-164.
- 361
362 Rodriguez-Amaya, DB. Occurrence of mycotoxins and mycotoxin-producing
363 fungi in Latin America. In: Koe WJ, Samson RA, Van-Egmond HP, Gilbert J,
364 Sabino M (2001). *Mycotocins and phycotoxins in perspective at the turn of the*
365 *millenium*. Wageningen, The Netherlands: W. J. De Koe, 309-320.
- 366
367 Rocha MD, Maia PP, Rodrigues MAC, Martins I (2008). Incidência de
368 aflatoxinas em amostras de amendoim e paçoca comercializadas na cidade de
369 Alfenas-MG, Brasil. *Rev. Bras. Toxicol.* 21:15-19.
- 370
371 Santos CCM, Lopes MRV, Kosseki SY (2001). Ocorrência de aflatoxinas em
372 amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de São José do
373 Rio Preto/SP. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 60: 153-157.
- 374
375 Scussel VM (2005). Aflatoxin and food safety: recent South American
376 perspectives. In: ABBAS, H. K. *Aflatoxin and food safety*. 29-58.
- 377
378 Sekiyama BL, Ribeiro AB, Machinski PA, Machinski JrM (2005). Aflatoxins,
379 ochratoxin A and zearaleone in maize-based food products. *Braz. J. Microbiol.*
380 36:289-294.

- 381
382 Shundo L, Silva RA, Sabino M (2003). Ocorrência de Aflatoxinas em amendoim
383 e produtos de amendoim comercializados na região de Marília – SP, Brasil no
384 período de 1999-2001. Rev. Inst. Adolfo Lutz 62: 177-181.
385 .
386 Soares LMV, Rodriguez-Amaya DB (1989). Survey of aflatoxins, ochratoxin A,
387 zearalenone, and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin
388 thin-layer chromatographic method. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 72:22-26.
389
390 Souza GF, Mossini SAG, Arrotéia CC, Kemmelmeier C, Machinski Jr M (2014).
391 Evaluation of the mycoflora and aflatoxins from the pre-harvest to storage of
392 peanuts: a case study. Acta Sci. Agron. 36:27-33.
393
394