
**QUANTIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS EM PAÇOCAS DE AMENDOIM
COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE APUCARANA - PR**

Francieli Thaila do Couto¹
Eduardo Amaral de Toledo²

RESUMO

Após o famoso caso em 1960 de surto que resultou em mais de cem mil mortes de perus no Reino Unido por conta de um contágio do fungo *Aspergillus flavus* na ração consumida pelos perus, iniciaram-se a partir desse momento diversas pesquisas para se descobrir mais sobre esse fungo e o seu potencial nocivo à saúde. A contaminação de alimentos por aflatoxinas é uma preocupação de saúde pública, visto que o seu consumo pode acarretar sobretudo de maneira crônica patologias hepáticas induzindo até mesmo ao câncer, além de seu efeito agudo poder acarretar a morte. Sendo o amendoim um dos principais alvos do fungo *Aspergillus flavus*, faz com que produtos alimentícios derivados do amendoim necessitem de maior atenção quanto a sua segurança micotoxicológica. Portanto esse estudo visa avaliar a incidência de aflatoxinas em paçocas de amendoim comercializadas na cidade de Apucarana – PR, detectar e quantificar aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ e identificar as possíveis patologias acarretadas pelo consumo de aflatoxinas por seres humanos. Trata-se de um estudo transversal e quantitativo. A metodologia utilizada foi através do método de ELISA, utilizando um total de 5 amostras de paçocas de amendoim coletadas aleatoriamente no comércio da cidade de Apucarana – PR. Os resultados obtidos por essa pesquisa não revelaram a presença de contaminação por aflatoxinas, demonstrando a preocupação das indústrias em estarem de acordo com a legislação vigente, assegurando um processo salvo de riscos para contaminação desde o plantio, colheita, armazenamento e processamento do produto final, garantindo assim um produto seguro para o consumo.

11

Palavras-chave: Arachis. Aspergillus. Micotoxina.

ABSTRACT

After the famous case of the outbreak in 1960 that resulted in over one hundred thousand deaths of turkeys in the United Kingdom due to a contagion of the fungus *Aspergillus flavus* in the feed consumed by turkeys, it began from that moment several researches in order to discover more about this fungus and its potential harmful to health. Contamination of food by aflatoxins is a public health concern, since its consumption can lead to chronic liver diseases, even inducing cancer, and its acute effect may lead to death. As peanut is one of the main targets of the fungus *Aspergillus flavus*, it makes peanuts-derived products need more attention regarding its mycotoxicological safety. Therefore, this study aims to evaluate the

¹ Acadêmica do Curso Bacharelado em Nutrição da Faculdade de Apucarana – FAP, Apucarana, PR, Brasil. franthailacouto@gmail.com.

² Docente/Orientador Mestre do Curso Bacharelado em Nutrição da Faculdade de Apucarana – FAP, Apucarana, PR, Brasil. eduardo@slpart.com.br.

incidence of aflatoxins in *paçocas* commercialized in the city of Apucarana - PR, to detect and quantify aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ and to identify the possible pathologies caused by the consumption of aflatoxins by humans. It is a cross-sectional and quantitative study. The methodology used was ELISA's method, using a total of 5 samples of *paçocas* randomly collected in the city of Apucarana - PR. The results obtained by this research has not revealed the presence of aflatoxins contamination, demonstrating the concern of the industries to be in accordance with the current legislation, ensuring a safe process from contamination risks from the planting, harvesting, storage and processing of the final product, thus ensuring a safe product for consumption.

Keywords: Arachis. Aspergillus. Mycotoxin.

INTRODUÇÃO

Em 1960 as micotoxinas tornaram-se mundialmente conhecidas após um surto de mortes inexplicáveis de mais de cem mil perus no Reino Unido. Tal surto ficou mundialmente conhecido como *turkey x disease* ou (*doença x dos perus*). Após investigações descobriu-se o motivo da morte das aves: a ração. A mesma havia sido produzida com amendoins oriundos da África e do Brasil, sendo que esses estavam contaminados com aflatoxinas produzidas pelo fungo *Aspergillus flavus*. A partir desse acontecimento histórico iniciaram-se diversas pesquisas sobre aflatoxinas na micotoxicologia (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

No homem, os efeitos causados pelas micotoxinas se apresentam de maneira crônica, sendo difícil associar seus efeitos com alimentos contaminados. A ingestão de alimentos contaminados com micotoxinas pode levar à indução de câncer, lesão renal e depressão do sistema imune; sendo que os efeitos causados por micotoxicoses dependem do estado nutricional do indivíduo, gênero, idade, dose e período de exposição à essa toxina (FERREIRA; FREITAS; MOREIRA, 2014).

No Brasil, existe a legislação em vigor RDC 7/2011 que regulamenta os níveis permitidos de micotoxinas presentes em alimentos, em especial indicando os níveis máximos permitidos de presença de aflatoxinas em amendoim, sendo esse de 20µg/kg (ANVISA, 2011).

A existência de aflatoxinas em alimentos é um problema de saúde pública, necessitando maior divulgação para a população em geral, para que tenham maior conhecimento sobre o assunto, podendo exigir produtos de qualidade para o consumo que não acarretem em problemas de saúde.

Diante desse contexto se faz necessário avaliar a incidência de aflatoxinas em paçocas de amendoim comercializadas na cidade de Apucarana – PR.

METODOLOGIA

A análise das amostras de paçoca foi realizada no ano de 2018, no laboratório da SL Alimentos, localizada na cidade de Mauá da Serra, situada na região norte do Paraná.

Foram coletadas 5 amostras de paçoca de marcas distintas, compradas no período de fevereiro a março aleatoriamente no comércio da região central da cidade de Apucarana-PR, cidade situada na região norte do Paraná.

As análises foram efetuadas utilizando o método de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) na qual consiste em uma reação antígeno-anticorpo detectável por meio de reações enzimáticas, onde o sistema veratox mostra ao final do teste uma coloração azul, que quanto maior a intensidade da coloração, menor a quantidade presente de aflatoxina na amostra.

13

Antes de se iniciar o teste o kit veratox foi retirado da refrigeração e colocado em temperatura ambiente (18 – 30°C) por 15 minutos antes de utilizá-lo.

As amostras de paçoca utilizadas como objeto de estudo da pesquisa foram identificadas com o auxílio de um pincel atômico, nos Erlenmeyers onde estavam contidas as mesmas na qual foram grafados os números 5, 6, 7, 8 e 9, pois os testes padrões aplicados na análise foram os de número 1, 2, 3 e 4.

Foram pesados 5g de cada amostra de paçoca e colocado em Erlenmeyer de 300mL.

Em seguida, com o auxílio de uma espátula a paçoca foi semi moída, a fim de diminuir o tamanho das partículas, usou-se uma proveta de 25mL para acrescentar 25mL do metanol 70% e as amostras foram homogeneizadas por 3 minutos, com auxílio da mesa agitadora.

Após retirar as amostras da mesa agitadora, foi realizada a filtração das amostras, utilizando o papel filtro, funil de 75mm e Erlenmeyer de 125mL.

Enquanto as amostras foram filtradas, pegou-se 9 micropoços vermelhos e 9 micropoços brancos do kit (sendo 4 para o teste padrão e 5 para as amostras de paçoca). Com o auxílio de uma pipeta acrescentou-se 100µl dos padrões (concentrações de 0, 5, 15 e 50 ppb) de teste nos primeiros micropoços vermelhos e as amostras nos seguintes, trocando a ponteira da pipeta entre cada amostra para se evitar contaminações cruzadas.

Em seguida, foi acrescentado 100µl da solução conjugado e transferiu-se a mistura para os micropoços brancos misturando bem, deixando reagir por 2 minutos.

Decorridos os 2 minutos, o líquido dos micropoços foi descartado e realizou-se o enxague dos micropoços com água destilada 5 vezes, após o enxague realizou-se a secagem dos micropoços batendo-os em um papel toalha absorvente até que não restasse nenhuma gotícula de água em seu interior.

Após sua secagem, foi acrescentado a solução substrato aos micropoços e deixado reagir por 3 minutos.

Em sequência foi acrescentado a solução stop e homogeneizado, a qual é responsável por parar a reação.

Os resultados foram obtidos através da leitura dos micropoços na leitora ELISA, utilizando a absorbância de 650nm. A leitura foi efetuada 20 minutos após a adição da solução stop para se evitar resultados falso positivo ou falso negativo. A leitora emitiu o resultado total de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ juntamente com a curva de calibração dos padrões.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através dessa pesquisa demonstraram que, das 5 marcas de paçocas apenas 1 marca apresentou resultado positivo para aflatoxina, porém como podemos observar na tabela 1 os níveis encontrados se encontram dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente RDC 07/2011 a qual estabelece como LMT (Limite máximo tolerado) o valor de 20µg/kg para amendoim e seus derivados.

Tabela 1 - Resultado da análise

| Amostra | Resultado (µg/kg) | LMT(µg/kg) |
|----------------|--------------------------|-------------------|
| Marca 5 | 0,6 | |
| Marca 6 | 0,0 | |
| Marca 7 | 0,0 | |
| Marca 8 | 0,0 | 20 |
| Marca 9 | 0,0 | |

Fonte: Couto e Toledo (2018)

Resultados semelhantes aos obtidos foram encontrados no estudo realizado por Ferreira; Freitas; Moreira (2014) sendo analisadas 9 amostras de paçocas comercializadas na cidade de Lavras – MG, onde nenhuma das amostras deu resultados positivos para aflatoxinas B₁ e B₂.

O resultado negativo para a presença de aflatoxina em paçocas pode estar relacionado com as boas práticas agrícolas no plantio, colheita e armazenamento dos grãos antes de sua utilização na produção das paçocas o que lhe garantiria maior segurança micotoxicológica.

Bochio et al. (2017) concorda que um dos principais métodos para a prevenção de contaminação por micotoxinas se trata de não permitir que esses fungos encontrem condições favoráveis para sua proliferação. Sendo assim a maneira mais eficaz é realizar o controle da temperatura e umidade desde o plantio, colheita, transporte, estocagem e processamento do produto.

Além disso, Gloria et al. (2006) acredita que o resultado relativamente baixo de contaminação obtido nas amostras de paçocas pode estar relacionado também ao fato de que no processo de sua fabricação os grãos de amendoim ao serem triturados e misturados, os grãos contaminados se misturam com os não contaminados fazendo assim com que as aflatoxinas presentes fiquem homogeneizadas diminuindo deste modo sua presença e detecção.

15

Antunes; Freitas; Royo (2014) também obtiveram resultados semelhantes ao dessa pesquisa, foram analisadas 12 amostras de paçocas comercializadas na cidade de Montes Claros – MG, onde das 12 amostras nenhuma apresentou resultado positivo para aflatoxinas.

Pesquisa realizada por Ferreira; Barros; Fortuna (2017) onde foram analisadas 31 amostras de amendoim em grãos cru; amendoim torrado em grãos e amendoim torrado e triturado comercializados na cidade de Juiz de Fora – MG, onde das 31 amostras, 17 estavam contaminadas por fungos potencialmente toxigênicos, sendo a maior ocorrência nas amostras de amendoim cru em grãos (84,62%) e a menor ocorrência no amendoim torrado e triturado (30,77%).

Esse resultado pode estar relacionado ao processo de torra pelo qual o amendoim passou, logo o fator térmico pode estar relacionado também com o resultado obtido por essa pesquisa, visto que o amendoim passa pelo tratamento térmico antes de sua transformação em paçoca, o que poderia diminuir o número de fungos presentes.

Diferenciando-se desse resultado Guimarães et al. (2013) analisando 7 amostras de amendoim assado comercializado nas praias da região de Maceió – AL, (57,14%) das

amostras apresentaram contaminação por aflatoxinas acima do LMT. Braga et al (2017) após analisar 6 amostras de amendoim torrados, comercializados na praia de Boa Viagem – PE. Constatou 100% de contaminação das amostras por aflatoxinas, mostrando que mesmo grãos que passam por um tratamento térmico podem apresentar níveis elevados de aflatoxinas.

Oliveira e Koller (2011) também correlacionaram a presença do fungo com a presença de toxinas após analisarem 12 amostras de grãos de amendoim *in natura* e 10 amostras de paçocas ambos coletadas em Porto Alegre – RS, onde foi evidenciado a presença de crescimento fúngico dos gêneros *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium* e *Penicillium*, nas 12 amostras de amendoim, sendo que 8 das amostras confirmaram presença de *Aspergillus spp* e 7 apresentavam presença de aflatoxina. Enquanto nas amostras de paçoca foram confirmadas presença de *Aspergillus* em apenas 2 amostras, enquanto 6 amostras apresentaram a existência de aflatoxina.

Rocha et al. (2008) na cidade de Alfenas – MG, utilizando 21 amostras de amendoim e 15 amostras de paçocas, encontrou 8 amostras positivas de amendoim para aflatoxinas e 2 amostras positivas de paçoca, sendo encontradas nas paçocas valores entre 18 - 29 μ g/kg de aflatoxina B₁, ultrapassando o LMT estabelecido pela ANVISA.

16

Este resultado pode estar relacionado as condições climáticas (umidade e altas temperaturas) a qual os grãos foram submetidos, além de práticas inadequadas de agricultura e condições de estocagem.

Imamura et al. (2014) realizou uma pesquisa com a safra de amendoim da região de Alta Paulista – SP no período de 2011-2012, a qual apresentou níveis de contaminação entre 28-260 μ g/kg, sendo o maior valor de 260 μ g/kg obtido da safra de 2012, este resultado pode ter sido influenciado pelo clima seco do ano de 2012, diferentemente do ano de 2011 onde foi registrado maior índice pluviométrico. Podendo assim relacionar seus resultados com o estresse hídrico sofrido pelos grãos. Silva e Martins (2014) concorda que o estresse hídrico se trata de um fator que torna susceptível a entrada dos fungos presentes no solo, nos grãos de amendoim.

O consumo desses alimentos contaminados por aflatoxinas poderiam levar à várias patologias visto seu potencial carcinogênico e intoxicante, podendo ser considerado um problema de saúde pública.

Kawashima e Soares (2006) realizaram uma pesquisa com 74 amostras de produtos à base de milho comercializadas na cidade de Recife – PE no período de 1999 a 2001, encontrando 94,6% de contaminação por fumonisina B₁ e somente 5 amostras mostraram-se

positivas para aflatoxinas B₁ e B₂, sendo que apenas 2 amostras ultrapassaram o LMT de 20µg/kg.

Identificando níveis exacerbantes de aflatoxinas, Shundo et al. (2010) analisaram amostras de amendoim e derivados coletados pela vigilância sanitária do estado de São Paulo nos anos de 2000, 2002 e 2009 o qual mostraram no ano de 2000, das 56 amostras coletadas e analisadas, 25 apresentaram aflatoxinas variando os teores apresentados de 18 µg/kg a 1947 µg/kg. No ano de 2002, das 73 amostras analisadas, 7 apresentaram teores que variaram de 4,4 µg/kg a 648 µg/kg. Em 2009, das 171 amostras, 3 apresentaram concentrações de aflatoxina acima dos LMT, variando os teores de 0,03 µg/kg a 71 µg/kg.

O decréscimo dos teores de aflatoxinas no decorrer dos anos, poderia indicar os esforços dos produtores de amendoim com o compromisso de manterem seus produtos dentro dos limites legais. Mallmann et al. (2000) concorda que a diminuição de contaminação por aflatoxina em amendoins estejam relacionadas com o maior rigor da vigilância de acordo com a legislação.

A não conformidade com a legislação pode significar perdas lucrativas significantes, pois quando identificados produtos contaminados pode haver a interdição do lote do produto. Como no caso ocorrido recentemente, no ano de 2017, quando a ANVISA interditou um lote de paçocas por apresentar teor de aflatoxinas acima do LMT (ANVISA, 2017).

Além disso, o selo de qualidade do programa Pró-Amendoim criado pela ABICAB tem por objetivo estimular toda a cadeia produtora de amendoim a produzir um produto dentro dos padrões de qualidade nacionais e internacionais, possuindo como foco principal a prevenção das aflatoxinas, gerando assim um produto totalmente seguro aos consumidores.

CONCLUSÃO

A presença de contaminação de aflatoxinas (B₁, B₂, G₁ e G₂) nas amostras de paçocas se mostraram nulas. Isso mostra a crescente preocupação das indústrias em se enquadrarem na legislação vigente, garantindo um maior controle da qualidade de seus produtos desde o plantio, colheita, armazenamento e processamento, através do cumprimento de BPF e APPCC, levando um produto de maior confiabilidade e qualidade aos consumidores.

Visto o potencial nocivo a saúde que a contaminação por aflatoxina em amendoim e seus derivados como a paçoca podem possuir, é de extrema importância o devido monitoramento pelos órgãos competentes em vigilância sanitária para a segurança de seus

consumidores, bem como esse controle pode ser realizado por um profissional nutricionista o qual poderia fazer o controle dos fornecedores do amendoim cru os quais devem fazer o cumprimento de BPF e APPCC além de liberar o processo de compra da matéria prima (amendoim) somente após realizada análises que comprovem a ausência de aflatoxinas.

Sendo a paçoca um alimento consumido em sua maior parte pela população infantil. O consumo de aflatoxina poderia levar sobretudo aos seus efeitos crônicos, dado que sua toxicidade se mostra principalmente pelo efeito acumulativo.

O controle da qualidade do produto faz que a paçoca possa ser consumida sem haver o risco de desenvolver patologias como o câncer hepático, imunossupressão ou aflatoxicoses. Além disso, essa segurança micotoxicológica faz com que se possa aproveitar os benefícios nutricionais que o amendoim e seus derivados trazem à saúde quando consumidos com moderação.

REFERÊNCIAS

ABICAB. **Pró-amendoim**. 2018c. Disponível em:

<http://www.abicab.org.br/paginas/amendoim/pro-amendoim/>. Acesso em: 11 set. 2018.

ANTUNES, Nayara de Cássia; FREITAS, Ronilson Ferreira; ROYO, Vanessa de Andrade. Determinação da presença de aflatoxinas em amostras de paçocas comercializadas em Montes Claros – MG. **Revista Conexão ciência – UNIFOR-MG**, Formiga, v. 9, n. 2, p. 38-47, jul./dez. 2014.

ANVISA. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 07, de 18 de fevereiro de 2011**.

Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2968262/RDC_07_2011_COMP.pdf/afe3f054-bc99-4e27-85c4-780b92e2b966. Acesso em: 12 out. 2017.

ANVISA. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 138, de 8 de fevereiro de 2017**.

Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3219534/RDC_138_2017_.pdf/b36e60b0-5112-43dc-9142-932f502fc46b?version=1.0. Acesso em: 14 jul. 2018.

BOCHIO, Vivielle et al. Efeitos da aflatoxina na produção avícola: revisão. **PUBVET**, Maringá, v. 11, n. 8, p. 832-839, ago. 2017.

BRAGA, Carolinne Melo Salgado Ribeiro et al. Detecção presuntiva de aflatoxinas em amendoins comercializados na cidade do Recife, PE, Brasil. **Infarma ciências farmacêuticas**, [s.l.], v. 29, p. 141-146, 2017.

FERREIRA, Isadora Caputo; BARROS, Rosângela Abreu Monteiro de; FORTUNA, Jorge Luiz. Fungos potencialmente toxigênicos em amostras de amendoim disponível para o consumo humano. **Higiene alimentar**, [s.l.], v. 31, n. 266/267, p.85-90, mar./abr. 2017.

FERREIRA, Maéve Carvalho; FREITAS, Daniela Fernanda de; MOREIRA, Edimar Agnaldo. Identificação de aflatoxinas em paçocas de amendoim comercializadas na cidade de Lavras-MG. **Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada**, [s.l.], v. 35, n. 4, p. 717-722, 2014.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. As micotoxinas. **Revista fib**, São Paulo, n.7, 2009.

GLORIA, Eduardo Micotti da et al. Perfil da contaminação com aflatoxina entre embalagens de produtos de amendoim. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n.3, p. 660-665, jul./set. 2006.

GUIMARÃES, Karla Cristina Sousa Santos et al. Aflatoxinas: análise por cromatografia em camada delgada e espectrofotometria de amendoins assados coletados em praias da região metropolitana de Maceió-AL. **Biofar - Revista de biologia e farmácia**, Campina Grande – PB, v. 9, n. 1, p. 42-50, mar./maio 2013.

IMAMURA, Kely Braga et al. 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 Inst Adolfo Lutz**, [s.l.], v. 73, n. 2, p. 178-87, 2014

19

KAWASHIMA, Luciane Mie; SOARES, Lucia Maria Valente. Incidência de fumonisina B₁, aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 516-521, jul./set. 2006.

MALLMANN, C. A. et al. Incidência de aflatoxinas em amendoim e derivados destinados a alimentação humana. Congresso latino-americano de micotoxicologia, 3., 2000, Santa Maria. **Anais [...]**. Santa Maria: LAMIC, 2000.

OLIVEIRA, Letícia da Silva Favretto de; KOLLER, Francisco Fernando de Castilho. Ocorrência de *Aspergillus spp.* e aflatoxinas em amostras de amendoim *in natura* e paçocas. **Revista ciências ambientais**, Canoas, v. 5, p. 57-68, 2011.

ROCHA, Miguel Divino da et al. Incidência de aflatoxinas em amostras de amendoim e paçoca comercializadas na cidade de Alfenas – MG, Brasil. **Revista Brasileira de Toxicologia**, Alfenas (MG), v. 21, p. 15-19, 2008.

SHUNDO, Luzia et al. Aflatoxinas em amendoim: melhoria da qualidade e programas de controle. **Revista instituto Adolfo Lutz**, [s.l.], v. 69, n. 4, p. 567-570, out./dez. 2010.

SILVA, Conceição Batista da; MARTINS, Jonh Dalton de Castro. Aflatoxina em amendoim. **Revista Engenho**, [s.l.], v. 9, jun. 2014.