

Ocorrência de Aflatoxinas em amendoim e seus produtos comercializados no estado da Bahia durante o ano de 2002*

Occurrence of Aflatoxins in peanut and peanut products commercialized in the state of Bahia during the year 2002

Maria José M. BATATINHA^{1**}
Monica M. dos SANTOS²
Mariana B. BOTURA²
Gisele N. ALMEIDA³
Luciana F. DOMINGUES³
Claudia H. KOWALSKI⁴
Carlos A. MALLMANN⁴

RIALA6/956

Batatinha, M. J. M. et al. - Ocorrência de Aflatoxinas em amendoim e seus produtos comercializados no estado da Bahia durante o ano de 2002. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 62(3): 183 - 187, 2003.

RESUMO. Este estudo teve como objetivo avaliar a contaminação por aflatoxinas (B_1 , B_2 , G_1 e G_2) em amostras de amendoim comercializadas em alguns municípios do estado da Bahia. Foram analisadas 100 amostras, sendo 33 de amendoim e 67 de produtos a base de amendoim. A coleta das amostras foi realizada aleatoriamente em diferentes estabelecimentos comerciais da cidade de Salvador (75 amostras) e em municípios do estado da Bahia (25 amostras) durante o período de janeiro a outubro de 2002. A extração foi realizada com acetonitrila:água (84:16, v/v), e a quantificação das aflatoxinas procedida pelo método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), empregando detecção por fluorescência. Das 31 amostras de amendoim analisadas, 29 (93,55%) foram positivas, sendo que 17 (54,84%), apresentaram teor de contaminação por $B_1 + B_2 + G_1 + G_2$ superior a 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Para as 69 amostras de derivados de amendoim, apenas 6 (8,7%) apresentaram contaminação por aflatoxinas $B_1 + B_2 + G_1 + G_2$ superior ao limite. Os resultados ainda revelaram que 20 (80%) do total de amostras coletadas nos municípios do Estado (25) e 38 (50,7%) das 75 amostras procedentes de Salvador foram positivas. Os resultados ressaltam a necessidade de um controle eficaz dos níveis de aflatoxinas destes produtos na região.

PALAVRAS-CHAVE. aflatoxinas; amendoim; produtos de amendoim; ocorrência.

* Realizado no Laboratório de Toxicologia (LATOX/UFBA) e no Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LARIC/UFMS-RS)

¹ Professora Adjunta (Laboratório de Toxicologia – Escola de Medicina Veterinária /UFBA).

² Mestranda da Escola de Medicina Veterinária/UFBA

³ Iniciação Científica e estagiária do LATOX/UFBA

⁴ Iniciação Científica e estagiária do LAMIC/UFMS

⁵ Professor Titular (Laboratório de Análises Micotoxicológicas – Universidade Federal de Santa Maria)

** Endereço para correspondência

Av. Ademar de Barros, 500, 40170-110, Ondina, Salvador-Bahia; e-mail: mjmb@ufba.br

INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos contaminados por micotoxinas pode causar doenças conhecidas como micotoxicoses em humanos e animais⁸. As micotoxinas são metabólitos tóxicos produzidos por fungos em uma grande variedade de substratos, quando existem condições favoráveis ao crescimento destes fungos, podendo ocorrer durante a colheita, armazenamento, processamento e transporte¹⁶. Diversos fatores tais como umidade e temperatura ambiental, teor de umidade e atividade de água do substrato favorecem o crescimento de fungos e a conseqüente produção de micotoxinas em produtos alimentícios^{13,19}.

Dentre os metabólitos fúngicos mais estudados destacam-se as aflatoxinas, produzidas por *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius* e *A. pseudotamarii*, sendo os dois primeiros referidos como de maior importância econômica⁵. Quatro tipos de aflatoxinas são mais frequentemente isolados: B₁, B₂, G₁ e G₂, considerando-se a aflatoxina B₁ como a de maior toxicidade e potente agente carcinogênico^{9,20}, além de produzir efeitos mutagênicos⁷.

Bautista et al.² examinaram 25 amostras de milho no município de Irecê-BA e detectaram contaminação por aflatoxina B₁ em três amostras. Considerando-se que a cidade de Salvador e regiões adjacentes apresentam condições climáticas favoráveis ao crescimento de fungos, com temperaturas elevadas (superior a 20°C) e umidade relativa do ar superior a 70%¹, associado à escassez de registros locais oficiais referente ao monitoramento de aflatoxinas em produtos alimentícios, o presente trabalho objetivou verificar a ocorrência de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ em amendoim e seus derivados comercializados na cidade de Salvador e alguns municípios do estado da Bahia durante o período de janeiro a outubro de 2002.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram analisadas 31 amostras de amendoim cru e 69 de produtos de amendoim (paçoca (6), pé-de-moleque (12), e outros como amendoim salgado, cozido, torrado e salgado, frito e salgado, confeitado, doce pralinê e tipo japonês (51). As amostras foram coletadas aleatoriamente de estabelecimentos comerciais localizados na cidade de Salvador (n=75) e de 14 municípios do estado da Bahia (n=25). As amostras tiveram um peso representativo de no mínimo 150g.

Métodos

1. Determinação de aflatoxinas

Extração

A extração e limpeza das amostras foram realizadas no Laboratório de Toxicologia da Escola de Medicina Veterinária da UFBA. A extração das aflatoxinas foi realizada utilizando-se

100 mL de acetonitrila:água (84:16, v/v) para 50 gramas de amostra, sob homogeneização em blender por três minutos, procedendo-se em seguida filtração e secagem de 10 mL do extrato obtido¹⁰. Os extratos secos foram acondicionados em frascos âmbar limpos, envolvidos em papel alumínio e enviados para análise no Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC) da Universidade Federal de Santa Maria.

Detecção e Quantificação

Os extratos enviados ao LAMIC foram ressuspensos em acetonitrila:água:ácido acético (840:160:5, v/v/v), e em seguida submetidos à purificação automatizada com sílicas, derivatização pré-coluna de 200µL do extrato purificado com 700µL de ácido trifluoracético e injeção de 50 µL em sistema de cromatografia líquida (CLAE). A fase móvel foi composta por água:acetonitrila:metanol (70:15:15, v/v/v) a uma vazão de 1mL/min., sendo empregada coluna RP18 (Merck, Darmstad, Alemanha), mantida a uma temperatura de 50°C. A detecção foi realizada por fluorescência a um comprimento de onda de excitação de 360nm e emissão a 445nm. O limite de quantificação para cada aflatoxina foi de 1µg/kg, e o coeficiente médio de recuperação variou de 93% a 97% para amendoim processado e amendoim cru, respectivamente. A confirmação da identidade das aflatoxinas foi procedida através de varredura espectral em 3D realizada pelo próprio equipamento de cromatografia¹⁰ (Agilent 1100, Agilent Technologies, Waldbronn, Alemanha).

2. Determinação da Atividade de Água (a_w)

A atividade de água (a_w) foi determinada instrumentalmente pelo aparelho AQUALAB (Decagon Devices Inc., Pullmann, USA)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para as amostras oriundas dos 14 municípios do estado da Bahia, indicaram um percentual de 80% (20/25) de amostras contaminadas por aflatoxinas (B₁+B₂+G₁+G₂), enquanto que aquelas procedentes da cidade de Salvador apresentaram um percentual menor, 50,7% (38/75) (Tabela 1). A diferença do número total de amostras provenientes de Salvador (75) e dos municípios (25) podem ter influenciado neste resultado.

Das 100 amostras analisadas, 58 continham aflatoxinas, sendo que 11 apresentaram contaminação pelas quatro aflatoxinas (AFB₁+AFB₂+AFG₁+AFG₂), 29 por apenas AFB₁, 16 por AFB₁+AFB₂ e duas por AFB₁+AFB₂+AFG₁. Observou-se ainda que em 23 amostras, os níveis de contaminação por aflatoxinas foram igual ou superior a 20 µg/kg, limite máximo permitido pelo Ministério da Saúde¹¹ (Figura 1), incluindo uma amostra de amendoim cru proveniente de um dos municípios do referido Estado, a qual apresentou contaminação de 6625 µg/kg de aflatoxinas, sendo 5450 µg/kg apenas de AFB₁.

A ocorrência de aflatoxinas nas amostras de amendoim e seus produtos foi maior para a aflatoxina B₁ em relação às demais toxinas (Figura 2), o que justifica preocupação quanto

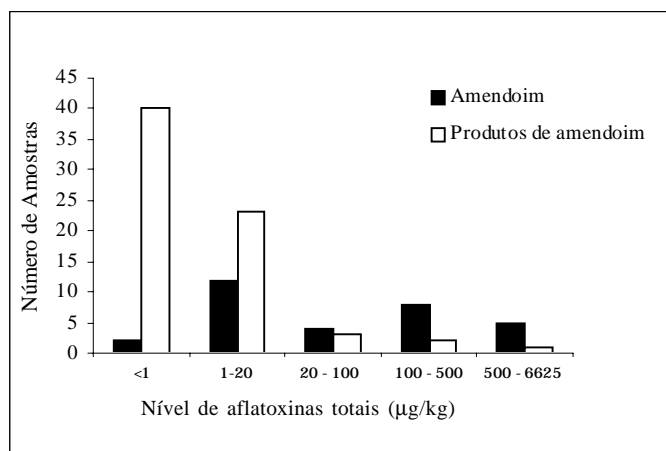


Figura 1. Variações dos níveis de aflatoxinas totais (µg/kg) em amostras de amendoim e de produtos de amendoim procedentes do estado da Bahia durante o ano de 2002.

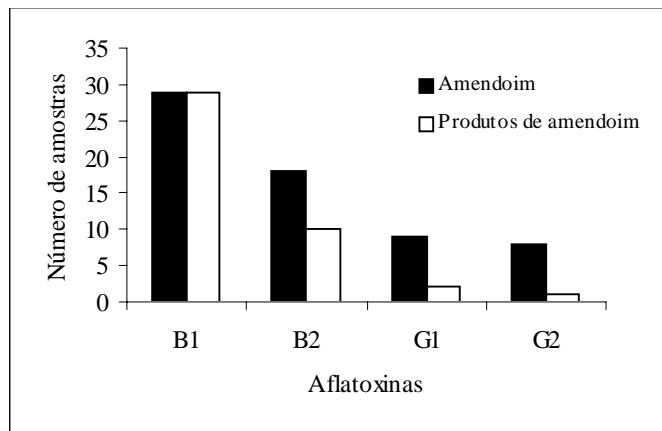


Figura 2. Distribuição qualitativa das aflatoxinas AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ em amostras de amendoim e seus produtos procedentes do estado da Bahia durante o ano de 2002.

Tabela 1. Incidência de aflatoxinas (B₁+B₂+G₁+G₂) em amendoim e produtos de amendoim comercializados no estado da Bahia no período de janeiro a outubro de 2002.

Tipos de Amostras	Amostras coletadas em Salvador		Amostras colhidas em municípios do Estado da Bahia	
	Total	Positivas*	Total	Positivas*
Amendoim ¹	17	15	14	14
Produtos de Amendoim ²	58	23	11	06
Total	75	38 (50,7%)	25	20 (80%)

¹ Amendoim cru.

² Amendoim confeitado, tipo japonês, pé de moleque, paçoquinha, frito e salgado, torrado e salgado, salgado, cozido e doce pralinê.

* Limite de quantificação = 1µg/Kg para cada aflatoxina

ao risco da ingestão frequente destes produtos, uma vez que esta toxina é considerada como um potente agente carcinogênico e pode representar um risco potencial à saúde pública. Este fato também foi verificado por outros pesquisadores^{4,12,15,17}.

De acordo com os nossos resultados, em relação à presença de aflatoxinas, 29 (93,55%) amostras de amendoim cru, e 29 (42,03%) de produtos de amendoim apresentaram-se positivas.

O maior percentual de contaminação por aflatoxinas foi observado no amendoim cru em relação aos produtos de amendoim. A atividade de água nas amostras de amendoim cru variou de 0,487 a 0,732, enquanto que para os produtos derivados, esta variação esteve entre 0,281 e 0,727, com valores médios de 0,606 e 0,419, respectivamente para o amendoim e seus produtos. A importância deste fato é fundamentada na premissa de que a atividade de água do substrato também é um fator relevante para a produção de micotoxinas¹⁴.

Relatos sobre a ocorrência de aflatoxinas em produtos brasileiros de amendoim revelaram um percentual de contaminação inferior aos níveis encontrados no total de amostras analisadas neste estudo (58%)^{3,4,6,17,18}.

Enfatizamos a necessidade de um programa de controle eficaz, através da vigilância constante dos níveis de aflatoxinas em alimentos no estado da Bahia, que sirva de orientação para os órgãos públicos no sentido de adotar medidas de controle e prevenção de riscos à saúde pública.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram a importância e a necessidade de um monitoramento sistemático e contínuo dos níveis de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados consumidos no estado da Bahia.

As aflatoxinas totais foram encontradas em 58% das amostras de amendoim e seus derivados, com 23% das amostras apresentando contaminação superior a 20 µg/kg, limite máximo permitido pelo Ministério da Saúde.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Dra. Myrna Sabino pela valiosa colaboração prestada na revisão deste artigo.

Batatinha, M. J. M. et al. - Occurrence of Aflatoxins in peanut and peanut products commercialized in the State of Bahia during the year 2002. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 62(3): 183 - 187, 2003.

ABSTRACT. The objective of this study was to evaluate the contamination of peanut and peanut products by aflatoxins (B_1 , B_2 , G_1 e G_2) commercialized in Salvador and some cities of the state of Bahia. It was analysed 100 samples, from which 33 were peanuts and 22 peanuts products. The samples were randomly collected in different groceries in Salvador (75) and from 14 different cities of the state of Bahia (25) from January to October 2002. The extraction of the samples was realized with acetonitrile:water (84:16, v/v), and quantification of the aflatoxins was made using the HPLC method with fluorescence detection. From the 33 samples of peanuts analysed, 31 (93,9%) were positive, and from these, 19 (57,58%) exhibited contamination by aflatoxins ($B_1+B_2+G_1+G_2$) higher or equal to $20\mu\text{g}/\text{kg}$. From the 67 samples of peanut products, only 4 (5,98%) presented contamination by aflatoxins ($B_1+B_2+G_1+G_2$) higher or equal to $20\mu\text{g}/\text{kg}$. According to the results, 20 (80%) of the whole samples (25) collected at the cities of the state of Bahia and 38 (50,7) of the 75 samples collected in Salvador were positive. The results indicate the great importance of a effective control of aflatoxin levels in these products.

KEY WORDS. aflatoxins, peanut, peanut products, occurrence.

REFERÊNCIAS

1. Anuário Estatístico da Bahia, SEI – Informação a Serviço da Sociedade. Salvador, Bahia, 13:1-570, 1999.
2. Bautista, A.R.P.L. et al. Aflatoxinas em grãos de milho armazenado no Estado da Bahia. **Rev. Soc. Bras. Toxicol.**, 2(1): 24-25, 1989.
3. Brigido, B.M.; Badolato, M.I.C.; Freitas, V.P.S. Contaminação de amendoim e seus produtos comercializados na região de Campinas/SP, por aflatoxinas durante o ano de 1994. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 55(2): 85-90, 1995.
4. Caldas, E.D.; Silva, S.C.; Oliveira, J.N. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. **Rev. Saúde Pública**, v. 36, n.3, p. 319-323, 2002.
5. CAST (Council for Agricultural Science and Technology). Mycotoxins: Risks in plants, animal and human systems. Cap. 3, **Task Force Report**, January, n. 139, Ames:Iowa:USA, 2003. 199p.
6. Colaço, W.; Ferraz, U.; Albuquerque, R.L. Incidência de aflatoxina em amendoim e produtos derivados consumidos na cidade de Recife no período de 1989 a 1991. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 54(1): 1-4, 1994.
7. Harris, C.C. Deichmann Lecture – p53 tumor suppressor gene at the crossroad of molecular carcinogenesis, molecular epidemiology and cancer risk assessment. **Toxicology Letters**, v. 82, n. 83, p.1-7, 1995.
8. Hussein, H.S.; Brase, J.M. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, n. 167, p.101-134, 2001.
9. IARC – **Monographs on the Evolution Carcinogenic Risk to Human**. Lyon, IARC – International Agency for Research on Cancer, Volume 56, 1993, p. 245-395.
10. Mallmann, C.A. et al., Automation of the analytical procedure for the simultaneous determination of aflatoxins AFB1, AFB2, AFG1 And AFG2. In **X International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins 2000**. Guarujá, São Paulo- Brasil. 21-25 may, p.35.
11. Ministério da Saúde: Resolução RDC nº 274, da ANVISA, de 15 de outubro de 2002, publicada no **Diário Oficial da União**, de 16/10/2002.
12. Oliveira, V. et al. Ocorrência de Aflatoxinas B1 e G1 em amendoim comercializado em Goiânia/GO, Brasil. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, 22(4): 319-22, 1991.
13. OMS (Organizacion Mundial de la Salud). Critérios de salud ambiental 11: Micotoxinas, 1983. 131p.
14. Prado, G. et al. Efeito da umidade relativa na contaminação microbiana e produção de aflatoxinas em amendoim em grão. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, 11:264-273, 1991.
15. Sabino, M. et al. Occurrence of aflatoxins in peanuts and peanut products consumed in the State of São Paulo/Brazil from 1995 to 1997. **Rev. Microbiol.**30: 85-88, 1999.
16. Sabino, M.; Rodriguez-Amaya, D.B. Mycotoxins research in Brazil. **Rev. Ciência e Cultura (Journal of Brazilian Association for Advancement of Science)**, 45 (6): 359-71, 1993.
17. 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. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 60(2): 153-157, 2001.
18. Silva, J.C.; Oliveira, J.N.; Caldas, E.D. Aflatoxinas em

- alimentos comercializados no Distrito Federal de 1985 a 1995. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 56(2): 49-52, 1996.
19. Smith, J.E. et al. Storage product ecology and mycotoxin formation. **Mycotoxins and Phycotoxins – Development in Chemistry, Toxicology and Food safety**, 1998, p.289-302. Editora Alaken, Inc.: Fort Collins, Colorado. 608p.
20. World Health Organization – **Mycotoxins – In: Environmental Health Criteria 11**, Geneve, WHO, 1979. p.127.

Recebido em 14/03/2003 ; Aprovado em 10/10/2003