

## AFLATOXINA EM AMEDOIM

**Conceição Batista da Silva**

Centro Universitário Padre Anchieta

**Jonh Dalton de Castro Martins**

Centro Universitário Padre Anchieta

[daltonmartins@bol.com.br](mailto:daltonmartins@bol.com.br)

### RESUMO

Em consequência do elevado número de animais mortos por ingerir alimentos contaminados por fungos, há a crescente consciência da possível presença de micotoxinas, especialmente as aflatoxinas, tanto nos alimentos de consumo humano quanto também dos animais, levando vários países a desenvolver pesquisas e adotar medidas que limitam a quantidade de micotoxinas nos alimentos e rações. Entretanto, tais normas pressupõem a possibilidade de se determinar com um alto grau de exatidão o teor de aflatoxina nos produtos analisados provenientes de grandes lotes. No Brasil, muitos estudos têm como tema identificar e combater quais fungos são capazes de produzir essa toxina, com o objetivo de desenvolver métodos eficazes no seu combate. Diante das pesquisas feitas no Brasil e em outros países, as espécies fúngicas mais encontradas em amostras de amendoim e derivados foram *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. Esses fungos têm a habilidade de se desenvolver em áreas de temperaturas elevadas e baixas umidades e contaminar um grande número de alimentos. Dessa forma, medidas com resultados significativos no combate e prevenção dessas espécies fúngicas e na remoção ou destruição física e química da aflatoxina têm sido desenvolvidas.

**Palavras - chave:** aflatoxina, *Aspergillus flavus*, micotoxinas.

### ABSTRACT

As a result of the high number of animals killed by ingesting food contaminated by fungi, there is an increasing awareness of the possible presence of mycotoxins, particularly aflatoxins, both in food for human and animal consumption, leading several countries to develop research and adopt measures that limit the amount of mycotoxins in food. However, these standards require the ability to determine with a high degree of accuracy the level of aflatoxin in products analyzed from large lots. In Brazil lots of studies aim to identify and combat which fungi are capable of producing this toxin, with the goal of developing effective methods to combat it. Given the research done in Brazil and other countries, the fungal species most commonly found in peanut samples and derivatives were *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. These fungi are usually developed in areas of low humidity and high temperatures and contaminate a large number of food. This way, measures with significant results in combating and

preventing these fungal species and the removal or physical and chemical destruction of aflatoxin have been taken.

**Keywords - Keywords:** aflatoxin, *Aspergillus flavus*, mycotoxins.

## INTRODUÇÃO

Os alimentos e os subprodutos no processo produtivo estão sujeitos à contaminação por substâncias altamente tóxicas, cuja ingestão é capaz de causar sérios transtornos ao organismo do homem e dos outros animais. Entre as diversas substâncias capazes de provocar problemas pela ingestão de alimentos contaminados estão os fungos, que se desenvolvem em condições favoráveis e são capazes de produzir substâncias tóxicas.

Essa substância pode provocar desde uma simples náusea, alucinações, dermatite, carcinomas até a morte. Muitos dos fungos que se desenvolvem nos alimentos produzem metabólicos tóxicos secundários, chamados micotoxinas, quando existem fatores biológicos e ambientais favoráveis (OGA, 2003). Esses fungos produzem substâncias biologicamente ativas dos quais as micotoxinas representam a maior parte, levando à micotoxicoses, consideradas um quadro clínico grave (SILVA et al, 2007).

Apesar de serem conhecidas centenas de micotoxinas, somente algumas delas têm sido estudadas visando à saúde da população humana e animal, porém, não se exclui a possibilidade de outras micotoxinas presentes no ambiente apresentarem riscos para a saúde humana (OGA, 2003). A gravidade das micotoxicoses depende da toxicidade da micotoxina produzida pelos fungos, do período exposição à toxina e o estado nutricional do indivíduo (FERREIRA et al, 2006). O contato humano com alimentos contaminados por micotoxinas é um dos grandes problemas da Saúde Pública (AMARAL et al, 2006).

As micotoxinas são capazes de induzir micotoxicoses que afetam os animais e o homem; os principais fungos implicados em casos de micotoxicoses pertencem aos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, mas existem também toxinas em outros gêneros (OGA, 2003; MOTOLA-KUBA et al 2006).

As micotoxinas estão presentes entre os homens desde a idade mais remota, tornaram-se mais conhecidas após o acidente econômico ocorrido na Inglaterra entre maio e agosto de 1960, quando perderam 100.000 peruzinhos afetadas com uma micotoxina. As aves afetadas morriam no intervalo de sete dias (OGA, 2003).

Os diferentes fungos produtores de micotoxinas são encontrados em todas as regiões do mundo e podem crescer em uma grande variedade de substratos e sob várias condições de umidade, pH e temperatura, assim os alimentos estão sujeitos à invasão por fungos e contaminação com micotoxinas no campo, durante e após a colheita, no processamento, no transporte e na estocagem, em condições deficientes de manuseio (OGA, 2003). Ações da Vigilância Sanitária são essenciais para monitorar os níveis de contaminação por micotoxinas em alimentos (BRANDO et al, 2007).

A deterioração de alimentos por fungos tem resultado em perdas de 5 a 20% da produção em países desenvolvidos, podendo atingir 50% em países em desenvolvimento, principalmente em regiões de clima tropical. Além dos problemas das perdas econômicas, o desenvolvimento de fungos está associado à possível produção de micotoxinas. Os riscos das micotoxinas, como as aflatoxinas, sendo a aflatoxina B1 a mais importante, induzirem neoplasias em humanos vem sendo investigados desde 1971, a partir destes estudos criou-se uma classificação numeral denominando os possíveis riscos carcinogênicos, nas quais enquadram-se: 1 – o agente ou mistura é carcinogênica para humanos; 2 – o agente é possivelmente neoplásico. (FERREIRA, 2009). Sendo classificado pela Internacional Agency for Research on Cancer (IARC), no Grupo 1: carcinogênica para seres humanos e ainda aponta que podem causar efeito hemorrágico ao homem (TRABULSI, 2008; GLÓRIA, 2006). Mesmo pequenas quantidades podem causar problemas de saúde em longo prazo (OLIVEIRA et al, 2007).

## **AMENDOIM**

### **Aspectos Gerais**

O amendoim, cientificamente designado *Árabes hypogaea* L., é uma leguminosa com processo especial de frutificação, em que a flor aérea após ser fecundada, produz fruto sob o solo. É uma planta de riquíssimo valor alimentar. Seus grãos contêm cerca de 50% de gordura e 22-30% de proteína. O amendoim tem a vantagem de poder ser consumido cru ou torrado, tornando-se um alimento disponível e adequado para qualquer situação tecnológica. No Brasil, destacam-se como regiões produtoras Ribeirão Preto e Marília, em São Paulo, onde o plantio de cultivares precoce permite duas épocas de cultivo: (1) amendoim das águas, semeadura realizada de setembro a outubro e colheita nos meses chuvosos (fevereiro – março); e (2) amendoim da seca, semeadura realizada no final de março e colheita nos meses secos (julho – agosto). É uma cultura de ciclo curto, cerca de 90-110 dias (FAGUNDES, 2002).

### **Aspectos Econômicos**

Dentre as principais oleaginosas cultivadas no Brasil e no mundo, destaca-se o amendoim com uma área plantada de aproximadamente 20 milhões de hectares. Na safra 2001/2002, a cultura do amendoim ficou em quarto lugar em produção, atrás da soja (56,8% do total da safra mundial). Nessa safra, o amendoim participou com 10,23% do total da safra mundial de oleaginosas, que foi de 33,11 milhões de toneladas.

Cerca de 60% é destinado ao esmagamento para extração de óleo comestível, responsável por 10% da produção mundial, sendo este o quinto óleo mais consumido com uma produção de 3,86 milhões de toneladas. O Brasil já se situou entre os sete primeiros países produtores de amendoim no contexto mundial, cujo principal produto comercializado era o óleo. No início dos anos 70, produzia-se tanto amendoim quanto soja, mas por ter colheita intensiva em mão de obra e ter apresentado sucessivos problemas de incidência de aflatoxinas, acabou sendo deslocado do mercado (MOTOLA – KUBA et al., 2006).

Países como a África Oriental têm enfrentado grandes obstáculos para a comercialização de seus produtos aos países desenvolvidos, devido à alta incidência de aflatoxinas (MUTEGI et al,2009).

### **Microbiota Fúngica de Amendoim**

Os fungos estão amplamente distribuídos no solo, plantas, matéria orgânica em decomposição, água, ar e poeira. Conseqüentemente, produtos não processados de origem animal e vegetal podem tornar-se contaminados com uma ampla variedade de espécies fúngicas dessas fontes. Sob condições favoráveis, os fungos podem crescer em diferentes tipos de alimentos (cereais, carne, leite, frutas, vegetais, grãos) e causar deterioração (FAGUNDES, 2002). Os grãos devem ser armazenados com um conteúdo de umidade inferior a 0,70 de atividade de água. Dessa forma, a deterioração fúngica torna-se de difícil ocorrência.

O crescimento fúngica em sementes e grãos armazenados pode provocar: diminuição do poder de germinação, redução na quantidade de carboidratos, proteínas, gordura, aumento no teor de umidade e de ácidos graxos livres e alteração da coloração de sabor e aroma, modificando a qualidade organoléptica dos alimentos. Tais alterações podem ocorrer antes, durante ou após colheita. Dessa forma, as alterações podem ser dividida em dois grupos, de acordo com o momento da contaminação: fungos do campo, que infectam o produto ainda no campo, e fungos de armazenamento, que invadem a semente antes e durante o armazenamento. Os fungos de campo requerem um teor de umidade em equilíbrio com uma umidade relativa de 90-100% para crescerem. Os principais gêneros são *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Nigrospora*, *Helminthosporium*, *Alternaria* e *Cladosporium*, que invadem grãos e sementes durante o amadurecimento. Os fungos de armazenamento (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor*) são encontrados em armazéns, depósitos e silos e necessitam de teores de umidade ao redor de 16%. Segundo Bueno et al. (2004), é possível identificar um terceiro grupo durante o armazenamento de cereais: os fungos de deterioração avançada (*Papulospora*, *Sordaria*, *Fusarium graminearum* e membros da ordem *Mucorales*), que podem estar misturados com os outros gêneros citados

anteriormente. Entratano, a fonte original dos fungos nas circunstâncias descritas é o campo.

No Brasil, em amostras de amendoim da região de Araraquara (São Paulo), espécies de *Aspergillus*, principalmente *Aspergillus flavus*, foram as mais isoladas. De 107 culturas isoladas, 102 foram identificadas como *A. flavus* (FONSECA et al., 1974).

### **Crescimento Fúngico e Produção de Micotoxinas**

A contaminação por micotoxinas em alimentos e derivados não configura um problema apenas de países pobres. A economia de muitos países é afetada por a ocorrência de micotoxinas por interferir ou impedir a exportação, reduzir a produção animal e agrícola e comprometer a saúde humana (LEUNG et al., 2006). A contaminação durante o armazenamento está associada aos fungos das espécies *Aspergillus* e *Penicillium*, enquanto que as espécies do gênero *Fusarium* podem contaminar com micotoxinas produzidas antes ou pós-colheita (KABAK et al., 2006).

A contaminação ocasionada por micotoxinas, em geral, não pode ser visualizada a olho nu. Sendo assim, os produtos uma vez contaminados seguem para comercialização, com a presença de compostos capazes de provocar enfermidades e muitas vezes levar à morte. Tal mecanismo resulta em uma exposição contínua a pequenas doses de micotoxinas, levando animais ou até mesmo seres humanos a desenvolver patologias crônicas ou toxicoses difusas (CALVO, 2005).

A hifa, estrutura básica dos fungos filamentosos, está capacitada a utilizar substratos sólidos através do crescimento superficial e penetração em seu interior. Os fungos são capazes de secretar enzimas, quebrar compostos macromoleculares complexos e utilizar os produtos dessas reações para o seu crescimento e metabolismo. Podem ainda absorver nutrientes de baixo peso molecular, os quais, obviamente, não estarão associados ao processo de metabolismo primário (CAST, 2003).

A exposição de micotoxinas aos seres humanos pode ocorrer de uma forma direta, através da ingestão de alimentos vegetais, e indiretamente através de alimentos de origem animal, quando os animais consomem rações contaminadas. Algumas micotoxinas podem provocar uma degeneração da capacidade funcional de rins e

fígado, enquanto outras são neurotoxinas ou afetam a síntese protéica, levando a uma variedade de efeitos que vão desde a sensibilidade ou necrose da pele até a uma extrema imunodeficiência (CAST, 2003; CUCCIOLONI, 2009).

Nesse contexto, é importante compreender que entre muitas micotoxinas conhecidas, 400 apresentam toxicidade. Cerca de vinte tem sido particularmente investigadas e somente 5 ou 6 são importantes do ponto de vista agrícola: as aflatoxinas (amendoim, milho), ocratoxina A (café), tolina (suco de maca), fumonisinas (milho), desoxinivalenol (trigo) e zearalenona (milho). Essa lista, embora curta, implica em um vasto conhecimento científico, por envolver inúmeros fungos produtores e alimentos de grande poder nutricional e econômico (CAST, 2003; FERREIRA et al 2009).

### **Fungos Produtores de Aflatoxinas**

As aflatoxinas representam a principal classe de micotoxinas e são produzidas por quatro espécies de fungos do gênero *Aspergillus*. Essas espécies são *A.flavus*, *A.parasiticus*, *A.nomius* e *A.pseudotamarii*. Dessas quatro espécies, apenas *A.flavus* e *A.parasiticus* são economicamente importantes. Esses fungos têm a habilidade de se desenvolver em áreas de temperaturas elevadas e baixas umidades e contaminar um grande número de alimentos (CAST, 2003). Os fungos *A.flavus* e *A.parasiticus* apresentam uma particular afinidade por grãos e sementes oleaginosas: amendoim, milho e algodão são as três mais importantes afetadas. Trabalhos mais antigos relatam que a produção de aflatoxinas está associada às condições inadequadas de secagem e armazenamento. Em seu trabalho, Brando (2007) descreve que a alta incidência de aflatoxinas nos amendoins encontrados no Brasil é decorrente das práticas de colheita, secagem e armazenamento; o aumento de umidade e temperatura promove o desenvolvimento do *Aspergillus* e a produção da aflatoxina, que se agravam no período chuvoso. Esses fungos são muito importantes por contaminarem vários produtos e produzirem a aflatoxina tanto na pré, como na pós-colheita (GONÇALVEZ et al,2008).

Realmente, esses fatores são certamente importantes na ocorrência das aflatoxinas em áreas úmidas e tropicais. Entretanto, em zonas temperadas, estudos mais recentes mostram que o estresse pela secura, o ataque de insetos e a umidade do solo estão associados à invasão fúngica e a produção de aflatoxinas antes da colheita. A

competição microbiana também e um fator que influencia a produção de aflatoxinas (CAST, 2003).

As aflatoxinas são um grupo de pelo menos 16 derivados bis-furano isocumarínicos, sendo as quatro principais naturalmente produzidas, as aflatoxinas B1, B2, G1 e G2. A aflatoxina B1, entre todas as aflatoxinas, é usualmente a toxina de maior ocorrência e concentração presente nos alimentos. A nomenclatura B e G e função das fluorescências de cor azul e verde, respectivamente, que são produzidas, quando essas toxinas, adsorvidas em placas de sílica gel 60G, são expostas a lâmpada de ultravioleta de comprimento de onda 366 nm (GONÇALVEZ et al ,2008; BRANDO, 2007).

### **Biossíntese de Aflatoxinas**

O caminho biossintético das aflatoxinas está praticamente entendido e tem sido descrito em uma série de artigos e revisões. Inicialmente, acetato e malonil CoA são convertidos em uma unidade de hexanoil CoA por um ácido graxo sintase, a qual é transformada por uma policetideo sintase a ácido norsolorinico, que é o primeiro precursor estável na biossíntese das aflatoxinas. O policetideo sofre então aproximadamente 12-17 conversões enzimáticas, levando a formação de versicolorina B. Segue-se então uma rota com a formação de versicolorina A, dimetil esterigmatocistina, esterigmatocistina, O-metilesterigmatocistina, aflatoxina B1 e aflatoxina G1 (SWEENEY & DUBSON, 1999).

### **Fatores que Afetam a Sobrevivência, Crescimento e Produção de Aflatoxinas por *Aspergillus***

O crescimento de fungos aflatoxigênicos é influenciado, entre outros fatores, pela atividade de água, temperatura, grãos quebrados, aeração, inoculo fúngico, interações microbianas e presença de insetos. Evitar o acúmulo de toxinas em grãos armazenados e semente oleaginosa depende primariamente do controle da umidade. Se o produto está muito seco para permitir qualquer crescimento fúngico, e permanece armazenada nessa condição, possivelmente nenhuma deterioração ocorrerá. Contudo, a presença de insetos e roedores pode levar a um aumento da umidade, com a consequente formação de micotoxina (CAST, 2003).



A contaminação com aflatoxinas no campo é muito difícil de controlar pois é influenciada primariamente por condições climáticas tais como: umidade relativa e temperatura. Umidade do solo, estresse pela secura, dano por inseto e deficiência na nutrição mineral são também fatores que podem gerar produtos contaminados, principalmente em áreas de clima temperado (SWEENEY & DUBSON, 1999).

Contudo, percebe-se que os altos níveis de contaminação com aflatoxinas estão associados com o crescimento pós-colheita de fungos (*Aspergillus*) e o armazenamento em condições inadequadas. Isso parece ser extremamente comum em países tropicais e subtropicais, com clima quente e úmido (CAST, 2003; FERREIRA et al 2009).

A atividade de água e a temperatura são os mais importantes fatores que controlam o crescimento fúngico e a produção de aflatoxinas pelo *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* em alimentos (CAST, 2003).

### **Metabolismo e Aspectos Toxicológicos das Aflatoxinas**

Aflatoxinas tem sido descritas como tendo atividade imunossupressora, mutagênica, teratogênica e hepatocarcinogênica (ATROSHI et al., 2002).

Micotoxicose e a doença resultante da exposição à micotoxina pela ingestão de rações e alimentos contaminados. Entretanto, outras fontes, tais como inalação, contato pela pele, devem ser consideradas. Na Croácia, foram isoladas, de pacientes com aspergiloma pulmonar (7 homens e 4 mulheres), 3 espécies de *Aspergillus fumigatus* e duas de *Aspergillus versicolor*. Aflatoxina B1 foi encontrada nos extratos de cultura de todas as espécies. Aflatoxina G1 foi produzida por duas das espécies de *A.fumigatus* e esterigmatocistina (precursor final da aflatoxina) nos dois extratos de *A. versicolor*. Sabe-se que a produção das toxinas não reflete necessariamente o que tais fungos podem produzir *in vivo*. Porém, os efeitos imunotóxicos, os quais favorecem infecções, não podem ser excluídos (PEPELJNJAK et al.,2004).

A intoxicação por aflatoxinas pode ser aguda ou crônica. Na aflatoxicose aguda, os sintomas incluem febre baixa, depressão, anorexia e diarreia, com degeneração gordurosa no fígado e necrose. A atividade das enzimas hepáticas pode ser interrompida, resultando em alterações do metabolismo de carboidratos, liquidez e

síntese de proteínas. A aflatoxicose crônica, como resultado da exposição de pequenas doses de aflatoxinas por um período longo de tempo, esta associada, em seres humanos, ao carcinoma hepatocelular (CAST, 2003).

A aflatoxina B1 foi classificada como carcinogênico tipo 1, sendo considerado um dos principais fatores de risco para carcinoma hepatocelular (HCC). O HCC é o quinto mais comum câncer no mundo, com uma estimativa de 473.000 novos casos anualmente.

Muitos pacientes sobrevivem menos de 1 ano após o diagnóstico. Na China, 235.000 novos casos dessa doença ocorrem anualmente, representando cerca de 50% do total mundial (CAST, 2003).

A aflatoxina, após ingestão, é absorvida no intestino e transportada ao fígado, onde é metabolizada. A excreção da aflatoxina B1 ocorre primariamente através das vias biliares e, em menor extensão, no trato urinário e no leite de animais em lactação, na forma de aflatoxinas M1, P1 e Q1 (PEPELJNJAK et al., 2004).

### **Prevenções da Contaminação por Aflatoxina em Amendoim**

Qualquer prática agrícola que aumente o desenvolvimento e qualidade da planta e diminua a infestação fúngica, contribuirá efetivamente para o decréscimo da contaminação por aflatoxinas em amendoim. Isso envolve:

- 1** - utilização de cultivos resistentes. Apesar de diversos trabalhos relatarem que alguns genótipos apresentam uma maior resistência a produção de aflatoxinas, não há disponibilidade deles comercialmente (PRADO et al., 1999);
- 2** - prevenção do estresse hídrico, a cultura deve ser conduzida em condições que evitem os períodos de estiagem prolongada porque estes provocam danos aos tecidos da casca e da película dos grãos, permitindo a entrada dos fungos do solo;
- 3** - execução da colheita no ponto ótimo de maturação, evitando danos mecânicos por onde os fungos podem penetrar. A colheita prematura aumenta a proporção de vagens e sementes imaturas e mal desenvolvidas, o que dificulta a secagem e favorece os fungos.

Nem elevada temperatura sozinha nem o estresse hídrico sozinhos causam contaminação por aflatoxina em grãos sãos e maduros (GODOY et al., 2001);

**4** - outros procedimentos como limpeza, controle de insetos e uso adequado de fungicidas são importantes para diminuir ou manter a aflatoxina em níveis mínimos de contaminação. O próprio controle bem feito das doenças das folhas promove a vigor das plantas nos esporões e nas vagens, previne a germinação precoce (porta de entrada para fungos) e reduz o acúmulo de folhas no solo (CAST, 2003; GODOY et al., 2001);

**5** - suplementação do solo com cálcio, na forma de sulfato de cálcio. A espessura da casca da semente do amendoim aumenta, ocasionando uma menor porcentagem de grãos infectados com *Aspergillus SP*, *Penicillium spp* e *Rhizopus spp* quando os grãos são secos no campo. Em lotes de sementes contaminadas com aflatoxinas, as maiores concentrações são encontradas entre as sementes enrugadas e mal desenvolvidas (GODOY et al., 2001; FERREIRA et al 2009);

**6** - aplicação no solo de espécies de *A.flavus* e *A.parasiticus* não aflatoxigênicos e capaz de reduzir a contaminação com aflatoxina em amendoim antes da colheita;

**7** - secagem do amendoim no campo ou utilizando secadores artificiais. São utilizados equipamentos com fluxo de ar quente (temperatura em torno de 35° C) e em posição estática. Movimentos de rotação podem romper as células dos grãos e provocar a oxidação do óleo, depreciando o produto. A secagem deve reduzir a umidade de 40-50% a 8%. Nessa condição a produção de aflatoxina não ocorre (GODOY et al., 2001).

### **Remoção ou Destruição Física e Química da Aflatoxina**

Segundo Cast, 2003, os procedimentos que são utilizados no controle da redução ou inativação das aflatoxinas em amendoim são:

**Métodos físicos de separação** - A separação mecânica dos grãos de amendoim considerados de alta possibilidade de apresentar níveis elevados de aflatoxinas, como grãos chochos, danificados, brotados e de coloração diferente, permite uma redução parcial dos teores de aflatoxinas;

**Calor** - Em virtude da estabilidade das aflatoxinas ao calor (decomposição varia de 237°C – 306°C), não há completa destruição pelo tratamento térmico;

**Extração por solventes** - As aflatoxinas podem ser extraídas eficientemente com esse processo, utilizando sistemas binários ou terciários, como etanol 95%, solução aquosa de acetona a 90%, isopropanol 80% e exato: etanol: água, em proporções iguais. Esse é um método eficiente e tem um efeito mínimo no conteúdo protéico e nutricional;

**Adsorção** - Alguns adsorventes em soluções aquosas podem se ligar as aflatoxinas, tornando-as não disponíveis durante a digestão. Substância como alumínio-silicato de sódio e cálcio hidratado, bentônica sódica natural, carvão ativado com partículas reduzidas, quando adicionadas aos alimentos e rações, tem a capacidade de sequestrar a toxina. Isso ocorre normalmente no intestino dos animais;

**Luz ultravioleta** - Aflatoxina B1 absorve radiação ultravioleta a 222, 265 e 362 nm, com a maior absorção ocorrendo a 362 nm. Essa irradiação ativa a aflatoxina B1 e aumenta a susceptibilidade para degradação. Contudo, experimentos laboratoriais indicaram limitações ao uso da radiação ultravioleta para degradar aflatoxinas;

**Ozônio (O<sub>3</sub>)** - É um gás estável, mas em ambiente aquoso apresenta uma meia vida de 20 minutos. Decompõe-se para formar oxigênio e pode ser classificado como agente químico não persistente. É um poderoso agente oxidante, que reage com a dupla ligação C<sub>8</sub>=C<sub>9</sub> do anel forano, através de um ataque eletrofílico;

**Amônio** - É considerado o processo de destruição de produtos contaminados com aflatoxinas mais prático e promissor. O tratamento envolve uso de gás amônia ou hidróxido de amônia (em alta pressão/alta temperatura) e provoca abertura do anel lactona da estrutura química da aflatoxina, particularmente quando o pH do meio é superior a 9,5. Esse processo é utilizado atualmente nos Estados Unidos, África do Sul, Brasil e México;

**Bissulfito** - É utilizado normalmente como conservante de alimentos, como bebidas, frutas e vegetais. Inibe escurecimento enzimático e não-enzimático e o crescimento de micro-organismos. O bisulfito de sódio pode reagir em dois sítios ativos da aflatoxina B1, provocando quebra do anel lactona ou adição no anel forano terminal.

### **Degradação Biológica de Micotoxinas**

Embora alguns métodos citados apresentem uma relativa eficiência no processo de descontaminação de alimentos com aflatoxinas, as limitações em função da eficácia, custo, perda de nutrientes e alterações das características organolépticas impõem novas e melhores soluções para o problema das micotoxinas em alimentos (BATA et al 1999).

A bactéria *Flavobacterium aurantiacum* tem sido extensivamente estudada e mostra uma alta capacidade de metabolizar a aflatoxina B1 em vários alimentos, como leite e pasta de amendoim. Entretanto, a brilhante pigmentação laranja associada a esta bactéria limita sua aplicação em alimentos e rações (BATA et al, 1999).

Entre os microrganismos que podem ser utilizados como agentes de controle biológico destacam-se as leveduras, em função de: habilidade de colonizar superfícies secas por um longo período de tempo; não formam esporos alergênicos e nem produzem toxinas; produzem polissacarídeos extracelulares que garantem sua sobrevivência e restringem os sítios de colonização dos fungos; usam nutrientes disponíveis para desenvolvimento, não sendo exigentes do ponto de vista nutricional; e são minimamente afetados por pesticidas (BATA et al, 1999).

### **Aflatoxina B1 e Neoplasias**

O processo de neoplasia, fundamentado em trabalhos experimentais, envolve duas fases distintas: a iniciação e a promoção de necrose celular. A fase de iniciação é resultante de alterações mutagênicas nas células, e a fase de promoção se relacionam com a expressão fenotípica de modificações ocorridas na primeira fase. Assim, as mutações determinadas pelas aflatoxinas representam alterações genéticas permanentes nas células afetadas, o que possibilita a iniciação do processo de neoplasia (LOPES et al., 2006; MOTOLA – KUBA et al., 2006).

A neoplasia hepática representa o mais importante efeito de toxicidade crônica das aflatoxinas. Tal capacidade tem sido demonstrada extensivamente, sobretudo em relação à aflatoxina B1, em muitas espécies animais, incluindo peixes, aves, roedores, carnívoros e primatas (LOPES et al., 2006). Nesses animais, a aflatoxina B1 induz a

formação de neoplasia hepatocelular, mesmo quando ingerida em quantidades muito baixas, o que permite considerá-la como um dos mais potentes hepatoneoplásicos naturais (COULOMBE, 1991).

No Brasil, apesar da legislação em vigor, a ocorrência de aflatoxinas tem sido observada com frequência, e em altos níveis, principalmente no Estado de São Paulo, em alimentos utilizados para consumo humano e animal, tais como, milho, amendoim e derivados (SABINO et al., 1989). A contaminação de derivados de amendoim, como paçocas e outros doces, assume destacada relevância em saúde pública, devido ao fato de crianças constituírem os principais consumidores desses produtos (BRUNO, 2000).

### **Legislação**

A legislação de alimentos tem a função de proteger a saúde dos consumidores e a capacidade econômica de produtores e comerciantes. A natureza nociva das aflatoxinas para humanos e animais tem provocado a necessidade de estabelecer limites de tolerância pelas autoridades nacionais e internacionais. A tendência é que as nações industrializadas estabeleçam níveis mais baixos que os países em desenvolvimento, onde a maior parte dos alimentos é produzida (REITER, 2009; FERNANDES, 2007).

Os países da União Europeia estabeleceram limites tão baixos quanto possível para proteger a saúde de seus consumidores. Estudos apontam a possível subestimação de doenças e mortes acometidas por aflatoxinas nos países subdesenvolvidos (VINEIS e XUN, 2009).

No Brasil, o Ministério da Saúde e a Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) estabelecia até 2002 um limite de 30 mcg/kg (Aflatoxina B1 + Aflatoxina G1) em alimentos de consumo humano, porém esse limite máximo foi modificado em outubro de 2002 pelo Ministério estabelecendo 20 mcg/kg de aflatoxinas totais ( $B^1 + B^2 + G^1 + G^2$ ) através da Resolução RDC nº 274 de 15/10/2002, determinado também pela Resolução GMC nº 56/94 MERCOSUL (KAWASHIMA, 2006; OLIVEIRA, 2007).

## CONCLUSÃO

Conclui-se, nesse estudo, que as boas práticas agrícolas, de transporte, de manufatura e de armazenagem continuam sendo a melhor forma de prevenir a contaminação de alimentos por aflatoxinas. Assim, estratégias e instrumentos legais, necessários na agricultura e na indústria de alimentos, podem assegurar a qualidade dos produtos de origem animal e vegetal.

A presença de aflatoxinas em alimentos, principalmente no amendoim e seus derivados, tem sido comprovada analiticamente em grande parte dos produtos avaliados, constatando-se que muitas vezes os níveis registrados estão acima do limite máximo estipulado pela legislação brasileira. A presença de aflatoxinas em concentrações inferiores a 20mg/kg não caracteriza toxicidade, porém o ideal é que os alimentos estejam isentos de micotoxinas, pois a frequente e prolongada ingestão de alimentos com baixas concentrações de aflatoxinas pode induzir a produção de células cancerígenas ou comprometer a imunidade.

## BIBLIOGRAFIA

AMARAL K.A.S; NASCIMENTO G.B; SEKIYAMA B.L; JANEIRO V.M.M.J. Aflatoxinas em produtos à base de milho comercializados no Brasil e riscos para a saúde humana. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 26, n. 2, jun. 2006.

ATROSHI, F.; RIZZO, A.; WESTERMARCK, T.; ALI-VEHMAS, T. Antioxidant nutrients and mycotoxins. Toxicology, Clare, v. 180, n. 2, p. 151-167, Nov. 2002.

BATA, A.; LASZTITY, R. Detoxication of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. Trends in Food Science & Technology, Oxford, v. 10, n. 6/7, p. 223-228, June/July 1999.

BRANDO E; GONÇALES L.N; TAMURA N.K; MACHINSKI M.J. Biomarcadores para avaliação da exposição humana a micotoxinas. J Bras Patol Med Lab - v. 43 2007.

BIEHL ML E BUCK WB. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. J. Food Protec. 1987; 50: 1058-73.

BRUNO RLA. Qualidade fisiológica e microflora de sementes de amendoim cv. Br-1 durante o armazenamento. Revista de Oleaginosas e Fibrosas, Campina Grande. 2000.

BUENO, D. J.; SILVA, J. O.; OLIVER, G. Fungal isolation and enumeration in foods. *Methods in Molecular Biological*, Oxford, v. 268, p. 127-132, 2004.

CALVO, A. M. Mycotoxins. In: DABROWSKI, W.A., SIKORSKI, Z.E. *Toxins in Food*. London: CRC Press, 2005.

CUCCIOLONI M; MOZZICAFREDDO M; BAROCCI S; CIUTI F; RE L; ELEUTERI AM; ANGELETTI M. Aflatoxin B1 misregulates the activity of serine proteases: possible implications in the toxicity of some mycotoxin. *Source: Toxicol In Vitro*; 2009.

COULOMBE RA. Aflatoxins. In: Sharma, R.P. & Salunkhe, D.K. *Mycotoxins and phytoalexins*. Boca Raton, CRC Press. 1991; 103-43.

COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY - CAST. *Mycotoxins: economics and health risks*. Ames, Iowa: Council for Agricultural Science and Tecnology, 2003.

FAGUNDES, M. H. Outubro de 2002. Sementes de amendoim: alguns comentários. Disponível em <http://www.conab.gov.br/>. Acesso em 08 de maio. 2014.

FERNANDES, A., C. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular; *Rev. Saúde Pública - São Paulo* 2007.

FERREIRA H; PITTNER E; SANCHES H.F; MONTEIRO M.C. Aflatoxinas: um risco a saúde humana e animal. *Ambiência - Revista do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais V. 2 n° 1 Jan/Jun. 2006*.

FERREIRA, H.; et al AFLATOXINAS: UM RISCO A SAÚDE HUMANA E ANIMAL, Mestrando, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, 2009.

FONSECA, H.; MARTINELLI, A.F.; DEL NERY, H.; RONCATTO, E. Espécies de *Aspergillus flavus* produtoras de aflatoxinas na região Araraquarense, São Paulo. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Piracicaba*, v. 31, p. 519-526, 1974.

GLORIA E.M. ET AL. Perfil da contaminação com aflatoxina entre embalagens de produtos de amendoim. *Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.26 no. 3 Campinas July/Sept. 2006*.

GONÇALVEZ E; SOUZA T.N; ROSSI M.H; FELICIO J.D; CORRÊA B. Avaliação da microflora e ocorrência de micotoxinas em cascas de amendoim em diferentes estágios de maturação da vagem. *Ciênc. agrotec., Lavras*, v. 32, n. 5, out. 2008 .

GODOY, I. J.; MORAES, S. A.; KASAI, F. S.; MINOTTI, D.; NOMI, A. K.; MAKIMOTO, P. *Prevenção da aflatoxina no amendoim*. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 2001. 22 p.

IARC – International Agency of Research on Cancer - *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Lyon: OMS, v. 82, 2002.



KABAK, B.; DOBSON, A.D.W.; VAR, I. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Cleveland, 2006.

KAWASHIMA L.M; SOARES L.M.V. Incidência de fumonisina B1, aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. Ciênc. Tecnol. Aliment. v.26 n.3 Campinas jul./set. 2006.

LEUNG, M. C. K.; DIAZ-LLANO, G.; SMITH, T. K. Mycotoxins in pet food: a review on worldwide prevalence and preventative strategies. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 2006.

LOPES PRS, Neto JR, Mallmann CA, Lazzari R, Pedron FA, Veiverberg CA. Crescimento e alterações no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados com dietas com aflatoxinas Pesq. agropec. bras. Brasília. out. 2006.

MOTOLA-KUBA D, Zamora-Valdes D, Uribe M, Mendez-Sanchez N. Hepatocellular carcinoma. An overview, Ann Hepatol. Jan-Mar 2006.

MUTEGI CK; NGUGI HK; HENDRIKS SL; JONES RB. Prevalence and factores associated with aflatoxin contamination of peanuts from Western Kenya, Int. J Food microbiol; 130 (1):27-34, Mar 15, 2009.

OGA, SEIZE Fundamentos de Toxicologia, São Paulo, editora Athenel, 2º Edição, 2003

OLIVEIRA, M.S. ET AL Incidência de Aflatoxinas, Desoxinivalenol e Zearalenona em produtos comercializados em cidades do estado de Minas Gerais no período de 1998 - 2000. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 61(1):1-6,2002.

OLIVEIRA C.A.F; GERMANO P.M.L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. Rev. Saúde Pública 31(4): 417-424 2007.

PRADO, G.; GODOY, I. J.; OLIVEIRA, M. S.; JUNQUEIRA, R. G.; GAZZINELLIMADEIRA, J. E. C. Efeito do ferro na biossíntese de aflatoxina B1 por *Aspergillus flavus* IMI 190443 após inoculação em dois genótipos de amendoim. Revista Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 57, n. 1, p. 35-39, jan./jun. 1998.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; GAZZINELLI-MADEIRA, J. E. C.; GODOY, I. J.; CORRÊA, B.; JUNQUEIRA, R. G.; FERREIRA, S. O. Resistência de quatro genótipos de amendoim à produção de aflatoxina B1 após inoculação com *Aspergillus flavus* Link. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.19, n.1, p. 84-87, jan./mar. 1999.

PEPELJNJAK, S.; SLOBODNJAK, Z.; SEGVIC, M.; PERAICA, M.; PAVLOVIC, M. The ability of fungal isolates from human lung aspergilloma to produce mycotoxins. Human Experimental Toxicology, London, v. 23, n. 1, p. 15-19, Jan. 2004.

QUEIROZ M.S.R; NARAIN N; FREIRE R.M.M; FARIAS S.R; SANTOS R.C. Determinação de aflatoxinas em sementes de amendoim, armazenadas em condições

ambiente e em câmara fria. Rev. bras. ol. fibros., Campina Grande, v.10, n. 1 /2, p. 1009-1015, jan./ago. 2006.

REITER E; ZENTEK J; RAZZAZI E. Review on sample preparation strategies and methods used for the analysis of aflatoxins in food and feed. Source:Mol Nutr Food Res;53(4):508-24, 2009 Apr.

SABINO, M.; ZORZETO, M. A. P.; PEDROSO, M. O.; MILANEZ, T. V. Incidência de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados consumidos na cidade de São Paulo, no período de 1980 a 1987. Revista Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 1989.

SWEENEY, M. J.; DOBSON, A. D. W. Molecular biology of mycotoxin biosynthesis. FEMS Microbiology Letters, Amsterdam, v. 175, n. 2, June 1999.

SILVA R.A; CHALFOUN S.M; SILVA M.A.M; PEREIRA M.C. Inquérito sobre o consumo de alimentos possíveis de contaminação por micotoxinas na ingestão alimentar de escolares da cidade de Lavras, MG. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 2, Apr. 2007.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. Fungos em alimentos: ocorrência e detecção. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2001.

TRABULSI L.R; ALTERTHUN F. Microbiologia. 5ª edição. In: Gompertz O.F.et al. Ed. Atheneu, São Paulo, 2008. Cap. 72, pág. 533 e 534.

VINEIS P; XUN W. The emerging epidemic of environmental cancers in developing countries. Source: Ann;20(2):205-12, 2009 Feb.