

# CONTAMINAÇÃO POR AFLATOXINAS E OCRATOXINA 'A' NOS ALIMENTOS CONSUMIDOS NO DISTRITO FEDERAL<sup>1</sup>

Eloisa Dutra Caldas<sup>2</sup>

Saulo Cardoso Silva<sup>3</sup>

João Nascimento de Oliveira<sup>4</sup>

Ana Virginie Degering<sup>5</sup>

CALDAS, E. D.; SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J. N.; DEGERING, A. V. Contaminação por aflatoxinas e ocratoxina A nos alimentos consumidos no Distrito Federal.

As micotoxinas aflatoxinas ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$  e  $G_2$ ) e ocratoxina A foram pesquisadas em 217 amostras de alimentos consumidos no Distrito Federal durante o período de janeiro de 1996 a junho de 1998. A ocratoxina A não foi detectada em nenhuma das amostras analisadas. Das 35 amostras que apresentaram contaminação por aflatoxinas (15,7%), 28 eram amostras de amendoim cru, 3 de produtos de amendoim e 4 amostras de feijão. Dentre as amostras positivas, 27 (77%) apresentaram teores de  $AFB_1 + AFG_1$  acima do limite máximo permitido pela Legislação Brasileira (30 µg/kg).  $AFB_2$  e/ou  $AFG_2$  foram detectadas em 26 amostras de amendoim e derivados, demonstrando a necessidade de se incluir essas micotoxinas na legislação brasileira para aflatoxinas em alimentos. Os resultados desse estudo indicam que ações mais efetivas devem ser tomadas de modo a prevenir a exposição do consumidor a alimentos contaminados por aflatoxinas.

**UNITERMS:** Aflatoxinas. Ocratoxina A. Alimentos. Amendoim.

## INTRODUÇÃO

Doll e Petto (1981) estimaram que aproximadamente 35% de toda mortalidade por câncer nos Estados Unidos está relacionada com a ingestão de substâncias cancerígenas através da dieta. Aflatoxinas são micotoxinas produzidas pelos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, contaminantes importantes de vários alimentos, como amendoim, milho, trigo e outros cereais. Aflatoxina  $B_1$  ( $AFB_1$ ) é considerada a substância natural mais tóxica que se conhece, possuindo LD<sub>50</sub> em animais (dose letal suficiente para matar 50% da população em estudo) entre 0,3 e 17,9 mg/kg peso corporal (OPAS, 1983).

A presença de  $AFB_1$  na dieta tem sido correlacionada com câncer hepático em vários países (Castregnaro e Wild, 1995). Ocratoxina A (OA) é produzida por várias cepas de *Aspergillus* e *Penicillium*, fungos que contaminam principalmente milho e cereais. A ocratoxina A é nefrotóxica e carcinogênica (Fink-Gremmels et al., 1995). O controle da contaminação de alimentos por micotoxinas se faz através do combate ao fungo no campo e utilização de condições adequadas de transporte, armazenamento e distribuição do produto (Fonseca, 1996).

O Brasil regula a presença de aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  ( $AFB_1 + AFG_1$ ) em alimentos desde 1976, com limite total máximo permitido em 30 µg/kg (Brasil, 1977). Porém, o fungo produz outras micotoxinas, denominadas  $AFB_2$  e  $AFG_2$ , cuja presença em alimentos também pode representar um fator de risco à saúde humana. Recentemente, o Grupo Mercado Comum (Mercosul), através da Resolução nº 56/94, estabeleceu limite máximo de 20 µg/kg para  $AFB_1 + AFB_2 + AFG_1 + AFG_2$ , valor comparável aos estabelecidos em outros países. Os órgãos de fiscalização de saúde, porém, ainda aguardam a internalização dessa resolução pelo Ministério da Saúde para que as ações fiscais possam ocorrer. Enquanto em vários países os níveis de tolerância de ocratoxina A em alimentos variam entre 1 e 50 µg/kg (van Egmont, 1991), a legislação brasileira ainda não prevê o controle dessa micotoxina no País.

O Laboratório de Micotoxinas do ISDF publicou recentemente dados dos níveis de  $AFB_1$  e  $AFG_1$  em alimentos comercializados no Distrito Federal desde o início das atividades do Laboratório, em 1985, até 1995 (Silva et al., 1996). O presente trabalho é um levantamento dos resultados obtidos pelo laboratório a partir de 1996, quando as micotoxinas  $AFB_2$ ,  $AFG_2$  e ocratoxina A passaram a ser investigadas.

1 Trabalho realizado no Laboratório de Micotoxinas da Gerência de Bromatologia e Química do ISDF.

2 PhD em Química Ambiental e Agrícola.

3 Bacharel em Química.

4 Técnico em Laboratório.

5 Técnico em Laboratório.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados solventes e reagentes grau P.A. e cromatofórios para cromatografia camada delgada (silica gel 60) marca Merck (E. Merck, Darmstadt). Padrões de aflatoxinas e ocratoxina A foram obtidos da Sigma Chemical Co. As amostras (de no mínimo 1 kg) foram coletadas pelo Departamento de Fiscalização e Saúde do DF no comércio local do Distrito Federal ou trazidas pela comunidade, durante o período de janeiro de 1996 a junho de 1998.

O método utilizado para análise das micotoxinas foi o descrito por Soares e Rodriguez-Amaya (1989). As micotoxinas são extraídas em clorofórmio e quantificadas após o desenvolvimento do cromatograma em tolueno:clorofórmio:acetato de etila:ácido fórmico 3,5:3,5:2,5:1,0 e comparação visual da intensidade da fluorescência da amostra com padrões de concentração conhecida. O limite de determinação do método foi estabelecido em 2 µg/kg para as aflatoxinas e 25 µg/kg para ocratoxina. A recuperação variou entre 100% e 107%. Todas as amostras positivas foram quantificadas em duplicata.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Laboratório de Micotoxinas do ISDF desenvolve rotineiramente junto ao Departamento de Fiscalização e Saúde (DpFS) dois programas anuais para controle dos níveis de aflatoxinas em alimentos. O programa do Natal se realiza durante os meses de outubro a dezembro e se concentra na coleta e análise de amostras de castanhas diversas, bastante consumidas nessa época do ano. Durante os meses de maio a julho, se realiza o programa de Festas Juninas, quando amostras de milho de pipoca, canjica e amendoim são coletadas e analisadas. Paralelamente a esses dois programas, amostras de amendoim cru são coletadas rotineiramente pelo DpFS e produtos diversos são encaminhados ao Laboratório por instituições, indústrias e consumidores em geral, como amostras de orientação.

Durante o período do estudo, o Laboratório participou também de dois programas nacionais coordenados pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, INCQS, da Fundação Oswaldo Cruz. O primeiro, ocorrido entre 1996 e 1997, analisou os níveis de aflatoxinas em produtos de amendoim e o segundo, iniciado em 1997 e ainda em andamento, avalia a contaminação de arroz parabolizado e integral por aflatoxinas e ocratoxina A.

**Tabela 1** — Aflatoxinas e ocratoxina A (µg/kg) em produtos comercializados no DF

Produto	Analizadas	AFB <sub>1</sub> (n)	AFB <sub>2</sub> (n)	AFG <sub>1</sub> (n)	AFG <sub>2</sub> (n)	OA
Amendoim cru	50	3,7 - 1060 (28)	2,6 - 266 (23)	2,0 - 1067 (24)	2,6 - 373 (20)	nd
Produtos de amendoim <sup>1</sup>	49	213 - 530 (3)	160 - 260 (3)	530 (1)	260 (1)	nd
Feijão	14	2,0 - 16,6 (4)	nd	7,7 - 17,1 (4)	nd	nd
Milho <sup>2</sup>	37	nd	nd	nd	nd	nd
Arroz <sup>3</sup>	25	nd	nd	nd	nd	nd
Trigo para quibe	9	nd	nd	nd	nd	nd
Castanhas <sup>4</sup>	23	nd	nd	nd	nd	nd
Ração	10	nd	nd	nd	nd	nd

<sup>1</sup> n = número de amostras positivas; nd = <2 µg/kg de aflatoxina e <25 µg/kg de OA; <sup>1</sup> confitado, salgado, doces e bala; <sup>2</sup> canjica e pipoca; <sup>3</sup> parabolizado e integral; <sup>4</sup> nozes, avelã, castanha de caju e castanha-do-pará.

No total, 217 amostras foram analisadas durante o período do estudo, entre amendoim e seus produtos, milho, ração, castanhas e cereais (Tabela 1). A ocratoxina A não foi detectada em nenhuma das amostras. Apenas amostras de amendoim cru, produtos de amendoim e feijão foram positivas e o amendoim cru apresentou os níveis mais elevados de aflatoxinas. Apesar de apenas 3 amostras de produtos de amendoim apresentarem contaminação por aflatoxinas (duas amostras de pé-de-moleque e uma de amendoim tipo Japonês), todas apresentaram níveis bem acima do limite máximo permitido (30 µg/kg). Das quatro amostras de feijão contaminadas, 3 apresentaram um forte cheiro de mofo, enquanto que amostras negativas não apresentaram nenhuma alteração nas características organolépticas.

Dentre as amostras de amendoim cru analisadas, 28 apresentaram contaminação por aflatoxinas (57%), das quais 24 apresentaram teores de

$\text{AFB}_1 + \text{AFB}_2$  acima do limite máximo permitido. Esses resultados confirmam os dados obtidos pelo Laboratório anteriormente (Silva et al., 1996) e por outros no País (Sabino e Rodriguez-Amaya, 1993) indicando esse produto como o mais crítico com relação à contaminação por aflatoxinas.

A presença de  $\text{AFB}_1$  e/ou  $\text{AFG}_2$  em 26 amostras de amendoim cru e produtos de amendoim em níveis bastante significativos (Tabela 1) indica que a exposição humana a essas toxinas pelo consumo de amendoim e seus produtos pode significar um fator de risco à saúde. A Internalização da legislação Mercosul pelo Ministério da Saúde, que prevê o controle dos níveis de  $\text{AFB}_2$  e  $\text{AFG}_2$  em alimentos, se faz, então, necessária, para que ações fiscais possam ser desencadeadas.

A Tabela 2 mostra as marcas de amendoim cru que foram pesquisadas pelo Laboratório. Dentre as 18 marcas analisadas, 13 tiveram uma ou mais amostras condenadas por apresentarem níveis de aflatoxinas acima do limite máximo permitido.

**Tabela 2 — Amendoins crus analisados pelo Laboratório de Micotoxinas**

Marca	Analisisadas	Condenadas (> 30 µg/kg)	Marca	Analisisadas	Condenadas (> 30 µg/kg)
Ubon	7	4	Yorki	3	0
Nippon	7	3	Zaeli	2	0
Rei	5	4	Chaves	1	1
Mara	5	2	Maitá	1	1
Tia Lilita	3	3	Temper	1	1
Lider	3	2	Tomil	1	1
Super grão	3	1	Hikari	1	0
Coral	3	1	Ariela	1	0
Paulista	2	2	Davante	1	0

**Total de Marcas: 18**

**Total de amostras condenadas: 24**

Quando o laboratório emite um laudo condenatório, o Departamento de Fiscalização notifica o estabelecimento comercial onde a amostra foi coletada, o qual repassa a notificação para a indústria produtora do alimento. A indústria tem um prazo de 10 dias, depois de receber a notificação, para contestar o resultado do laudo, solicitando análise de contraprova. Dentre as 24 amostras de amendoim cru condenadas pelo Laboratório, apenas 4 tiveram pedido de contraprova. Este fato, aliado ao dado de que 7 dentre as 18 marcas pesquisadas tiveram seus produtos condenados mais de uma vez (Tabela 2), demonstram que muitas indústrias estão cientes da qualidade do seu produto

quanto ao nível de aflatoxina, mas não desenvolvem um programa de qualidade interno adequado visando à garantia da qualidade dos produtos que oferecem ao consumidor. O processo fiscal completo, desde a coleta da amostra até a análise de contraprova pode durar até três meses, ao final dos quais, na maioria das vezes, o lote do produto condenado já foi totalmente comercializado. Nesse sentido, a implementação de ações fiscais de vigilância sanitária com apreensão do lote do produto em análise, deverá ser colocada em prática pelo Departamento de Fiscalização, com o objetivo de diminuir a disponibilidade aos consumidores de alimentos contaminados por aflatoxinas.

CALDAS, E. D.; SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J. N.; DEGERING, A. V. Aflatoxins and ochratoxin A contamination in food consumed in the Federal District.  
Aflatoxins ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$  and  $G_2$ ) and ochratoxin A were analysed in 217 food samples commercialized in the Federal District from January 1996 to June 1998. None of the samples analyzed had detectable levels of ochratoxin A. From the 35 samples found to be contaminated by aflatoxins, 28 samples were raw peanut, 3 peanut product e 4 bread. Twenty seven samples (77% of the positive samples) had levels of  $AFB_1 + AFG_1$  above the maximum allowed level established by the Brazilian legislation (30 µg/kg). The levels of aflatoxins varied between 3.7 and 1060  $AFB_1$ ; 2.6 and 266 µg/kg  $AFB_2$ ; 2.0 and 1067 µg/kg  $AFG_1$ ; and 2.6 and 373 µg/kg  $AFG_2$ . The presence of  $AFB_2$  and/or  $AFG_2$  in 26 samples confirms the need to include these mycotoxins in the Brazilian legislation for aflatoxins in food. The results found in this study indicate that more effective actions should be taken to prevent the consumer to be exposed to aflatoxin contaminated food.

**KEY WORDS:** Aflatoxins. Ochratoxin A. Peanuts. Peanut products. Food.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Leis, Decretos, etc. — Resolução nº 34/76 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 19 de janeiro 1977. Sec. I pt. I, p. 710.
- CASTREGNARO, M. e WILD, C. P. IARC activities in mycotoxin research. *Natural Toxins*, v. 3, p. 327-331, 1995.
- DOLL, R.; PETO, R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 66, p. 1191-1308, 1981.
- FINK-GREMMELS, J.; JAHN, A.; BLOM, M. J. Toxicity and metabolism of ochratoxin A. *Natural Toxins*, v. 3, p. 214-220, 1995.
- FONSECA, H. Prevenção e controle da contaminação por micotoxinas no pré e no pós-colheita. In: *A Importância do Monitoramento dos Níveis de Contaminação dos Alimentos por Micotoxinas*. Seminário promovido pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento, Brasília, setembro 1996.
- OPAS. *Criterios de Salud Ambiental 11. Micotoxinas*. Organización Panamericana de La Salud, Washington, DC, 1983. p. 11-83
- SABINO, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Mycotoxin research in Brazil. *Ciência e Cultura*, v. 45, p. 359-571, 1993.
- SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J. N. e CALDAS, E. D. Aflatoxinas em alimentos comercializados no Distrito Federal de 1985 a 1995. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 56, p. 47-52, 1996.
- SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone, and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 72, p. 22-26, 1989.
- VAN EGMOND, H. P. Worldwide regulations for ochratoxin A. In: *Micotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumors*. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1991. p. 331-336.