

**CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO  
TECNOLÓGICA PAULA SOUZA**

**FACULDADE DE TECNOLOGIA DE MARÍLIA ESTUDANTE RAFAEL  
ALMEIDA CAMARINHA**

**CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**FELIPE KAUÊ DE LIMA ANDRÉ  
GEOVANA FERNANDES ALVES**

**IDENTIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS EM PAÇOCAS DE AMENDOIM  
COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE MARÍLIA-SP**

**Marília/SP**

# **CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA**

**FACULDADE DE TECNOLOGIA DE MARÍLIA ESTUDANTE RAFAEL  
ALMEIDA CAMARINHA**

**CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**FELIPE KAUÊ DE LIMA ANDRÉ  
GEOVANA FERNANDES ALVES**

**IDENTIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS EM PAÇOCAS DE AMENDOIM  
COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE MARÍLIA-SP**

Trabalho de Conclusão de Curso em  
Tecnologia de Alimentos da Faculdade de  
Tecnologia de Marília “FATEC – Estudante  
Rafael Almeida Camarinha”.

Orientador: Prof. Dra. Alda Maria M. B.  
Otoboni

**Marília/SP  
1º semestre/ 2021**

## RESUMO

A contaminação de alimentos por aflatoxinas é uma preocupação de saúde pública, visto o potencial de toxidez em humanos e animais. Conhecidas por causarem efeitos adversos agudos ou crônicos, como o desenvolvimento de câncer hepático. Este trabalho determinou a ocorrência de Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em amostras de paçocas de amendoim comercializadas em diferentes pontos na cidade de Marília, SP, em 2021. O estudo foi realizado em seis amostras de paçocas, sendo três amostras industrializadas e três artesanais e a amostragem realizada em triplicata. Não foram encontradas aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2) nas amostras de paçocas industrializadas. Duas das três amostras caseiras apresentaram contaminação por Aflatoxinas, entre 1,35 e 6,16  $\mu\text{g kg}$ , sendo que os maiores índices foram detectados nas Aflatoxinas B1. Entretanto, todas as amostras analisadas estão em conformidade com a Resolução 487 de 26 de março de 2021 e Instrução Normativa N° 8 de 26 de março de 2021, apresentando resultados menores que 20  $\mu\text{g kg}$ .

**Palavras chave:** Aflatoxina; Amendoim; Anvisa; Aspergillus; Controle; Cromatografia; Paçoca; Toxinas.

## ABSTRACT

Food contamination by aflatoxins is a public health concern, given the potential for toxicity in humans and animals. Known to cause acute or chronic adverse effects, such as the development of liver cancer. This study determined the occurrence of Aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in samples of peanut paçocas commercialized at different points in the city of Marília, SP, in 2021. The study was carried out in six samples of paçocas, three industrialized and three artisanal samples and the sampling performed in triplicate. No aflatoxins (B1, B2, G1 and G2) were found in the samples of industrialized paçocas. Two of the three homemade samples presented contamination by Aflatoxins, between 1.35 and 6.16  $\mu\text{g kg}$ , and the highest indices were detected in Aflatoxins B1. However, all samples analyzed comply with Resolution 487 of March 26, 2021 and Normative Instruction No. 8 of March 26, 2021, presenting results lower than 20  $\mu\text{g kg}$ .

**Key words:** Aflatoxin; peanut candy; toxins; peanut; chromatography; control; Anvisa; Aspergillus.

# SUMÁRIO

## Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	4
2	MATERIAL E MÉTODOS .....	6
2.1	QUANTIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS .....	6
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	7
4	CONCLUSÃO.....	9

## 1 INTRODUÇÃO

A Paçoca é um alimento processado, sendo uma comida tradicionalmente brasileira. Na região Nordeste, é um prato típico de festas juninas, constituindo um dos mais populares derivados do amendoim. Outros ingredientes, como farinha de trigo, fubá, açúcar, mel e gordura, também participam de sua formulação. O processamento para a obtenção da paçoca é realizado com a homogeneização dos ingredientes, moendo e torrando o amendoim, e em seguida passado para a moldagem e prensagem (RIBEIRO, 2006).

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) também pode ser consumido de diversas formas, destacando-se os alimentos semiprocessados e processados, tais como: amendoim de chocolate, amendoim colorido, pé-de-moleque e pasta. O grão faz parte do grupo das oleaginosas e provém da América do Sul. Sua classificação deriva do Reino Plantae; Divisão Magnoliophyta; Classe Magnoliopsida; Ordem Fabales; Família Fabaceae; Subfamília Faboideae; Gênero *Arachis* e Espécie *A. hypogaea* (SOUZA, 2008).

Atualmente o Brasil é o segundo maior produtor e exportador de amendoim da América Latina, com 466 mil toneladas, sendo que o estado de São Paulo concentra mais de 90% da produção nacional (EMBRAPA, 2019).

O clima quente e úmido no Brasil dificulta que os produtores mantenham a qualidade dos grãos do amendoim, visto que os fungos do gênero *Aspergillus*, principalmente das espécies *A. flavus* e *A. parasiticus*, se desenvolvem naturalmente em temperaturas acima de 25°C e umidade relativa acima de 80% (NORDIN, 1995; SHUNDO et al., 2003). Neste sentido, torna-se fundamental o conhecimento do comportamento destes fungos e das condições de temperatura. É necessário que o amendoim permaneça em local seco, ventilado e protegido de umidade, pois grande parte da contaminação vem de falhas decorrentes no armazenamento.

As principais toxinas de interesse designadas são as Aflatoxinas, que podem causar danos à saúde dos humanos e animais, pois a ingestão de produtos alimentícios contaminados, pode resultar em efeitos adversos agudos ou crônicos. (BENNETT et al. 2003), como o desenvolvimento de câncer hepático (IARC, 1993).

Entre os mais de 20 tipos conhecidos de Aflatoxinas, destaca-se a B1, B2, G1 e G2, sendo que a B1 é geralmente predominante e mais tóxica (EATON & GROOPMAN, 1994; ROCHA et al., 2008).

Para a quantificação das toxinas, podem ser aplicados métodos simples como o Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ou métodos mais sofisticados como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Em virtude das características de precisão e alta sensibilidade, a CLAE com detecção por fluorescência é a mais apropriada para a determinação e quantificação desses compostos (I. HUSSAIN, 2011). As identificações são dadas de acordo com a cor da fluorescência, em B (blue-azul) ou G (green-verde). (ROCHA et al., 2008).

Foi reestabelecido no dia 03 de maio de 2021 (Resolução 487 de 26 de Março de 2021 e Instrução Normativa N° 8 de 26 de Março de 2021), uma nova legislação que dispõe os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos para Micotoxinas, sendo de 20 ug/kg para amendoim e derivados.

Devido aos fatores prejudiciais à saúde, torna-se importante a quantificação das Aflatoxinas nos amendoins e derivados, garantindo a qualidade dos produtos e conformidade com a legislação. Nessa perspectiva, o presente trabalho teve como objetivo identificar presença de Aflatoxinas (B1, B2, G1, G2) por CLAE, em paçocas de amendoim comercializadas na cidade de Marília – São Paulo, Brasil, realizando o comparativo entre paçocas caseiras e paçocas industrializadas.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado em seis amostras de paçocas comercializadas em diferentes pontos na cidade de Marília-São Paulo, Brasil, sendo três amostras de paçocas industrializadas e três artesanais. A amostragem foi realizada em triplicata, e os ensaios executados no Laboratório JLA Brasil Laboratório de Análises de Alimentos - Unidade Marília no mês de março de 2021.

### **2.1 QUANTIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS**

As amostras de paçoca foram trituradas e homogeneizadas em liquidificador. Em seguida, foram adicionados 125mL de solução extratora metanol:água (70:30) em 25 g de amostras e o processo de extração das aflatoxinas foi realizado por coluna de imunoafinidade, com a adição de 2mL de metanol (grau HPLC) ao final do processo. Na sequência, os extratos foram submetidos à Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando fator de diluição 2. Foi utilizada uma fase móvel polar, composta por metanol, água, acetonitrila, ácido nítrico e brometo de potássio, coluna cromatográfica C18 (150mm x 4.6um), com a injeção de 2mL de amostra. O tempo de análise da corrida foi de aproximadamente 17 minutos.



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da determinação das Aflatoxinas AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 por CLAE nas amostras de paçocas industrializadas e artesanais estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Resultados da determinação de Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 por CLAE em paçocas industrializadas em Marília-SP.

		Aflatoxinas (em µg/kg)				
	Repetições	Aflatoxinas B1	Aflatoxinas B2	Aflatoxinas G1	Aflatoxinas G2	Aflatoxinas Totais
Amostra industrializada A	Primeira	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
	Segunda	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
	Terceira	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Amostra industrializada B	Primeira	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
	Segunda	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
	Terceira	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Amostra industrializada C	Primeira	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
	Segunda	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
	Terceira	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ

Fonte: Dados obtidos do laboratório de análises JLA Brasil.

LQM (Limite Quantificação do Método) G2= 0,3ppb, G1= 0,3ppb, B2= 0,7ppb, B1= 1,1ppb. Os resultados menores que o LQM estão expressos como NQ (Não Quantificável).

Tabela 2. Resultados da determinação de Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 por CLAE em paçocas caseiras em Marília-SP.

		Aflatoxinas (em µg/kg)				
	Repetições	Aflatoxinas B1	Aflatoxinas B2	Aflatoxinas G1	Aflatoxinas G2	Aflatoxinas Totais
Amostra caseira A	Primeira	5,27	0,81	0,40	NQ	6,48
	Segunda	5,72	0,96	0,40	NQ	7,08
	Terceira	6,16	0,90	0,44	NQ	7,50
Amostra caseira B	Primeira	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
	Segunda	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
	Terceira	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Amostra caseira C	Primeira	1,75	NQ	NQ	NQ	1,75
	Segunda	1,60	NQ	NQ	NQ	1,60
	Terceira	1,35	NQ	NQ	NQ	1,35

Fonte: Dados obtidos do laboratório de análises JLA Brasil.

LQM (Limite Quantificação do Método) G2= 0,3ppb, G1= 0,3ppb, B2= 0,7ppb, B1= 1,1ppb. Os resultados menores que o LQM estão expressos como NQ (Não Quantificável).

De acordo com as Tabelas 1 e 2, observou-se que as seis amostras de paçocas de amendoins comercializadas no município de Marília-SP, não ultrapassaram o limite permitido no Brasil (20µg/kg), estando em conformidade com a Instrução Normativa N° 8 de 26 de março de 2021. No entanto, as amostras artesanais número 1 e 3, apresentaram resultados de Aflatoxinas B1, entre 1,35 e 6,16 µg kg, sendo considerada uma das substâncias carcinogênicas mais conhecidas e uma das mais isoladas dos alimentos contaminados.

O Programa Pró-amendoim, vem estimulando a cadeia produtiva, na obtenção de alimentos em conformidade com os limites estabelecidos no Brasil, cujo objetivo é monitorar a segurança alimentar dos produtos derivados do amendoim. O programa conta com o selo Qualidade Certificada Pró-Amendoim ABICAB, que certifica as empresas que atendem aos requisitos da legislação de boas práticas de fabricação e produzem produtos à base de amendoim totalmente seguros.

Em 2001, Santos et al. analisaram 48 amostras de paçocas de amendoim comercializados na região de São José do Rio Preto/SP, as aflatoxinas B1 e G1 foram separadas usando a técnica de cromatografia em camada delgada e a identidade das

aflatoxinas foram determinados conforme as técnicas descritas pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC–970.44 49.2.02). Foram detectadas aflatoxinas em 9,0% das amostras analisadas.

Em um estudo realizado por Divino em 2008, foi verificado que 13% das 15 amostras analisadas apresentaram contaminação por Aflatoxinas, numa faixa de 18-29  $\mu\text{g kg}$  para B1 e 26  $\mu\text{g kg}$  na somatória de B1, B2, G1 e G2. Os ensaios foram efetuados na cidade de Alfenas-MG, através do método cromatografia em camada delgada (CCD) com prévia extração líquido-líquido do analito.

Silva et al. em 2013 analisaram 47 amostras de paçocas, obtidas no período de 2002 a 2009. As amostras foram analisadas por cromatografia em camada delgada. Oito amostras de paçocas apresentaram resultados de Aflatoxinas entre 6-400  $\mu\text{g kg}$ .

Um estudo realizado na região de Porto Alegre/RS, mostrou que cerca de 60% % das amostras de paçoca apresentaram contaminação de aflatoxinas entre 1,5 a 3,7  $\mu\text{g kg}$ . Os resultados também demonstraram que a aflatoxina B1 teve maior incidência e chegou a limites mais elevados comparados com as demais.

Levando em consideração o grau de risco a saúde que a contaminação de Aflatoxinas possui, é de extrema importância o devido monitoramento pelos órgãos competentes em vigilância sanitária para a segurança de seus consumidores. 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.

## **4 CONCLUSÃO**

Os resultados demonstraram que as amostras de paçocas industrializadas não apresentaram aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2), indicando a preocupação das indústrias em se enquadrarem na legislação vigente. Duas de três amostras de paçocas caseiras analisadas, apresentaram contaminação por Aflatoxinas B1 e totais variando entre 1,35 e 7,50  $\mu\text{g/ kg}$ , sendo que os maiores índices foram detectados nas Aflatoxinas B1 de 6,16  $\mu\text{g/kg}$ .

Verificou-se, entretanto, que todas as amostras analisadas estão em conformidade com a Resolução 487 de 26 de março de 2021 de Março de 2021.

## REFERÊNCIAS

- BENNETT, J. W.; KLICH, M. **Mycotoxins**. Clin. Microbiol. Rev., v. 16, n. 3, p. 497-515, 2003.
- BORGES, G. G.; CABRAL, L. C.; WANG, S. H.. **Utilização do resíduo do leite de soja na elaboração de paçoca**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília- DF, 1999.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução de diretoria colegiada - RDC No 7. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos**. 2011. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007\\_18\\_02\\_2011\\_rep.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007_18_02_2011_rep.html)>. Acesso em: 12 set. 2020.
- CARVALHO P R N, SYLOS C M, RODRIGUEZ-AMAYA D B. **Occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products commercialized in Campinas, Brazil**. Food Addit Contamin. 1996;13(2):169-72.
- EATON D L, GROOPMAN J D. **The toxicology of aflatoxins: human health, veterinary and agricultural significance**. San Diego (CA): Academic Press; 1994.
- EMBRAPA. **Estudo mapeia áreas de produção de amendoim do Brasil para prevenir doença do carvão**. Brasília, DF: Edna Santos, 22 jan. 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/40697528/estudo-mapeia-areas-de-producao-de-amendoim-do-brasil-para-prevenir-doenca-do-carvao>>. Acesso em: 12 set. 2020.
- EMBRAPA. **Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura do Amendoim**. Brasília, DF: CampoPAS, 2004.
- IARC – **Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Human Health**. Lyon, IARC – International Agency for Research on Cancer, Volume 56, 1993, p.245-395.
- I. HUSSAIN, **Aflatoxin measurement and analysis**. In: I. Torres Pacheco. Aflatoxins – detection, measurement and control, Rijeka, Ed. Intech, 2011.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Some traditional herbal medicine, some mycotoxins and styrene**. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, 2002.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 88, de 26 de Março de 2021**. Estabelece os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos. Diário Oficial da União, edição 61, seção 1, p. 226, 31 mar. 2021. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-88-de-26-de-marco-de-2021-311655598>>. Acesso em: 19 maio 2021.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Resolução RDC Nº 487, de 26 de Março de 2021**. Dispõe sobre os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos, os princípios gerais para o seu estabelecimento e os métodos de análise para fins de avaliação de conformidade. Diário Oficial da União, edição 61, seção 1, p. 225, 31 mar. 2021. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-487-de-26-de-marco-de-2021-311593455>>. Acesso em: 19 maio 2021.
- NORDIN, N. S. D. 1995. **Detecção de aflatoxinas e zearalenona em milho (Zea**

**mays), destinado à alimentação animal.** Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 98p.

PRADO, G. et al. **Efeito da umidade relativa na contaminação microbiana e produção de aflatoxinas em amendoim em grão.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 11, n. 2, p. 264-273, 1991.

ROCHA M D, MAIA P P, RODRIGUES M A C, MARTINS I. **Incidência de aflatoxinas em amostras de amendoim e paçoca comercializadas na cidade de Alfenas-MG, Brasil.** Rev Bras Toxicol. 2008;1:15 -9.

RIBEIRO, V. A. **Aproveitamento do resíduo do extrato de soja na elaboração de um produto tipo paçoca.** Dissertação (Mestrado Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras- UFV, Lavras- MG, 2006.

SABINO, M.; SHUNDO, L.; SILVA, R. A.. **Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de Marília – SP, Brasil no período de 1999-2001.** Rev. Inst. Adolfo Lutz, 62(3):177-181, 2003.

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.

SHUNDO, L.; SILVA, R. A.; SABINO, M. **Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de Marília – SP, Brasil no período de 1999-2001.** Rev. Inst. Adolfo Lutz, v. 62, n. 3, p. 177-181, 2003.

SILVA, R. A.; YAMAMOTO, I. T.; FERREIRA, L. O.; MARQUES, L. R. M. **Aflatoxinas em amostras de amendoim cru e derivados.** Alim. Nutr.= Braz. J. Food Nutr., Araraquara, v. 24, n. 1, p. 61-64, jan./mar. 2013.

SOUZA V. C.; LORENZI H. **Botânica sistemática:** guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira. Plantarum, Nova Odessa, 2008.

DIVINO, M. et al; **Incidência de aflatoxinas em amostras de amendoim e paçoca comercializadas na cidade de Alfenas-MG, Brasil.** Revista Brasileira de Toxicologia 21, n.1 (2008) 15 – 19.