

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

Determinação de aflatoxinas e estudo de perfil de consumo em doce derivado de amendoim “paçoca” na alimentação adulta e infantil na cidade do Rio de Janeiro

WILSON JOSÉ FERNANDES LEMOS JUNIOR

2013



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**Determinação de aflatoxinas e estudo de perfil de consumo em doce
derivado de amendoim “paçoca” na alimentação adulta e infantil na
cidade do Rio de Janeiro**

WILSON JOSÉ FERNANDES LEMOS JUNIOR

Sob a Orientação do Professor
D.Sc., André von Randow Assis

e Co-orientação da Professora
D.Sc., Glória Maria Direito

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRRJ na Área de Concentração em Ciência dos Alimentos.

Seropédica/RJ
Julho de 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

WILSON JOSÉ FERNANDES LEMOS JUNIOR

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 19/07/2013

André von Randow de Assis (D.Sc.) UFRRJ
(Orientador)

Otniel Freitas Silva (D.Sc.) EMBRAPA
(Membro externo)

Marcelo Elias Fraga (D.Sc.) UFRRJ
(Membro interno)

“Certa vez, um homem estava tentando descobrir meios de como fazer acender seu experimento. Na 2000ª tentativa, finalmente ele conseguiu. Ao observar este homem, um rapaz o perguntou qual o sentido de uma invenção que levou a inúmeras derrotas. O homem respondeu prontamente dizendo que a luz é algo tão sublime, tão especial, tão maravilhosa, que ele levou 1999 passos para chegar até ela.”

Thomas Edson.

“Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena acreditar nos sonhos que se têm, ou que seus planos nunca vão dar certo, ou que você nunca vai ser alguém. Confie em si mesmo. Quem acredita sempre alcança!”

Renato Russo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer ao senhor DEUS, por suas promessas cumpridas em minha vida. Só ele sabe o quanto sacrifícios eu fiz e faço para conseguir meus objetivos. Obrigado senhor, sou grato por tudo que senhor faz por mim.

Agradeço a minha Mãe Tereza Cristina e meu pai Wilson José Lemos por mais esta conquista. E por me apoiarem em tudo que faço. Que não mediram esforços pra que eu conseguisse chegar até aqui. E também pela que abdicaram para me proporcionar algo de melhor. Tenho orgulho de ser filho de vocês e agradeço pela dedicação e pelo fato de não terem medo e nem vergonha de encarar o que vida e o que ela nos trás. Amor incondicional.

Ao meu avô Wilson Lemos e meus tios Wildemara, Paulo Geovani e professor Pará que infelizmente nos deixaram deste plano terreno, mas não deixarei de agradecer pelas palavras de força e voto de confiança nos momentos que precisei, vocês estiveram presentes. Sei que mesmo não estando entre nós, vocês olham por mim. Saudades.

A minha namorada, companheira, amiga Luana Amaral que sempre esteve do meu lado, me apoiando, ajudando, ouvindo, brigando, alertando e me ajudando a amadurecer no meu crescimento pessoal e profissional. Espero tê-la ao meu lado para o resto de minha vida. Tenho muita sorte por tão novo encontrar a mulher como você. Te amo.

A minha família agradeço aos que realmente me apoiam de maneira incondicional que somam em minha vida e sempre me ajudam quando preciso. Minha avó Lucy e Celeste por serem um dos pilares da minha vida tendo: simplicidade, Fé, carinho e compaixão pela consideração e preocupação comigo.

As meus tios e primas Fábio, Marcelo, Tia Zézé, Meire, Wildeluci, Alexandre, Barbara, Beatriz, Julia, Davi, Leonardo, Vivian, Claudio, Marcele, Benedito, Thamyris e Geovanna.

A minha Madrinha Maria Helena e Tio Charles por também me ajudar direta e indiretamente nas horas em que minha família mais precisou.

Aos meus orientadores André von Randow e Gloria Direito pela paciência em me ajudar nas dificuldades, questionamentos, oportunidade, credibilidade e confiança além de tornarem minha defesa possível.

A professora Tatiana Saldanha pela ajuda, paciência e sempre estar disposta a ajudar e também pela contribuição no projeto que foi de extrema relevância. Gratidão.

A Ingrid da Mata, que tive a honra de conhecer e aprender muito sobre vida profissional e pessoal, sua garra, determinação é uma das poucas pessoas que quando olho nos olhos vejo pureza e alegria, e mesmo com diversos problemas, continua trabalhando, correndo atrás, não deixando de dar sorriso no final do dia. Orgulho.

Ao Felipe Trombete pela inteligência, humildade e competência, sendo meu braço direito e esquerdo durante a maior parte deste trabalho, me ajudando mais que o possível. Também dividindo seus conhecimentos e me direcionando quando necessário. Esse projeto também é seu. Amizade.

À Roberta Brito, Eliane Gulão e Daniele Amaral pela ajuda, comprometimento, conselhos, maturidade e serenidade em minha vida pessoal. Presente.

Aos meus amigos e colegas Nathália, Karen, Tatiana, Fabiane, Jessica, David, Alan, Ivis, Cássia, Tayane, Henrique, Luciana, Fernando, Regiane e Juarez.

Aos Professores Rosa e Martins pelos auxílios em tudo que os solicitei. A companhia e bate papos com vocês foi essencial para mim. Profissionalismo e consideração.

Ao professor Rômulo pelas conversas sobre questões espirituais e comportamento humano que me fazem refletir até hoje.

Ao pesquisador Otinel e Marcelo por ser solícito e aceitar participar de minha banca de defesa.

Ao meu amigo “irmão” Leandro e toda sua família Eneias, Néia e Laís por estar sempre ao meu lado me apoiando, ajudando e também vale ressaltar a consideração que vocês têm comigo. Obrigado por tudo.

A Erica, André e Edimara por serem tão solícitos e também fazerem parta desta caminhada.

A Amanda, Roberta, Layze e Edinar por me ajudarem com seus conselhos e me passando conhecimentos de sabedoria e maturidade que foram de grande importância para minha vida profissional e pessoal.

Aos amigos Guilherme, Gustavo, Vitor Hugo, Alisson e João Paulo por serem meus amigos desde a infância, e ainda que estejamos longe somos amigos próximos.

As amigas: Mariana, Gabriele, Priscila e Bárbara por darem o maior reconhecimento de amizade que recebi em minha vida. Sou eternamente grato a vocês e agradeço a DEUS por vocês fazerem parte de minha vida e por socorrer a mim e minha família em um momento tão difícil.

A minha irmã, *in memoriam*, Ana Clara por ser um anjo que repousa no Céu e meu irmão João Pedro que mesmo longe estaremos pertos. O amor por vocês é incondicional e saudades também.

Obrigado DEUS, por ter que agradecer a tantas pessoas, pois assim o Senhor me mostra o quanto sou querido por pessoas que realmente gostam de mim.

RESUMO

LEMOS JUNIOR, WILSON JOSÉ FERNANDES. **Determinação de aflatoxinas e estudo de perfil de consumo em doce derivado de amendoim “paçoca” na alimentação adulta e infantil na cidade do Rio de Janeiro.** 2013. 58 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2013.

Esta pesquisa foi realizada no Município do Rio de Janeiro onde foram analisadas 36 marcas de doce de amendoim “paçoca” quanto o teor de aflatoxinas presentes neste produto. O critério utilizado de coleta das amostras foi dividir em *tercis* através do Índice de Desenvolvimento Humano Municipal. Foram feitas análises de quantificação de aflatoxinas (B₁, B₂, G₁, G₂) por Cromatografia de Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Fluorescência (CLAE-DF). Foi realizada uma pesquisa de consumo, com 309 indivíduos entrevistados responderam ao questionário de frequência alimentar com idade entre 8 a 65 anos. Baseado no limite máximo estipulado pela legislação brasileira para a presença de aflatoxinas totais em paçoca, e, considerando o consumo de 1 unidade de 25 g do doce, o limite diário tolerável situa-se em 0,006 µg.Kg⁻¹ de peso corporal/dia. Desta forma, cerca de 309 indivíduos entrevistados cerca de 39,8% (129) podem estar consumindo na zona de risco para obter uma doença crônica não transmissível. Portanto, fazem-se necessárias mais fiscalizações pelos órgãos competentes, e também, deve ser realizado maior controle no plantio, armazenamento e distribuição das matérias primas destinadas a fabricação da paçoca, visto que há números significativos de doces que apresentam padrão de qualidade não conforme. Também deve ser realizado um monitoramento de indivíduos que podem estar na zona de risco por consumir esse produto além do desejado e ainda avaliar o consumo de outros alimentos que podem conter aflatoxinas.

Palavras-chave: CLAE, TLC, Micotoxinas, Alimentos Industrializados.

ABSTRACT

LEMOS JUNIOR, WILSON JOSÉ FERNANDES. **Determination of aflatoxins and consumption profile study in sweet peanut derivative "paçoca" in adult and infant feeding in city the Rio de Janeiro.** 2013. 58 p. Dissertation (MSc in Food Science and Technology). Institute of Ttechnology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2013.

This research was conducted in the city of Rio de Janeiro it was analyzed 36 samples of peanut candy "paçoca" in a survey of the level of aflatoxins present in this product. The sampling procedure was divided into turtles by Municipal Index of Development Human, 18 certified samples with a certain stamp of quality and other unsealed. The quantification of aflatoxins (B₁, B₂, G₁, G₂) were analyzed by Thin Layer Chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FLD). I was conducted a survey of consumption, in which 309 people responded to the food frequency questionnaire aged 8-65 years. Based on the maximum limit set by Brazilian legislation for the presence of aflatoxins in total tack, and, considering the consumption of one unit of 25 g of the sweet, the tolerable daily limit stands at 0.6 microg.kg⁻¹ body weight / day. Thus, from 309 individuals interviewed about 39.8% (129) of them may be consuming in the limit risk for a not transmissible chronic disease. Thus, is necessary more inspections by the competent organs, and also should be held more control at planting, storage and distribution of raw materials for the manufacture of "paçoca", paçaca is a product witvh ligh competition and quality significant nonconforming product were observed. A monitoring should be done for individuals who may be in the risk zone by consuming this product and correlations with others products eith aflatoxins content in a diet.

Keywords: HPLC, TLC, Mycotoxins, Processed Foods.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Limites máximos para o consumo humano em vários países.	14
Tabela 2: Resultados da determinação de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 por CCD separadas por IDH-M comercializadas no Rio de Janeiro.....	24
Tabela 3: Ensaio de recuperação de Aflatoxinas em matriz de paçoca no nível de 20 e 10 5 µg.kg-1 respectivamente	26
Tabela 5: Resultado da determinação de Aflatoxinas por CLAE-DF em amostras de doce de amendoim comercializados no Rio de Janeiro, Brasil *Nd = abaixo do limite de detecção.	27

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química das aflatoxinas B ₁ , B ₂ , G ₁ e G ₂ fonte: brogeras, 2006.	11
Figura 4: Cromatograma branco (a) amostra de paçoca contaminado com 20 µg.kg ⁻¹ (b). AFG _{2a} : forma derivatizada de AFG ₂ . AFB _{2a} : forma derivatizada de AFB ₁	26
Figura 5: Percentual sexo dos indivíduos entrevistados.	30
Figura 6: Percentual de faixa etária indivíduos entrevistados.	30
Figura 7: Percentual de frequência de consumo de doce de amendoim pelos indivíduos entrevistados. ...	30
Figura 8: Percentual de indivíduos que analisam a rotulagem nutricional do produto antes de consumir.	31
Figura 9: Percentual de pessoas que conhecem os efeitos das aflatoxinas.	31
Figura 10: Percentual de pessoas que se preocupam com aflatoxinas em paçoca.	31
Figura 11: Percentual de sexo dos indivíduos entrevistados.	33
Figura 12: Percentual da faixa etária indivíduos entrevistados.	33
Figura 13: Percentual de frequência de consumo de doce de amendoim por indivíduos entrevistados entre 8 e 17 anos.	33
Figura 14: Percentual de indivíduos que analisam a rotulagem nutricional do produto antes de consumir.	34
Figura 15: Percentual de pessoas que conhecem os efeitos das aflatoxinas.	34
Figura 16: Percentual de pessoas que se preocupam com aflatoxinas em paçoca.	34
Figura 17: Porcentagem de indivíduos com possível risco de ingestão diária de aflatoxinas acima da média.	35

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

%	Porcentagem;
μL	Microlitro;
μg	Micrograma;
r^2	Coefficiente de correlação;
Aa	Atividade de gua;
AFB ₁	Aflatoxina B ₁
AFB _{2a}	Aflatoxina B ₁ derivatizada
AFB ₂	Aflatoxina B ₂ ;
AFG ₁	Aflatoxinas G ₁ ;
AFG _{2a}	Aflatoxinas G ₁ derivatizada;
AFG ₂	Aflatoxinas G ₁ ;
AFs	Aflatoxinas;
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Liquida de Alta Eficiência
CuSO ₄	Sulfato de cobre
CV	Coefficiente de Variação
DFL	Detector de Fluorescência
DNA	cido Desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
et al.	E outros
etc.	<i>et coeter:</i> e assim por diante
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
G	Grama
CLAE-FDS	Cromatografia Liquida de alta eficiência com detector de fluorescência
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IDP	Ingestão Diária Provável
IDH-M	ndice de Desenvolvimento Humano Municipal
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia
KCl	Cloreto de Potássio
Kg	Quilograma
L	Litro
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
m	Metro
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
μg	Micrograma
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
N ₂	Gás Nitrogênio
ng	Nanograma
n	Número
OMS,WHO	Organização Mundial de Saúde / World Health Organization
pH	Potencial Hidrogeniônico
ppb	Partes por bilhão

ppm	Partes por milhão
QFA	Questionário de Frequência Alimentar
RJ	Rio de Janeiro
RNA	Ácido Ribonucléico
rpm	Rotação por minuto
seg	segundo
sp	espécie
spp	espécies
EU	União Europeia
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UR	Umidade relativa
UV	Ultra Violeta
°C	Graus Celsius

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
2. OBJETIVOS	5
2.1 Objetivo Gerail	5
2.2 Objetivos Específicos	5
3. JUSTIFICATIVA DA PESQUISA	6
4. REVISÃO BLIBIOGRÁFICA	7
4.1 Amendoim	7
4.2 Micotoxinas	8
4.4 Aflatoxinas.....	10
4.4.1 Conceito.....	10
4.4.2 Estrutura química.....	10
4.4.3 Mecanismo de ação das aflatoxinas	12
4.5 Legislação atual sobre B ₁ , B ₂ , G ₁ e G ₂ em alimentos	13
4.6 Questionário de frequência alimentar (QFA).....	15
5. MATERIAL E MÉTODOS	18
5.1 Amostragem.....	18
5.2 Extração e purificação	19
5.3 Detecção e quantificação por CCD.....	19
5.4 Preparo de soluções para curva analíticas.....	20
5.5 Derivatização das aflatoxinas	20
5.6 Quantificação de aflatoxinas por CLAE.....	21
5.7 Testes de recuperação, repetitividade e limites de detecção e quantificação	21
5.8 Levantamento de dados de consumo e caracterização do hábito alimentar de paçoca	22
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
6.1.1 Determinação de aflatoxinas em Cromatografia em Camada Delgada.....	24
6.2 Determinações de aflatoxinas por CLAE	25
6.2.1 Linearidade	25
6.2.2 Recuperação.....	25

6.2.3	Quantificação de Aflatoxinas por HPLC-DF.....	27
6.1.2	Estimativa de consumo	29
6.1.2.1	Questionário aplicado em adultos.....	29
6.2.2.1	Questionário aplicado na publico infantil.....	32
7.	CONCLUSÃO.....	37
8.	REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA.....	38
ANEXO	51
Anexo I	52

1. INTRODUÇÃO

No mercado mundial, a procura pelo amendoim fez aumentar o preço ao decorrer dos anos que não ficava tão elevado, refletindo no aumento da entrada de capital para os agricultores brasileiros. A situação foi desencadeado pelo aumento da demanda na região asiática. Este é o maior produtor de amendoim em âmbito mundial, mas perdeu a liderança na exportação para a Argentina.

Segundo Coplana, maior cooperativa de amendoim do Brasil, prevê que o Brasil colha cerca de 350 mil toneladas de amendoim e derivados, 55% a mais que as 225 mil toneladas do ciclo passado. Iniciado em setembro de 2011, o plantio ocupa uma área de 115 mil hectares, 15% maior que a do período anterior. A safra deste ano foi a maior desde 1981, quando o país produziu quase 355 mil toneladas. O país deve exportar aproximadamente 65 mil toneladas de amendoim no ciclo atual, 18% mais que as 55 mil toneladas da temporada anterior.

Os maiores consumidores mundiais são: no continente Europeu: União Europeia e Rússia, Asiático: Indonésia e Japão e América do Norte: Canadá e México. Como é uma oportunidade de agronegócio para o Brasil exportar para esses e demais países, deve atender a legislação referente ao padrão de qualidade desses produtos. Em cada país importador o controle da qualidade do amendoim e seus derivados são realizados através da avaliação de parâmetros químicos intrínsecos do alimento, bem como pela pesquisa de microrganismos indicadores da qualidade higiênica e sanitária do produto.

As falhas ao longo do processamento de produtos industrializados derivados de amendoim podem favorecer o crescimento de microrganismos que acarretariam na formação de produtos tóxicos. O desenvolvimento de fungos filamentosos é um agravante, pois, além de serem indicadores de má qualidade higiênica, podem através da oxidação dos ácidos orgânicos promover a formação de substâncias que interferem no sabor e, ainda, reduzir a acidez do produto favorecendo o desenvolvimento de bactérias patogênicas.

Além do problema da deterioração microbiológica, algumas espécies de fungos filamentosos podem promover a formação de toxinas durante o processo de colheita e pós-colheita do amendoim e essas toxinas são resistentes ao processamento estando disponíveis no produto final. As toxinas causadas por fungos são denominadas micotoxinas e se tornaram um problema de saúde pública em todo o mundo devido aos efeitos tóxicos que causam aos animais e aos seres humanos.

Existem diversos tipos de micotoxinas encontrados em alimentos as aflatoxinas fazem parte do grupo que é mais evidenciado na área alimentícia. Dentre as aflatoxinas as principais são AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ (AFs), sendo a aflatoxina AFB₁ é considerada a de maior potencial tóxico ao homem.

AFs quando presentes em altas concentrações no amendoim e derivados podem ser motivos preocupação na saúde pública uma vez que podem causar doenças crônicas não transmissíveis, principalmente para população que tem baixo peso e infantil, já que é um metabolito que pode acumular no fígado causar doenças hepáticas, possuindo mutagênico para várias espécies, inclusive ao homem. Desta forma, amendoim e seus derivados podem ser considerados um dos veículos de contaminação por AFs. Assim faz se necessário o estudo de uma estimativa de consumo de alimentos com potencialmente capazes de estarem contaminados com AFs.

O amendoim pode dar origem a diversos produtos e subprodutos entre eles estão a *paçoca*, é um doce popular brasileiro consumido pela maioria da população principalmente pelo público infantil. No processamento da *paçoca* há operação unitária que vise a eliminação da AFs uma vez presente no amendoim utilizado como matéria prima.

A partir do ano de 2011 foi reestabelecido, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA), que o limite máximo tolerado a partir da soma da AFs (B₁, B₂, G₁, G₂) em amendoim e derivados seria de 20 µg.Kg⁻¹, desta forma, pesquisar a qualidade de amendoim e derivados atualmente comercializados no país, incluindo a pesquisa e quantificação de AFs é de grande relevância, podendo-se desta forma adquirir informações sobre a adequação dos produtos analisados em relação ao que regulamenta a atual legislação, exercendo ainda um papel informativo à sociedade, e ao mesmo tempo, incentivando a indústria a melhorar continuamente a qualidade deste produto.

Utilizar pesquisas sobre consumo de produtos que podem estar contaminados com AFs através de questionários de frequência alimentar pode revelar dados relevantes referentes as possíveis causas de doenças crônicas ou agudas causados pelo consumo de AFs. Estudar grupos de determinadas regiões geram resultados pontuais necessários para compreender problemas que são específicos de determinada população devido as questões culturais, localização geográfica, condição social e etc.

Ressalta-se que, no Brasil, importantes estudos sobre aflatoxinas estão sendo realizados, onde se pode observar grande interesse das instituições de pesquisa sobre o tema associando com uma pesquisa de consumo alimentar a fim de avaliar o potencial de risco que a população pode estar exposta.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Gerail

Determinação de aflatoxina B₁, B₂, G₁, G₂ e estudo de consumo em doce derivado de amendoim “paçoca”.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar o perfil de consumo deste tipo de doce por IDH-M no Município de Rio de Janeiro;
- Estabelecer a dose diária provável (IDP) e comparar com a dose diária aceitável (IDA).

3. JUSTIFICATIVA DA PESQUISA

O sudeste brasileiro corresponde a 75% da produção nacional de amendoim e nesta região a população consome aproximadamente 85% pela produção de doces e salgados complementados pela exportação de amendoim com e sem pele, bem como a exportação de óleo cru de amendoim.

Seguindo um plano de amostragem conforme o regulamento (União Europeia) N.º178/2010 de 2 de Março de 2010, que apresenta menor limite de tolerância de aflatoxinas em amendoins e derivados, tendo em vista que se o Brasil pretende aumentar sua exportação, portanto há necessidade de atender as exigências internacionais. Dessa forma, o produto foi escolhido devido acessibilidade no contexto nacional e mundial, a fim de atualizar os dados e promover uma discussão sobre o consumo do mesmo e sua exportação.

Esta pesquisa relaciona o consumo de produtos contaminados com aflatoxinas em uma determinada população da cidade do Rio de Janeiro, separada por grupos utilizando o critério de Índice de Desenvolvimento Humano (IDH-M), a fim de avaliar se em um mesmo município há diferença entre o índice de consumo dessa mesma região.

4. REVISÃO BLIBIOGRÁFICA

4.1 Amendoim

O amendoim é uma planta dicotiledônea e a única espécie cultivada é *Arachis hypogaea* L. são herbácea, anual, púberes, plantas eretas ou de baixo crescimento. Entre suas peculiaridades estão nas flores e frutos presentes em ambientes subterrâneos. Após a fecundação, formam flores *gynophores* que crescem para baixo do solo. O desenvolvimento do fruto inicia-se no solo e dura cerca de 40 e 50 dias até a colheita (FREITAS, 2003).

No processamento a etapa de colheita nas plantações comerciais, são observados que uma vez que as plantas são arrancadas, as vagens são colocadas para secar ao sol em uma leira (CORRÊA, 2002). Esta é uma das fases mais importantes de produção, dependendo da secagem é possível provocar um aumento significativo na contaminação fúngica (FONSECA, 2010). O aumento do nível de contaminação por fungos não apenas ocorre no plantio, mas também durante o processo: de formação de grãos, colheita, secagem, transporte e armazenamento (MARTINS et al., 2012), bem como durante a manipulação (SANTOS et al., 2001).

Um dos principais problemas causados pela contaminação por fungos além do impacto econômico ocorrem os seguintes problemas: redução de sementes germinadas, descoloração, a perda de tecido seco de aquecimento, odor desagradável, problemas no cozimento, alterações químicas e nutricionais, produção de micotoxinas comprometendo a qualidade do produto, podendo-o tornar impróprio para o consumo (MARTINS et al., 2012).

Um dos principais ambientes onde podem ser encontrados os principais fungos do gênero *Aspergillus* é o solo (DESPANDE, 2002), além de *Penicillium*, *Rhizopus* e *Fusarium* principais gêneros frequentemente detectados em grãos de amendoim. Além disso, *Alternaria*, *Nigrospora*, *Trichoderma*, *Dothiorella*, *Pestalotia* também podem ser identificados, porém, ainda existe muitas outras espécies (ROSSETTO et al., 2005).

A contaminação do amendoim por aflatoxinas, produzidas principalmente por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, é um dos principais fatores que afetam a qualidade do produto (HORN et al., 2005).

As aflatoxinas são resistentes ao calor (ponto de fusão de AFB₁ é 269°C), no entanto podem ser eliminada através de um tratamento térmico como a autoclave, presença de amoníacos e tratamento com sais hipoclorito (WHO, 2011).

AFB₁ é produzida exclusivamente por *Aspergillus flavus*, que é a forma mais tóxica para os mamíferos e apresenta propriedades hepatotóxicas, teratogênicas e mutagênicas, causando danos como hepatite, hemorragia, edema, imunossupressão e carcinoma hepático (SPEIJERS; SPEIJERS, 2004), causando hepatite tóxica, carcinoma hemorragia, edema e imunossupressão hepática (SMITH E ROSS, 1991).

Esta toxina tem sido classificada como uma classe carcinogênica humana pela Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC, 2010). O Ministério da Saúde do Brasil (Resolução RDC nº 7, ANVISA de 2011) estabeleceu um limite de 20 µg.kg⁻¹ (ppb) para a soma das aflatoxinas AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂ em amendoim e seus derivados (BRASIL, 1996, 2002, 2011).

4.2 Micotoxinas

Derivada da palavra grega *mikes*, que significa fungo, e da palavra latina *toxicum*, que significa veneno. Portanto, micotoxina é a toxina produzida por fungos (IHESHIULOR, ESONOU, CHUWUCA, 2011).

Entre as substâncias produzidas por fungos estão os metabólitos primários que são produzidos a partir de compostos como: carbono carbono, açúcares (frutose, galactose, ribose) e álcoois (etanol), aminoácidos (glutamato monossódico, lisina, treonina, fenilalanina, triptofano), ácidos orgânicos (acético, propiônico, fumárico, láctico), polióis (glicerol, manitol, xilitol), polissacarídeos (xantana), açúcares (frutose, ribose) e vitaminas (riboflavina, cianocobalamina, biotina) (DEMAIN, 2000; RAJASEKARAN et al., 2008)

As micotoxinas são consideradas metabólitos secundários tóxicos, de baixo peso molecular, produzidos por espécies fúngicas filamentosas, que está presente em diversos ecossistemas tais como diversos tipos de solos, locais de manejo e produção podendo ser produzidas por diversos fungos que podem estar presentes em alimentos (tais como cereais e amendoim) e demais produtos de alimentação (EMBRAPA, 2007).

Para que seja formada uma micotoxina deve ser levado em consideração fatores intrínsecos e extrínsecos que juntos podem proporcionar a susceptibilidade do substrato à colonização do fungo produtor, presença de macro e micronutrientes; temperatura ambiental, umidade relativa no substrato e do ar durante o armazenamento, pH do meio, aeração, danos mecânicos e tempo de armazenamento. Deve se levar em consideração

o potencial genético do fungo em produzir estas, quantidade de esporos viáveis, interação de diferentes fungos existentes no mesmo substrato, interação de micotoxinas e presença de parasitas (insetos, roedores e ácaros) (RASF, 2010). A suscetibilidade humana a intoxicações por micotoxinas também é variável e depende da dose da toxina ingerida; e idade, frequência de exposição e condição nutricional do hospedeiro (MILLER, 1994)

Existem vários tipos de micotoxinas e os principais encontrados são: aflatoxinas, ocratoxinas, tricotecenos, zearalenona, fumonisinas e os alcalóides de ergots, representando um problema de saúde pública e agricultura. Essas toxinas podem comprometer a saúde humana, animal e produtos agrícolas causando prejuízos de milhões de dólares a cada ano. Em relação aos alimentos estima-se que 5 a 10% do que é produzido é descartado por causa da contaminação por fungos (FAO, 2004).

Atualmente, dentre as micotoxinas mais estão as aflatoxinas (AFs), especialmente a aflatoxina B₁ (AFB₁), desoxinivalenol (DON), ocratoxina A, fumonisina B₁, toxina T-2 (T-2), e zearalenona (ZEN, ou seja, F-2 toxina) (RASF, 2010).

Em 2010, a Agência Internacional para Pesquisa do Câncer da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2010), avaliou o potencial cancerígeno das aflatoxinas, ocratoxinas, trico tecenos, zearalenona e fumonisinas. Foi feito uma divisão entre dois grupos: grupo 1 estão as aflatoxinas foram classificadas como cancerígenas para humanos, grupo 2B as ocratoxinas e fumonisinas foram classificadas como possíveis cancerígenos. Já os Tricotecenos e zearalenona não foram classificados como carcinógenos humanos.

A ocorrência de doenças relacionadas ao consumo de micotoxinas em humanos e animais são chamadas de micotoxicoses. Várias organizações internacionais, como a União Europeia, o Comité Misto FAO/OMS e Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA), assim como muitos países, criaram normas para limitar contaminantes de micotoxinas em produtos alimentícios ao nível ppb ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) (FAO, 2006).

4.4 Aflatoxinas

4.4.1 Conceito

As aflatoxinas são os compostos mais tóxicos e carcinomas-génico entre as micotoxinas conhecidas YU. et al., 2004 e é produzida principalmente por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* (MCLAUHLIN & LITTLE; RICHARD et al., 2007). *Aspergillus flavus* produz a aflatoxina B1 e B2, enquanto *A. parasiticus* produz B1, B2, G1 e G2 (YU et al., 2005). Outras espécies produtoras de aflatoxinas são *A. nomius* que produz aflatoxinas B e G (VARGA et al., 2003), *A. pseudotamarii*, *A. bombycis* e *A. ochraceoroseus* (CARY, KLICH & BELTZ., 2004).

O conceito de aflatoxina foi formado a partir do nome do seu principal agente produtor (toxina do fungo *Aspergillus flavus*). As principais aflatoxinas conhecidas são denominadas de B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁) e G₂ (AFG₂), com base na fluorescência delas sob a luz ultravioleta e na sua mobilidade durante a realização de cromatografia de camada delgada. Duas outras micotoxinas M₁ (AFM₁) e M₂ (AFM₂) foram detectadas no leite, urina e fezes de mamíferos, resultantes do metabolismo das toxinas B₁ e B₂, respectivamente (FONSECA, 1999).

4.4.2 Estrutura química

As Afs são bisfuranocumarinas derivadas de decacetídeos, pela via biossintética dos policetídeos, na qual a unidade C2 é perdida durante a formação dos anéis bisfuranos (Figura 1) (SMITH; MOSS, 1985).

4.4.3 Mecanismo de ação das aflatoxinas

As AFs podem ser absorvidas principalmente no fígado ou no trato gastrointestinal. A biotransformação ocorre através de enzimas microsossomais do sistema de funções oxidases, associadas ao citocromo P-450 (BIEHL; BUCK, 1987). A AFB₁ é considerada AF mais tóxicas para o fígado (OSWEILER, 1990).

Em diversas espécies, os machos são mais susceptíveis do que as fêmeas em obter reações adversas já em relação a faixa etária jovens são mais sensíveis que os adultos (LEESON; DIAZ; SUMMERS, 1995).

Os sinais da intoxicação por aflatoxinas dependem principalmente de sua concentração no alimento, do tipo de aflatoxina e do tempo de ingestão (DOERR; HAMILTON, 1983).

A intoxicação causada por aflatoxinas está relacionada com a quantidade de alimento contaminado ingerido e do tipo e do tempo de ingestão (OGIDO et al., 2004), podem ser classificados no grupo de substâncias potencialmente cancerígenas e podendo causar toxicidade aguda quando em concentrações elevadas (KHANAFARI et al., 2007). Produzindo efeitos tais como: mutagênicos, teratogênicos e imunossupressores (MURTHY et al., 2005). Devido aos seus efeitos nocivos para saúde humana e de animais gera grande preocupação em relação ao controle desses alimentos que podem estar contaminados.

Doenças associadas ao consumo de AFs têm sido associadas à etiologia de neoplasias hepáticas em humanos, através da ingestão de alimentos contaminados. Vale ressaltar que existem estudos que evidências as AFs podem estar associadas ao desencadeamento de outras doenças, tais como: síndrome de Reye, causa de encefalopatias e o Kwashiorkor, severa forma de desnutrição (OLIVEIRA; GERMANO, 1997; CAST, 26 2003; KABAK; DOBSON, 2006; KHANAFARI et al., 2007).). Além de propriedades oncogênicas e imunossupressivas, induzindo infecções em pessoas contaminadas com essas substâncias.

4.5 Legislação atual sobre B₁, B₂, G₁ e G₂ em alimentos

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2004), definir normas para micotoxinas é uma atividade complexa, que envolve muitos fatores das partes interessadas, incluindo principalmente o levantamento de dados sobre os efeitos na saúde humana e animal.

A presença de AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂ em amendoins e produtos derivados é considerado principalmente um risco potencial a saúde de recém-nascidos e crianças por serem estes os maiores consumidores de tais produtos. Conseqüentemente, diversos países possuem limites regulatórios para a presença de AFs nestes produtos.

A União Europeia estipula o limite de 4µg.Kg⁻¹(AFs totais) sendo que a atual legislação brasileira determina o limite máximo de 20 µg.Kg⁻¹ (BRASIL, 2011). Até o ano de 2010, vigorava no país a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n°274 de 15 de Outubro 2002, da ANVISA. Este regulamento estabelecia os limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite fluído, em pó, amendoim e milho destinados ao consumo humano (BRASIL, 2002) sendo que os outros grupos de micotoxinas não eram contemplados.

Em fevereiro de 2011 foi criado pela ANVISA o Regulamento Técnico sobre limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos (BRASIL, 2011), o qual revogou a RDC n° 274 de 2002 e a Resolução CNNPA n°34 de 1976 (BRASIL, 1976). Esta nova legislação contempla não somente aflatoxinas, mas também estabelece limites máximos para Ocratoxina A, Desoxinivalenol, Fumonisina B₁ e B₂, Zearalenona e Patulina em diferentes alimentos. A Tabela 1 apresenta os limites máximos de AFB₁ e AFs totais em alimentos estabelecidos pela legislação vigente em diversos países inclusive o Brasil.

De acordo com a Tabela 1, nota-se, a existência de um déficit entre países relacionado com a padronização sobre determinados aspectos da avaliação e gestão de riscos para micotoxinas.

Países que possuem há mais tempo legislações que impõem limite de micotoxinas em alimentos conseguem controlar de forma mais eficaz do que países que implementaram leis recentemente. Isto acontece devido ao tempo de estudo e adaptação dos produtores em relação a BPF e análise de ponto críticos de controle que interferem na qualidade do produto, fazendo com que a determinação do limite e redução do próprio seja gradativo, portanto é inviável uma harmonização de valores de limites entre os principais países (FAO, 2004).

Tabela 1: Limites máximos de Afs para o consumo humano em vários países.

Pais	AFB ₁ (µg.kg ⁻¹)	AFs totais (µg.kg ⁻¹)
União Europeia	2	4
Israel	5	15
Argentina	5	20
Japão	10	-
Honduras	-	1
Austrália	-	5
Egito	-	10
Peru	-	10
Canadá	-	15
Bahamas	-	20
Barbadas	-	20
Belize	-	20
Brasil	-	20
Colômbia	-	20
EUA	-	20
Filipinas	-	20
Hong Kong	-	20
México	-	20
Siri Lanka	-	30
Uruguai	-	30
Costa Rica	-	35

No Brasil, o limite de AFs totais para amendoim e derivados (20 µg.Kg⁻¹) é 400% superior ao limite nos países da União Europeia correspondente a 4 µg.Kg⁻¹.

De acordo com a EMBRAPA (2007), mesmo o Brasil possuindo limites para AFs, falta no país maior rigor no cumprimento das legislações, já que as fiscalizações são esporádicas e os laboratórios encarregados de realizar as análises encontram-se, em sua grande maioria, desprovidos de material e de pessoal especializado.

4.6 Métodos de quantificação de Aflatoxinas

Existem diversas maneiras para quantificação de AFs entre elas estão os métodos qualitativos cromatografia em camada delgada (CCD) e métodos quantitativos tais como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Sendo estes utilizados acoplados a detectores tais como: fluorescência (DFL) ou espectrômetro de massa (MS) ((SOREN et al., 2013).

O método qualitativo CCD pode ser reproduzido de maneira simples, não apresentando muito custo para realização do mesmo. A análise do resultado é obtido de forma direta baseado na visualização do perfil cromatográfico baseado na banda que apresenta uma cor fluorescência relacionado com a corrida na placa. Entretanto, o ponto negativo deste método é em relação a sensibilidade do método. Uma vez que necessita utilizar limites baixos para determinados alimentos este método não é eficaz (YOUNIS; MALIK, 2003).

A CLAE entre todas as metodologias de quantificação é a mais usada, apresentando alta eficiência, reprodutividade e apresenta a característica de ser um método sensível. Porém é mais oneroso que CDD em relação ao custo da análise. Os reagentes utilizados neste equipamento demanda alto grau de pureza, além precisar ser utilizado com cautela e sempre que possível estar sendo monitorado para não haver problemas com o mesmo uma vez que sua manutenção é muito custosa, tempo de análise vai depender do tipo de amostra, coluna e fase móvel (YOUNIS; MALIK, 2003; AFSAH-HEJRI et al., 2011).

4.7 Questionário de frequência alimentar (QFA)

O Questionário de Frequência Alimentar é uma forma prática e eficaz como método de avaliação da ingestão dietética, sendo por sua vez, muito utilizado em estudos epidemiológicos que relaciona o hábito alimentar com a ocorrência de doenças crônicas não-transmissíveis (Fisberg, Slater, 2005; Lopes, Caiaffa, 2003; Slater, Philippi, 2003; Zulkifli and Stella, 1992), sendo utilizado em prospectivos internacionais (BLOCK et al., 1986; WILLETT, 1994).

Além disso, o QFA é um instrumento que associa o consumo de alimentos e doenças crônicas, já que prevê a medição da exposição e sua relação com o tempo (WILLET, 1998).

Este questionário consiste em uma lista de alimentos, onde a partir desta é possível determinar uma frequência média de consumo, correlacionado a um período de tempo, que pode ser semanas, meses, anos..., podendo contemplar fracionamentos desta unidades (Zulkifli and Stella, 1992). Esta lista de alimentos é apresentada ao entrevistado em forma de questionário, para saber com que frequência cada item é consumido em termos de vezes por dia ou semana (Cade, Thompson, 2002).

O QFA já foi bastante utilizado nas décadas de 60 e 70 em estudos sobre algumas doenças, como por exemplo, o câncer. Porém nessa época, muitos epidemiologistas acreditavam que por conta da variação da dieta de um indivíduo para o outro seria difícil uma medição concreta, o que acarretou em maiores estudos sobre os métodos de inquéritos dietéticos, e em especial aos estudos de validação dos QFAs.

No Brasil, diversos estudos foram realizados utilizando como base o QFA, que foi desenvolvido para descrever padrões ou hábitos alimentares e não ingestão de nutrientes (Castro, Kac, 2006; Sichieri, 2002).

O QFA exige uma menor especialização do entrevistador podendo ser aplicado em entrevista pessoa a pessoa. Esta vantagem se traduz em um baixo custo e uma maior rapidez na análise dos resultados (Fisberg, Slater, 2005; Zulkifli and Stella, 1992). Ou ainda podem ser administrados por um entrevistador usando um computador (NELSON, 1997).

Ainda que o QFA apresente algumas vantagens, as informações obtidas a partir desse método dietético podem apresentar erros, e estes podem estar relacionados ao próprio instrumento, aos entrevistados ou a efeitos externos (Beaton GH, Burema J, Ritenbaugh C, 1997).

Deste modo o QFA pode ser utilizado como uma ferramenta em estudos epidemiológicos desde que seja planejado. Deve ser feita uma escolha minuciosa do alimento e a frequência que ele é consumido, para uma maior garantia na confiabilidade e precisão dos dados (Slater, Philippi, 2003).

Para que se possa fazer uma estimativa da frequência de consumo, utiliza-se a imagem mental que os indivíduos fazem do consumo habitual (Fisberg, Slater, 2005).

Aspectos como étnicos, grau de escolaridade e idade do entrevistado podem influenciar na fidedignidade das informações colhidas por meio de um QFA (KRISTAL et al., 1997).

Ao elaborar um Questionário de Frequência Alimentar, deve ser levado em consideração quais são os objetivos a fim de evitar que o próprio questionário contenha informações necessárias sobre o ponto de interesse. O consenso sobre a elaboração,

validação e uso de QFAs recomenda amostras de no mínimo 50 ou 100 indivíduos (Burley and Cade,2000).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Amostragem

Durante o período de Abril à Setembro de 2012 foram coletadas amostras de paçocas em estabelecimentos em regiões com diferentes Índice de desenvolvimento Humano Municipal (IDH-M). As mesmas foram divididas em *tercis*: IDH-M (Alto >0,90; Médio entre 0,80 a 0,89; Baixo entre 0,70 a 0,79). Para definição das regiões de coleta de dados, foi utilizado o banco de dados com as informações IDH-M, segundo bairros disponibilizados no portal da Prefeitura do Rio de Janeiro, referente ao ano de 2012.

A partir destas informações, foram selecionados os seguintes bairros para coleta: Santa Cruz, Jacarepaguá e Realengo, para os IDH-M Baixo. Foram coletadas amostras nos bairros de Campo Grande, Centro e Madureira para os IDH-M Médio. Realizou-se coleta nos bairros da Barra da Tijuca, Tijuca e Botafogo referentes ao IDH-M Alto.

Na figura 2 estão apresentados os pontos de coleta das amostras.

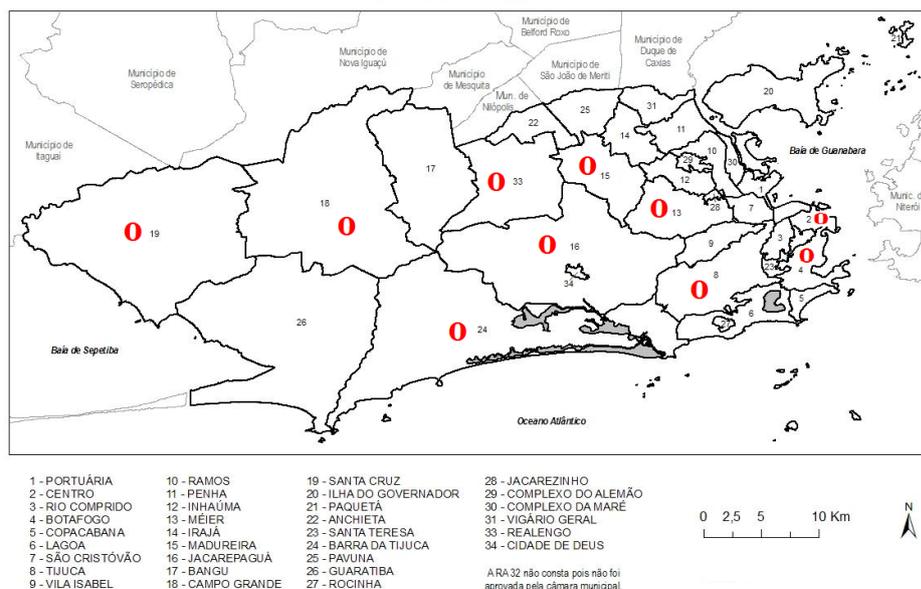


Figura 2: Pontos de coletas no Rio de Janeiro. O símbolo “o” representa os bairros onde foram coletadas as amostras.

Para cada um destes *tercis*, foram coletadas 12 diferentes marcas. Desta forma, totalizaram-se 36 diferentes marcas amostradas.

Para cada marca avaliada, foram adquiridas aleatoriamente embalagens contendo 1 Kg do produto, sendo então armazenadas à temperatura de congelamento (-18 °C) até o momento da análise.

5.2 Extração e purificação

Para a determinação dos índices de aflatoxinas totais, utilizaram-se 50 gramas de paçoca de amendoim homogeneizadas. A extração e purificação foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por Soares e Rodriguez-Amaya (1989), através de extração com metanol e cloreto de potássio, clarificação com sulfato de cobre e partição líquido-líquido com clorofórmio e hexano. O extrato clorofórmico foi evaporado em banho-maria a 65 °C até secura sob fluxo de N₂.

Os solventes e reagentes utilizados para extração foram de grau analítico, obtidos da Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brasil).

5.3 Detecção e quantificação por CCD

Após a extração, o resíduo foi reconstituído com 300 µL de clorofórmio e submetido a banho de ultrassom por 30 seg, sendo então aplicados em triplicatas 15 µL do extrato em cromatoplaça de Sílica Gel 20x20 cm (CCD, Merck), a qual foi desenvolvida na fase móvel clorofórmio: acetona (9:1, v/v).

Após desenvolvimento cromatográfico, a revelação foi realizada com o auxílio de lâmpada ultravioleta em comprimento de onda a 366 nm. Para a quantificação, alíquotas de 15 µL de soluções de trabalho contendo um pool das aflatoxinas (B₁, B₂, G₁ e G₂, Sigma-Aldrich) em diferentes concentrações (0,40; 0,35; 0,30; 0,25; 0,20; 0,15; 0,10 e 0,05 µg.mL⁻¹) foram aplicadas na cromatoplaça, juntamente com os extratos das amostras positivas e novamente foi desenvolvida a corrida cromatográfica em clorofórmio: acetona (9:1, v/v), sendo então comparado o tamanho e intensidade de fluorescência das amostras com as soluções de trabalho contendo as quatro aflatoxinas.

Observou-se também os fatores de retenção (R_f) de cada aflatoxina, correspondendo a 0,46; 0,55; 0,61 e 0,70 para AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂, respectivamente. Para determinar o limite de detecção e de quantificação foram aplicadas em cinco replicatas as soluções de trabalhos acima citadas na cromatoplaça, em concentrações variando de 0,40 a 0,025 µg.mL⁻¹, sendo então desenvolvidas na fase móvel clorofórmio: acetona (9:1, v/v). O limite de quantificação (LQ) e detecção (LD)

foram de 5 e 2 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ respectivamente, podendo ser considerado adequado quando comparado com o método proposto pelo IAL (2008).

5.4 Preparo de soluções para curva analíticas

Os padrões das AFB₁ (5 mg), AFB₂, AFG₁ e AFG₂ (1 mg) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) e ressuspensos em benzeno: acetonitrila (98:2, v/v) e as soluções estoque e de trabalho foram preparadas em metanol, de acordo com metodologia da AOAC (1990).

Para a obtenção das soluções estoque em concentração próximas de 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$, foram coletas alíquotas da solução padrão e evaporadas sob atmosfera de nitrogênio, sendo então ressuspensas em metanol grau CLAE. Para a confirmação das concentrações esperadas, foi realizado a quantificação por espectrofotometria de ultravioleta (Shimadzu UV-1201, Kyoto, Japan) sob comprimento de onda de 362 para AFB₁ e 360 para as demais aflatoxinas, conforme método AOAC (1990), que emprega a seguinte fórmula:

$$AF \mu\text{g.mL}^{-1} = A \times PM \times 1000 / \lambda$$

Onde:

A: Absorbância obtida,

PM: Peso molecular,

λ : Absortividade molar

5.5 Derivatização das aflatoxinas

Para derivatização das AFB₁ e AFG₁ ressuspendeu-se os extratos secos em 600 μL de acetonitrila e adicionou-se 1,2 mL do agente derivatizante (Água Milli-Q, Ácido Trifluoracético e Ácido Acético Glacial, 7:2:1, v/v/v), segundo AOAC (2005). O meio reacional foi mantido à 65 °C por 9 min. As amostras derivatizadas foram filtradas em membrana MILLIPORE (0,45 μm) analisadas no sistema de cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência (CLAE-DF).

5.6 Quantificação de aflatoxinas por CLAE

As AFs foram quantificadas por padronização externa, utilizando curva analítica composta por 7 pontos em diferentes concentrações de cada aflatoxina e então quantificadas utilizando um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Agilent 1100 Series (Waldbron, Alemanha) composto por detector de fluorescência (365 nm de excitação e 450 nm emissão), injetor manual com loop de 20 μL , coluna Ace C₁₈ (250 mm x 4,6 mm, 5 μm), e fase móvel constituída por água: metanol: acetonitrila 60: 30: 10 (v/v/v), em fluxo de 0,6 mL.min⁻¹,

Para identificação de cada AF foram comparados os tempos de retenção dos picos das amostras com os dos padrões de referência na curva analítica e, a partir do cálculo das áreas dos picos foram obtidos os níveis das toxinas presentes nas amostras analisadas. Todos os solventes utilizados nas análises cromatográficas foram de grau CLAE (Tedia, São Paulo, Brasil) e a água ultrapurificada pelo sistema MILLI-Q.

5.7 Testes de recuperação, repetitividade e limites de detecção e quantificação

Para o estudo da recuperação foram adicionadas nas amostras, alíquotas pré-determinada contendo as soluções padrão de cada aflatoxina. Após a evaporação dos solventes dos padrões nas amostras fortificadas, estas foram submetidas à extração pelo método proposto por Soares e Rodriguez - Amaya (1989) e o coeficiente de recuperação obtido foi expresso em porcentagem.

Os testes de recuperação foram feitos utilizando-se dois níveis de fortificação (20, 10 e 5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) em triplicatas. O coeficiente de variação entre as triplicatas foi utilizado para representar a repetitividade do método.

Os LD e LQ foram calculados através da adição em concentrações decrescentes da solução padrão contendo as quatro aflatoxinas nas amostras de paçoca que não continham aflatoxinas. Tais amostras foram então submetidas à extração e posterior quantificação por CLAE-DF, até a menor concentração detectável (LD) e quantificável (LQ) sob condições adequadas de repetibilidade (n= 5, DP <15%). Os limites de detecção e quantificação encontrados foram de 0,6 e 1,2 g.Kg⁻¹, respectivamente, para as 4 aflatoxinas.

5.8 Levantamento de dados de consumo e caracterização do hábito alimentar de paçoca

Para obter o levantamento dos dados de ingestão e caracterização dos hábitos alimentares dos indivíduos entrevistados foram aplicados questionários, sobre consumo e frequência de consumo de paçoca (QFA).

Inicialmente, foi realizado um levantamento sobre a frequência de consumo de paçoca, através de um questionário piloto com intuito de verificar a eficiência e abrangência do questionário e também validar o questionário. O mesmo contemplou de forma clara e objetiva pontos relevantes para os objetivos da pesquisa. Este questionário foi submetido a conselho de ética da Universidade Rural do Federal do Rio de Janeiro, esse se refere a aquisição alimentar destinada ao consumo individual do participante conforme apresentado no, ANEXO I.

Através do questionário piloto, foram realizados os ajustes necessários para obter-se o modelo definitivo utilizado nesta pesquisa. Os itens do QFA foram: identificação do sexo, peso, altura, frequência de consumo, quantidade consumida, faixa etária, se o indivíduo lê a rotulagem antes de consumir o produto, sabe o que significa aflatoxina e quando consomem paçocas se preocupam com a presença de AFs.

A aplicação dos questionários foi realizada na saída dos estabelecimentos comerciais de médio e grande porte distribuídos em vários pontos da cidade de Rio de Janeiro - RJ, que comercializam principalmente, entre vários outros produtos, produtos alimentícios destinados ao consumo humano.

Através destas análises, do consumo de produtos de amendoim, estimou-se a ingestão de aflatoxinas pelo consumo de paçoca.

A estimativa da ingestão diária das aflatoxinas, foi realizada através de um cruzamento dos dados de contaminação média de aflatoxina encontrados nos produtos amostrados com os dados de consumo de produtos de amendoim obtidos no questionário do QFA. O consumo de amendoim pela população brasileira, reportado pela literatura, também foi utilizado visando fazer uma análise comparativa com os dados gerados pela análise de consumo da população amostral, obtidos neste trabalho.

Para o cálculo da Ingestão Diária Provável (IDP) de aflatoxinas, o valor do consumo diário foi multiplicado pela contaminação média e dividido pelo peso médio de uma pessoa. E somente na categoria de consumo estipulada pela faixa de peso.

A partir das diferentes IDP geradas foi realizada uma análise de risco da exposição as aflatoxinas, comparando-se as IDP com as ingestões diárias aceitáveis (IDA) reportadas para as aflatoxinas (KUIPER-GOODMAN, 1998).

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1.1 Determinação de aflatoxinas em Cromatografia em Camada Delgada

Os resultados da determinação das aflatoxinas AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ por CCD nas amostras de paçoca estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados da determinação de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ por CCD separadas por IDH-M comercializadas no Rio de Janeiro.

	n*	Aflatoxinas (em $\mu\text{g.kg}^{-1}$)					n*	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂
		AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂						
IDH-M Baixo	1	>10 <15	<5	>5 <10	>5	19					
	2	<5	<5	>5 <10	>5	20	>25 <30	>5 <10	>20 <25	>5 <10	
	3	<30 <40	>10 <15	>5	>5	21	>5 <10	>5 <10	>5 <10	<5	
	4	<5	<5	>5	>5	22	<5	<5	>5 <10	<5	
	5	<5	<5	>5	>5	23	<5	<5	<5	<5	
	6	>10 <15	>10 <15	>10 <15	<5	24	<5	<5	<5	<5	
IDH-M Médio	7	<5	<5	<5	<5	25	<5	<5	<5	<5	
	8	<5	<5	<5	<5	26	>10 <15	>5 <10	>5 <10		
	9	>25 <30	<5	>5 <10	<5	27	<5	<5	<5	<5	
	10	<5	<5	<5	<5	28	>10 <15	>5 <10	>5 <10	<5	
	11	<5	<5	<5	<5	29	<5	<5	<5	<5	
	12	>15 <20	<5	<5	<5	30	<5	<5	<5	<5	
IDH-M Alto	13	<5	<5	<5	<5	31	<5	<5	<5	<5	
	14	<5	<5	<5	<5	32	<5	<5	<5	<5	
	15	>30 <25	>10 <15	>20 <25	>10 <15	33	<5	<5	<5	<5	
	16	>10 <15	<5	>10 <15	<5	34	<5	<5	<5	<5	
	17	<5	<5	<5	<5	35	<5	<5	<5	<5	
	18	<5	<5	<5	<5	36	<5	<5	<5	<5	

*n= numero de marcas avaliadas. Limite de quantificação: $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$, Limite de detecção $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

De acordo com a Tabela 2, verificou-se que das marcas de paçoca de amendoim comercializadas em regiões de IDH-M alto, 16,6% (2 marcas) encontravam-se acima do limite máximo de $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de aflatoxinas totais, estipulado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), e, portanto, impróprias para consumo humano. Já em IDH-M médio, 25% (3 marcas) das amostras apresentaram quantidades acima do permitido. Nas regiões de IDH-M baixo 41% (7 marcas) das amostras estavam acima dos limites estabelecidos pela legislação. Nas regiões de IDH-alto não foi observado estabelecimentos que comercializam paçocas sem selo de qualidade, em função da

característica do público alvo são consumidores com alto poder aquisitivo os quais optam por produtos de maior qualidade.

6.2 Determinações de aflatoxinas por CLAE

6.2.1 Linearidade

Os valores de coeficientes de correlação calculados a partir da equação da regressão linear para as curvas analíticas testadas foram de 0,996; 0,999; 0,998 e 0,993 para AFG_{2a}, AFB_{2a}, AFG₂, AFB₂ respectivamente. As curvas analíticas estão representadas na Figura 3.

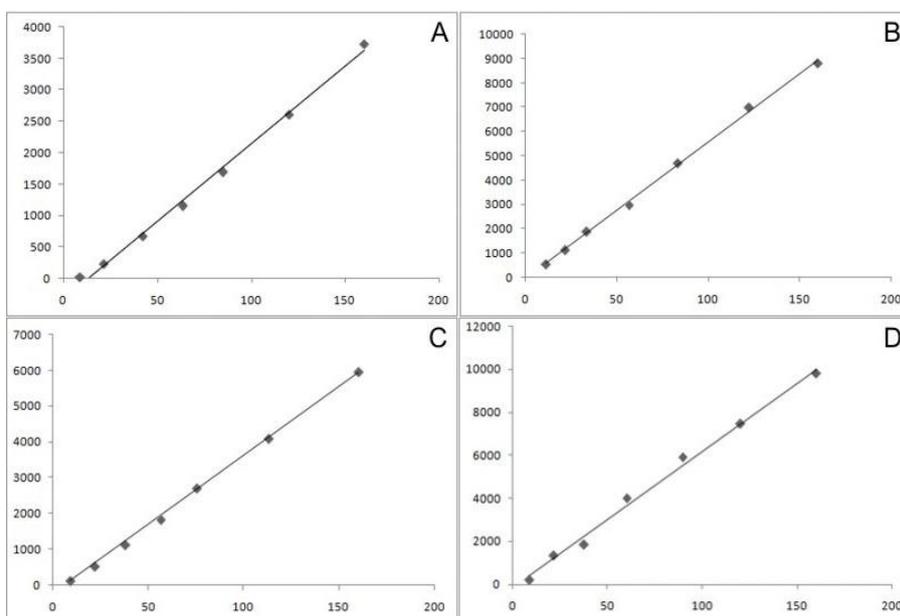


Figura 3: Curva analítica para quantificação de AFG₁ (A), AFB₂ (B), AFB₁ (C), AFG₂ (D) em paçoca.

Cabe ressaltar ainda, que a ANVISA (2003), AOAC (2000), recomenda um coeficiente de correlação seja maior que 0,99. Dessa forma, os resultados obtidos estão de acordo com ambas as resoluções.

6.2.2 Recuperação

Na Tabela 3 são mostrados o cromatograma de uma amostra fortificadas com 20, 10 e 5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ das 4 AFs, e um outro cromatograma de uma amostra na qual não foi observada a presença de nenhuma aflatoxina. Os resultados de recuperação estão de

acordo com os exigidos pela AOAC (2002) e EU (2006) para análise de traços, os quais situam-se entre 70 e 120%, (CV de no máximo 20% para o nível entre 10 a 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) (AOAC, 2002), e entre 80 e 110%, (CV de no máximo 15% para o nível entre 10 a 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) (COMUNIDADE EUROPÉIA, 2006). Portando a recuperação feita esta dentro dos padrões estabelecidas pelas duas principais referencias mundias.

Tabela 3: Ensaios de recuperação de Aflatoxinas em matriz de paçoca no nível de 20 e 10 5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ respectivamente

	Ensaio	AFB ₁ (%)	AFB ₂ (%)	AFG ₁ (%)	AFG ₂ (%)
20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	R1	104	107	94	93
	R2	93	97	103	97
	R3	99	105	105	105
	Média	98,66	103	101	98,33
	CV (%)	5,58	5,14	5,84	6,11
10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	R1	90	98	90	91
	R2	99	103	102	94
	R3	92	95	95	98
	Média	93	98	95	94
	CV (%)	4,23	3,35	5,54	3,55
5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	R1	94	87	103	85
	R2	101	105	92	82
	R3	89	90	90	95
	Média	94,56	94,00	95,00	87,09
	CV (%)	6,37	10,61	7,31	7,79

Os resultados da determinação das aflatoxinas B₁, B₂, G₁, G₂ por CCD nas amostras de paçoca estão apresentadas na Tabela 3.

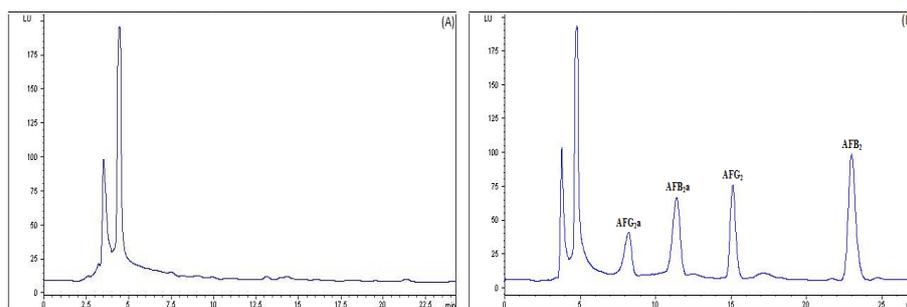


Figura 4: Cromatograma Branco (A) amostra de paçoca contaminado com 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (B). AFG₂a: forma derivatizada de AFG₂. AFB₂a: forma derivatizada de AFB₁.

6.2.3 Quantificação de Aflatoxinas por HPLC-DF

Os resultados referentes ao monitoramento de aflatoxinas nas amostras amendoim (paçoca) estão demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4: Resultado da determinação de Aflatoxinas por CLAE-DF em amostras de doce de amendoim comercializados no Rio de Janeiro, Brasil *Nd = abaixo do limite de detecção.

Faixas (em $\mu\text{g.Kg}^{-1}$)	IDH-M		
	Alto	Médio	Baixo
Nd-10	8 (66,6%)	5 (41,6%)	6 (50%)
10-20	3 (25%)	4 (33,3%)	1 (8,3%)
Maior que 20	2 (16,6%)	3 (25%)	5 (41%)
Total	12 (100%)	12(100%)	12 (100%)

Deve ser considerado ainda que, a época de coleta das amostras abrangeu o período das festas Juninas e Cosme Damião, onde, por questões culturais, ocorre o aumento do consumo de paçoca e outros derivados do amendoim, consequentemente aumentando os valores de ingestão diária de aflatoxinas.

Os resultados encontrados nesta pesquisa são similares aos apresentados por outros autores, os quais evidenciam a contaminação do amendoim e produtos derivados por aflatoxinas (SABINO et al. 1999; WANG E LIU 2007; NAKAI et al. 2008).

Sabino et al. (1999), pesquisando a ocorrência de aflatoxinas em 137 amostras de amendoim e derivados, verificou que 45% das amostras foram positivas para aflatoxinas e 27% excederam os limites da legislação brasileira ($30,0 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) (BRASIL 1996).

Wang e Liu (2007) analisaram a contaminação de aflatoxinas em diferentes tipos de alimentos da China e encontrou o mais alto nível de contaminação correspondendo a $28,4 \mu\text{g.kg}^{-1}$ em amendoim.

Nakai et al. (2008) estudaram somente a casca do amendoim e mostraram que 6,7% das amostras estavam contaminadas com AFB₁ e AFB₂, os grãos, 33,3% das amostras estavam contaminadas com AFB₁ e 28,3% estavam contaminadas com AFB₂.

Outros estudos realizados no Brasil e em demais países também evidenciam a contaminação do amendoim e produtos derivados apresentando valores acima do que encontrado neste trabalho, conforme apresentados por (MALLMANN et al. 2003; CRAUFURD et al. 2006; HUANG et al., 2010; EZEKIEL et al 2012; HOELTZ et al., 2012 IQBAL et al 2013).

Mallmann et al. (2003) avaliaram 664 amostras de amendoim e produtos de amendoim disponíveis no Estado do Rio Grande do Sul. Foram encontradas aflatoxinas

em 31,3% das amostras, com níveis médios de contaminação $92,1 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ e um teor máximo de $5476,0 \mu\text{g.Kg}^{-1}$.

Craufurd et al. (2006), estudaram de contaminação por aflatoxinas em amendoins provenientes da Nigéria, encontrando valores que variam entre 34,0 e 208,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

Os teores de contaminação por Aflatoxinas em “paçoca” no presente estudo foi comparável como relatado de Huang et al., (2010) que documentavam um total de 73 amostras coletadas aleatoriamente de diferentes áreas na província de Zhejiang (China). Os resultados mostraram que 31 amostras de manteiga de amendoim, 14 amostras de amendoim fresco e 5 amostras de amendoim foram contaminadas com Aflatoxinas.

Ezekiel et al (2012) analisaram 29 amostras de bolo de amendoim recolhidos de mercados em cinco estados da Nigéria. Foi encontradas amostras com Aflatoxinas que excederam o limite máximo USDA de $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$, em cerca de 90% das amostras.

De acordo com a pesquisa de Hoeltz et al (2012) foi analisado a ocorrência de aflatoxina B₁ em amendoim e produtos de amendoim comercializados no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil; Aflatoxina B₁ estava presente em 14% das amostras analisadas, em concentrações na faixa entre 24,0 a 87,5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ nas amostras de amendoim entre 22,0 a 84,6 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ nas amostras de produtos de amendoim. Estes valores excederam o limite regulador brasileiro.

Iqbal et al (2013) estudaram a determinação de aflatoxinas em com amendoins e produtos de amendoim, comercialmente disponíveis nas principais cidades do Punjab no Paquistão. Revelaram que 59% de amendoins cru com casca, 55% de amendoins crus sem casca, 61% de amendoim torrado com casca, 68% de amendoim torrado sem casca, manteiga de amendoim 50%, biscoitos de amendoim 42% e 20% de amendoim nimko foram encontrados contaminados com o Afs.

Neste trabalho provavelmente a contaminação apresentada na paçoca, apresente-se em níveis acima dos permitidos pela legislação, deve-se ao fato de que a matéria prima utilizada pode ser de qualidade inferior, proveniente de uma triagem inicial para amendoins *in natura* que são utilizados para exportação e comercialização no país. A paçoca pode ser considerada como um subproduto do amendoim. Este fato apresenta um problema para saúde pública.

Do total de 36 marcas analisadas, 27,7% (10) marcas foram positivas para aflatoxinas (Tabela 2), estipuladas pelo Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2011), e, portanto, impróprias para consumo humano.

A região com menor índice de contaminação foi a de IDH-M alto, onde nenhuma marca apresentou-se em desacordo com a legislação (Tabela 2).

A amostra que apresentou maior nível de contaminação teve o valor máximo encontrados de $39,6 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de AFs totais, sendo $19,36 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ correspondente a B₁. Tal fato reflete que ainda há comercialização de doce de amendoim distribuídos em algumas regiões do Rio de Janeiro, assim deve-se aumentar a fiscalização destes produtos para não ser comercializados para a população em especial a infantil.

Analisando os resultados somente por IDH-M, verifica-se que, das marcas de paçoca de amendoim comercializadas em regiões de IDH-M alto, 16,6% (2 marcas) encontravam-se acima do limite máximo permitido. Já em IDH-M médio, 25% (3 marcas) das amostras apresentaram quantidades acima do permitido. Nas regiões de IDH-M baixo 41% (7 marcas) das amostras estavam acima dos limites estabelecidos pela legislação.

Deve ser considerado ainda que, a época de coleta das amostras abrangeu um período de festas culturais, onde o consumo de doce de amendoim ocorre com grande frequência, conseqüentemente, aumentando os valores de ingestão diária de aflatoxinas durante este período.

6.1.2 Estimativa de consumo

6.1.2.1 Questionário aplicado em adultos.

Foram entrevistadas 69 e 89 pessoas do sexo masculino e feminino (Figura 5) respectivamente, totalizando 158 pessoas. Do total de entrevistados, 49%, tinham entre 25-40 anos (Figura 6), 15% consomem paçoca pelo menos 3 vezes por semana (figura 7). Ainda entre este grupo, 80% não leem a rotulagem nutricional dos produtos que consomem (Figura 8), 32% desconhecem o que são aflatoxinas (Figura 9) e apenas 17% se preocupam com a presença de aflatoxinas no produto (Figura 10), quando consomem paçoca. Portanto, existe falta de conhecimento dos consumidores de paçoca em relação às aflatoxinas e os seus danos à saúde. Isso pode ajudar a agravar o risco de contaminação por ingestão de alimentos que estejam potencialmente contaminados com aflatoxinas.

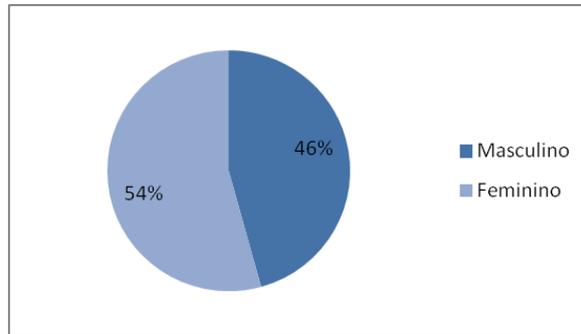


Figura 5: Percentual Sexo dos indivíduos entrevistados.

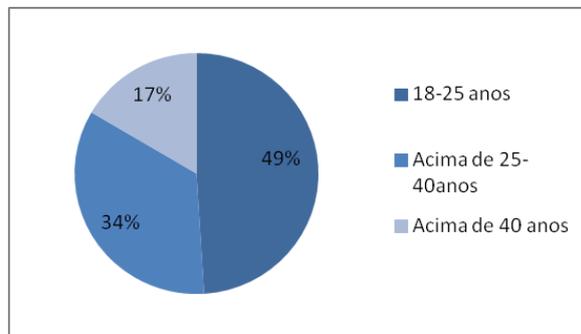


Figura 6: Percentual de faixa etária indivíduos entrevistados

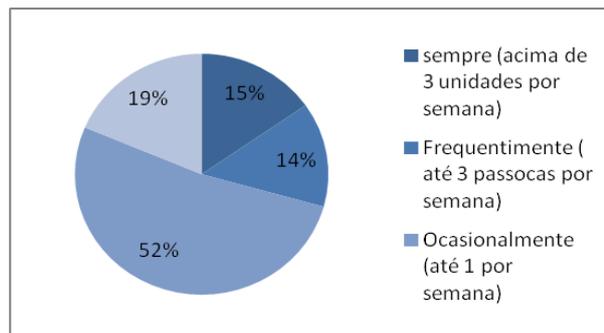


Figura 7: Percentual de frequência de consumo de doce de amendoim pelos indivíduos entrevistados.

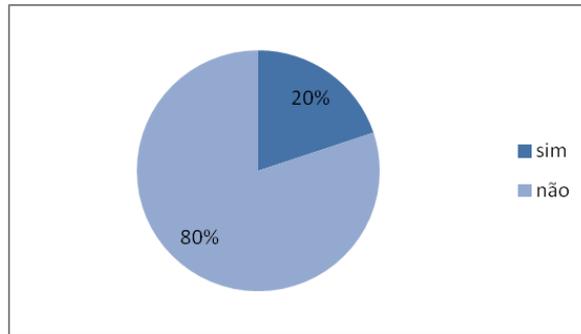


Figura 8: Percentual de indivíduos que analisam a rotulagem nutricional do produto antes de consumir.

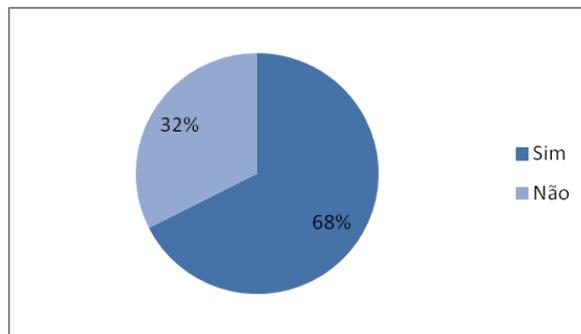


Figura 9: Percentual de Pessoas que conhecem os efeitos das aflatoxinas.

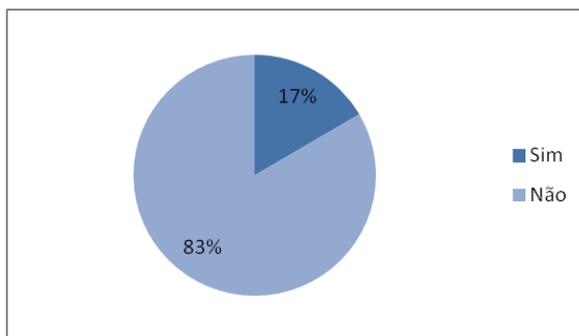


Figura 10: Percentual de Pessoas que se preocupam com aflatoxinas em paçoca.

A paçoca de amendoim é um dos produtos amplamente consumidos pela população jovem do país entre 8 a 17 anos, sendo comercializados a baixo custo. Avaliando os valores de [IDP], gerados a partir dos dados de consumo obtidos a partir

[E1] Comentário: Qual a faixa etária? O que seria jovem?

[E2] Comentário: O que é isso?

deste trabalho, observa-se que 28,9% (44) dos entrevistados podem estar expostos a níveis bastante diferentes dependendo do consumo semanal.

Esse valor encontra-se na faixa superior dos valores de ingestão considerados seguros baseado no limite máximo estipulado pela legislação brasileira para a presença de aflatoxinas totais em paçoca, e, considerando o consumo de 1 unidade de 25 g do doce, o limite diário tolerável situa-se em $0,006 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de peso corporal/dia. Podendo ser ainda maior se for associado a outras fontes de exposição, como o amendoim cru e outros derivados, como o milho e castanhas.

6.2.2.1 Questionário aplicado na público infantil.

Foram entrevistadas 80 e 77 pessoas (Figura 11) do sexo masculino e feminino, respectivamente. Sendo que do total, 21% tinham 15 anos e 9% consomem paçoca diariamente (Figura 12). Dentre os entrevistados, 99% não leem a rotulagem nutricional dos produtos que consomem (Figura 13), 99% desconhecem o que são aflatoxinas (Figura 15) e apenas 1% se preocupam com aflatoxinas (Figura 16) presentes no produto quando consomem paçoca. Levando em consideração que todas as crianças entrevistadas são alfabetizadas. Mesmo com o fato de todas as crianças serem alfabetizadas, ainda assim, espera-se que as mesmas não apresentem como o esperado, crianças não apresentam o conhecimento sobre a importância de ler as embalagens de alimentos que os próprios consomem. Durante a entrevista foi perguntado informalmente às crianças se os seus pais tem têm habito de ler a rotulagem, e a maioria disse informou que não vem veem os pais fazerem isso. Portanto, a falta de informação pode ajudar a agravar o risco de contaminação por ingestão de alimentos que estejam potencialmente contaminados com aflatoxinas e futuramente causar doenças crônicas não transmissíveis.

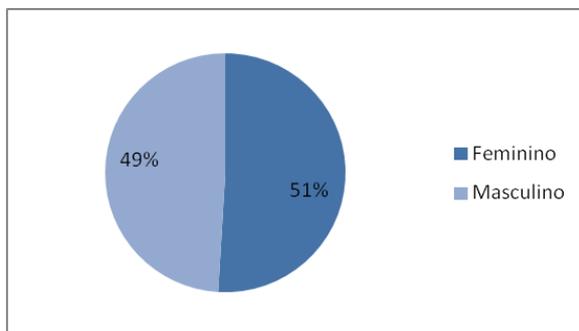


Figura 11: Percentual de sexo dos indivíduos entrevistados.

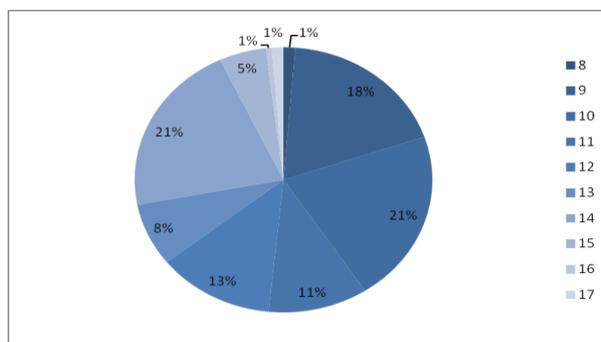


Figura 12: Percentual da faixa etária indivíduos entrevistados.

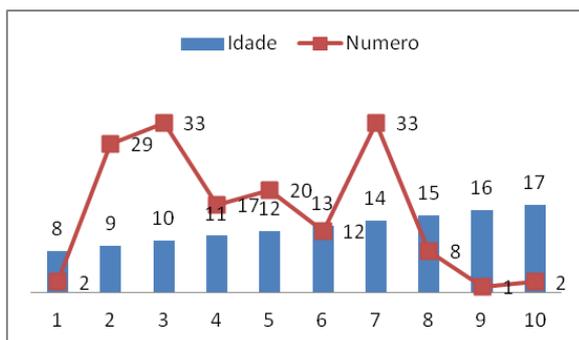


Figura 13: Percentual de frequência de consumo de doce de amendoim por indivíduos entrevistados entre 8 e 17 anos.

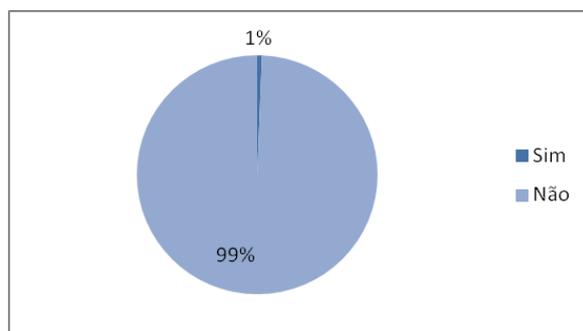


Figura 14: Percentual de indivíduos que analisam a rotulagem nutricional do produto antes de consumir.

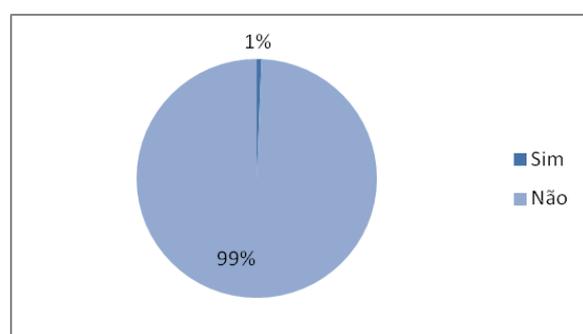


Figura 15: Percentual de pessoas que conhecem os efeitos das aflatoxinas.

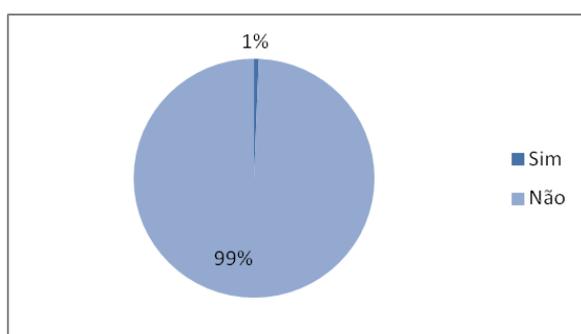


Figura 16: Percentual de pessoas que se preocupam com aflatoxinas em paçoca.

De acordo com os resultados, 36 crianças podem estar na zona de risco de doenças não transmissíveis por contaminação, por consumirem paçoca em quantidades superiores ao permitido pela legislação. Esse valor encontra-se na faixa superior dos valores de ingestão considerados seguros baseado no limite máximo estipulado pela

legislação brasileira para a presença de aflatoxinas totais em paçoca, e, considerando o consumo de 1 unidade de 25 g do doce, o limite diário tolerável situa-se em $0,006 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de peso corporal/dia.

Durante o levantamento foram coletados dados de peso e altura das crianças sendo foi possível calcular o IMC de cada indivíduo entrevistado relacionando-o com os indivíduos que estão na zona de risco. Desses indivíduos, 27%, 31%, e 40% são de IMC alto, médio e baixo, respectivamente apresentado na Figura 17. O interessante é que foi levantada uma hipótese antes das entrevistas que pessoas com IMC alto demonstrariam maior porcentagem entre indivíduos que podem consumir teores elevados de aflatoxinas, porem de acordo com os resultados.

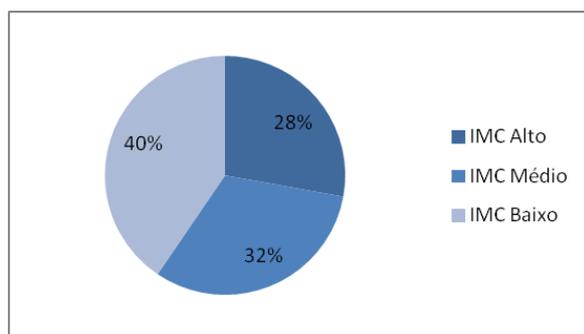


Figura 17: Porcentagem de indivíduos com possível risco de ingestão diária de aflatoxinas acima da média.

Em consequência, o risco da população jovem decorrente da exposição crônica a aflatoxinas pela dieta, pode aumentar significativamente o aumento de pessoas que fazem parte da estatística de indivíduos portadores de doenças crônicas não transmissíveis.

A aflatoxina é cancerígena, e há evidências consideráveis que a aflatoxina desempenha um papel importante no desenvolvimento de carcinoma hepatocelular nas regiões com exposição frequente a aflatoxina (IARC, 2002).

Tendo em vista que os maiores contribuintes para a infecção de hepatite B e C são causados por vírus da hepatite B, vírus da hepatite C e também carcinoma hepatocelular, o papel das aflatoxinas não pode ser descartado, uma vez que consumida de maneira elevada e rotineiramente. Assim, outros estudos sobre a

[E3] Comentário: Seria melhor se colocasse os nomes dos vírus

prevalência e nível de exposição na população com uso de biomarcadores de aflatoxina, incluindo a aflatoxina-albumina em adultos, poderia ser incluído neste aspecto. Os primeiros anos de vida é crucial para o crescimento e desenvolvimento na vida adulta. Uma série de estudos sugere que a susceptibilidade para a aflatoxina é maior nos jovens e nas intoxicações agudas relatadas (Barret, 2005; Ngindu et al, 1982;. Serck-Hanssen1970).

Kuiper-Goodman (1997) estabeleceu uma dose diária tolerável (TDI) para aflatoxina B₁ de 0,15 ng.kg⁻¹ por peso corporal/dia. Considerando-se que o peso médio da população adulta é de 70 kg e a concentração média de aflatoxina B₁, neste estudo, foi de 0,73 µg/kg, a ingestão Diária Provável Média (IDP) seria de 0,44 ng.kg⁻¹ de peso corporal/dia. Portanto, o consumo médio estimado de aflatoxina B₁ foi elevado nos produtos alimentares derivados de milho analisados.

Esta pesquisa demonstra que o consumo de paçoca de amendoim contaminada com aflatoxina pode oferecer risco à saúde pública, pois 26,1% (81) dos entrevistados podem ser considerados indivíduos expostos à teores de aflatoxinas que estão acima da legislação vigente .

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo nos permite concluir que o Rio de Janeiro tem disponibilizado em seu comércio produtos com concentração de Aflatoxinas acima do nível permitido pela legislação. Os resultados demonstraram que 27,7% das marcas avaliadas foram positivas para AFs. Em relação a consumo deste produto por IDH-M, a região de IDH-M alto apresentou menor numero de marcas com produtos fora da qualidade, nestes locais são vendidos produtos mais caros e de melhor qualidade. A “paçoca” é considerada um alimento que tem baixo custo e se encontra em diversos estabelecimentos da cidade, assim esse doce que contenha Aflatoxinas acima do permitido pode ser considerado um problema de saúde publica, pois, pode causar doenças crônicas não transmissíveis, e pela estimativa de consumo, cerca de 26% dos indivíduos entrevistados podem correr este risco.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, A.P., Fonseca, H., Fancelli, A.L., Direito, G.M., Ortega, E.M., Corrêa, B., 2002. Mycoflora and fumonisin contamination in Brazilian corn from sowing to harvest. **Journal Agric. Food Chem.** 50, 3877e3882.

AOAC International. Association of Official Analytical Chemists International. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Edited by CUNNIFF, P. 16 th ed., 3 rd rev., 1997.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 971.22 – Standards for Aflatoxins, 2000. Chapter 49, p.4.

AOAC International (The Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence). **Official Method of Analysis** 991.31, 2002. Requirements for single laboratory validation of chemical methods. Draft 20021107, Wahington, DC. 2002.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 994.08 – Derivatization of Standards for aflatoxins, 2005. Chapter 49, p.25.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. Chapter 8, p.51 2008

AMADO, M.A. **Métodos imunológicos na detecção e determinação de aflatoxinas em alimentos**: Vantagens e inconvenientes. 1997. Disponível em :<http://www.ipv.pt/millennium/millennium26/26_21.htm> Acesso em: 08jan. 2014.

ALVES A.; OLINTO M.T.A.; COSTA J.S.D.D; Bairros FSd, Balbinotti MAA. Padrões Alimentares de mulheres adultas residentes em área urbana no Sul do Brasil. **Rev Saude Publica**. 2006;40(5):865-73.

ARANA, S.; DAGLI, M.L.Z.; SABINO, M. et al. Evaluation of the efficacy of hydrated sodium aluminosilicate in the prevention of aflatoxin-induced hepatic cancer in rainbow trout. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 9, set., 2011 .

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CHOCOLATE, CACAU, AMENDOIM, BALAS E DERIVADOS. ABICAB. Amenoim. Disponível em: <http://www.abicab.org.br/index_home.htm> Acesso em: 12 jan 2013.

Barrett, J., Liver cancer and aflatoxin: New information from the Kenyan outbreak.

Environ. Health Perspect. 113, A837–A838 2005..

BEUCHAT, L. R. Traditional fermented food products. In: BEUCHAT, L. R (Ed.). **Food and beverage mycology**. Westport: AVI, 1978. p. 224-253.

BIEHL, M.L.; BUCK, W.B. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. **Journal of Food Protection**, v.50, n.12, p.1058-1073, 1987.

BIOSPHERE. **Controle Biológico das Aflatoxinas. Cultivar Soluções para Agricultura Ltda.** Disponível em: <<http://www.acultivar.com.br/biosphere.htm>> Acesso em: 17 set. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n. 07, de 09 de novembro de 1988. Estabelece os padrões mínimos das diversas matérias primas empregadas na alimentação animal. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 09 de novembro de 1988.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria MAPA n. 183 de 21 de março de 1996. Internaliza as normas do MERCOSUL GMC/RES. No. 56/94. **Diário Oficial da União**, Brasília, 25 mar. 1996.

BRASIL, 1996. Ministério da Agricultura. Portaria MAPA n. 183, 21 de março de 1996. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, DF, Seção 1, pp. 4929.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 274, de 2002. Regulamento técnico Mercosul sobre limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, no amendoim, no milho. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 out. 2002. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/legis/index.htm>>. Acesso em: 10 mai. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada N° 7, de 18 de fevereiro de 2011. Limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 09 mar. 2011. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/legis/index.htm>>. Acesso em: 10 mai. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Ações de enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino-serviço. 2. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2002.

Brogeras, L. M^a. G. Disponível em: <http://www.analizacalidad.com/micotoxinas.htm>. Acesso em: 20/07/2012.

BURGUERA, J.A. Presence of aflatoxin B1 in human liver referred to as Reye's Syndrome in Venezuela. **Acta cient. Venez;** v. 37, n. 3, p. 325, 1986.

BUSBY, W.F.; WOGAN, G.N. Aflatoxins. In: SEARLE, C.E., ed. **Chemical carcinogens**. Washington, American Chemical Society, v.2, p. 945-1136, 1984.61.

BUTLER, T. Notes on a feeding experiment to produce leucoencephalitis in a horses with positive results. **Am Vet Rev**, v.26, p.748-751, 1902.

CALDAS, E. D.; SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J. A. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 319-323, 2002.

CARREIRO, G. Hepatite B e Hepatocarcinoma. **Revista Brasileira de Cancerologia**. Rio de Janeiro, v.50, n.2, p.166-169. 2004.

CASTRO M.B., KAC G., SICHIERI R. [Dietary patterns among postpartum women treated at a municipal health center in Rio de Janeiro, Brazil]. **Cad Saude Publica** 2006 Jun;22(6):1159-70.

CAVALCANTE A.A.M., PRIORE S.E., FRANCESCHINI S.C.C. Estudos de consumo alimentar: aspectos metodológicos gerais e o seu emprego na avaliação de crianças e adolescentes. **Rev Bras Saúde Matern Infant**. 2004;4(3):229-40.

CAVALIERE, C., FOGLIA, P., GUARINO, C., MARZIONI, F., NAZZARI, M., SAMPERI, R., et al. Aflatoxin M1 determination in cheese by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1135, n.1, p.135-141, 206.

CHU, F.S. Mycotoxins: food contamination, mechanism, carcinogenic potencial and preventive measures. *Mutat. Res.*, v. 259, p. 291-306, 1991.

COULOMBE Jr., R. A. Biological action of mycotoxins. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 880-891, 1993.

CORRÊA, B. Fungos toxigênicos: panorama nacional. **Atualidades em micotoxinas e armazenagem de grãos**. Florianópolis: Vildes M. Scussel. p.162-168, 2000.

CREPPY, E.E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. **Toxicology Letters**, v.127, n.1, p.19-28, 2002.

COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY *Mycotoxins: risks in plant, animal, and human systems*. Ames: Council for Agricultural **Science and Technology**; 1999. p.2003. (Task force report,n.139.)

CRAUFURD P.Q., PRASAD P.V.V., WALIYAR F., TAHERI A. DROUGHT., Pod yield, pre-harvest Aspergillus infection and aflatoxin contamination on peanut in Niger. **Field Crop Res**. 2006; 98: 20-29.

DEMAIN, A.L., ADRIO, J.L. Contributions of microorganisms to industrial biology,*Molecular Biotechnology*, 38:41–55, DOI 10.1007/s12033-007-0035-z, 2008

DESHPANDE, S.S. Handbook of Food Toxicology. In: DESHPANDE, S.S. **Fungal Toxins**. Marcel Decker: New York, p.387–456, 2002.

DINÇKAYA, E.; KINIK, O.; SEZGINTURK, M. K.; ALTUG, C.; AKKOCA, A. Development of an impedimetric aflatoxin M1 biosensor based on a DNA probe and gold nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics*, v.26, n.1, p.3806-3811, 2011.

DOERR, J.A.; HAMILTON, P.B. Effects of low level chronic aflatoxicosis in broiler chickens. **Poultry Science**, v.62, p.1971-1977, 1983.

EHLERT, A. *consumo de amendoim cresce 30% com festejos juninos*. Maringá: Agrolink, 2007. Disponível em: <http://www.agrolink.com.br/noticias/pg_detalhe_noticia.asp?cod=56223> Acesso em: 28 jun.2012.

EIZENDEHER, L.B. Comparação de métodos cromatográficos por camada delgada e líquida com kits imunológicos para detecção de aflatoxinas em amendoim in natura e doce de amendoim. 2005. 88 f. (Dissertação - Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

EZEKIEL, C.N., M. SULYOK, B. WARTH, A.C. ODEBODE, AND R. KRKA. 2012. “Natural occurrence of mycotoxins in peanut cake from Nigeria.” *Food Control* 27(2): 338–342. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512001727> (February 8, 2013).

FREITAS, F.O.; PENÁLOZA, A.P.S.; VALLS, J.F.M. *O amendoim contador de história*. Brasília: Embrapa, 2003.p.12.

EMBRAPA Agroindústria Tropical. Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal . IFREIRE,F.C.O.;VIEIRA, E.G.P.V; GUEDES, M.I.F.; MENDES, F.N.P. Fortaleza, CE. Out. 2007. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Dc_110.pdf> Acesso em: 29 out. 2012.

EUROPEAN COMMISSION (EC) Regulation. Commission regulation. No. 1881/2006 of 19 December 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official Journal of the European Communities**, p. 2-25, 2006.

EZEKIEL, C.N., M. SULYOK, B. WARTH, A.C. ODEBODE, AND R. KRKA. 2012. “Natural occurrence of mycotoxins in peanut cake from Nigeria.” *Food Control* 27(2): 338–342. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512001727> (February 8, 2013).

FALLAH, A. A.; RAHNAMA, M.; JAFARI, T. et al. Seasonal variation of aflatoxin M1 contamination in industrial and traditional Iranian dairy products. **Food Control**, v.22, n.1, p.1653-1656, 2011.

FAO. Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. HANS P.; EGMOND, V.; JONKER, M.A. Paper n. 81, fev., Rome, 2004. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e00.HTM>> Acesso em: 6 fev. 2013.

FAO. RELATÓRIO FINAL. Conferencia Regional FAO/OMS sobre Inocuidade do Alimentos em África. 3-6 de Outubro de 2005. Harare, Zimbábue. ORGANIZAÇÃO 63 DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E A ALIMENTAÇÃO, Roma, FAO, 2006.

FISBERG R.M., SLATER B., MARCHIONI D.M., MARTINI L.A.. Inquéritos Alimentares Métodos e bases científicas. 1a. ed. Barueri; 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Sampling plans for aflatoxin analysis in peanuts and corn. Rome: Food and Agriculture Organization. (FAO Food and Nutrition paper, 55). 1993.

FONSECA, H. A aflatoxina e o amendoim. Boletim Técnico n_ 13. 2010.

FONSECA, H. **Pequeno histórico das micotoxinas no mundo e no Brasil**. In: MOLIM, R. & VALENTINI, M. L. Simpósio sobre micotoxinas em grãos. Fundação Cargill/Fundação ABC, São Paulo. 208 p. 1999.

FONSECA, H. **Envenenamento Alimentar - Micotoxinas e Micotoxicoses**. In: Tecnologia dos produtos agropecuários - Alimentos. Nobel, São Paulo. p. 51-57, 1984.

FONSECA, H. Sampling plan for the analysis of aflatoxin in peanuts and corn: an update. **Braz. J. Microbiol.**, v. 33, p. 97-105, 2002.

FONSECA, H. BOLETIM TÉCNICO n.13 - <http://www.micotoxinas.com.br>. O amendoim e a aflatoxina. Acesso em 01 dez., 2012.

FORSYTHE, S.J. **The microbiology of safe food**. London: Blackwell Science, 2000. 424p.

FREHSE, H.; THIER, H.P. Die ermittlung er nachweisgrenze und bestmmungsgrenze bei ruck standanalysen nach dem neuen. **DFG-Konzept**, v.35, n.1, p. 285-91, 1991.

FREITAS, V.P.S.; BADOLATO, M.I.C. Incidência de aflatoxinas em paçocas de amendoim consumidas na cidade de Campinas, estado de São Paulo. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.52, n.1/2, p.83-87, 1992.

FUJII, S.; GARCIA, L.B.; HIROOKA, E.Y. Metodologia analítica imunoquímica com ênfase na detecção de micotoxinas – ficotoxinas no sistema agroalimentar. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 273-284, 2004.

HARRIS, C.C. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for de 1990s. **Cancer Research**, v. 51, p. 5023-5044, 1991.

HORN, B.W., 2005. Colonization of wounded peanuts seeds by soil fungi: selectivity for species from *Aspergillus section Flavi*. *Mycologia* 97, 202e217.

HOELTZ, M., TIAGO C.E., VERÔNICA P.O., HORACIO A., and ISA B. “The Occurrence of Aflatoxin B 1 Contamination in Peanuts and Peanut Products Marketed in Southern Brazil.” 55(April): 313–317, 2012.

HUANG, BAIFEN, ZHENG H., ZENGXUAN C., YONGJIANG W., and YIPING R. “Simultaneous determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and M2 in peanuts and their derivative products by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry.” **Analytica chimica acta** 662(1): 62–8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20152266> (March 1, 2013), 2010.

HUSSEIN, S.H.; BRASEL, J.M. Review: toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v.167, n.2, p.101-134, out., 2001.

IARC., International Agency for Research on Cancer. Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. World Health Organization, Lyon, France. Report No. 82. pp. 1–556, 2002..

IARC., International Agency for Research on Cancer. Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans, World Health Organization, some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. In.: **Summary of data reported and evaluation**, v. 82, p. 171-175. Lyon, 2010.

IBGE. *Pesquisa de orçamento Familiar 2008-2009*, Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, p. 51, 2011.

IHESHIULOR, O.O.M., ESONU, B.O., CHUWUCA, O.K. et al. Effects of mycotoxins in animal nutrition: a review. **Asian Journal of Animal Sciences**, v.5, n.1, p.19-33, jul., 2011.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). DOQ-CGCRE-008. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. Rio de Janeiro: INMETRO, 2007. 24 p.48

INSTITUTO AGRÍCOLA DO PARANÁ *Seminário regional sobre produção e uso de biodiesel bacia do paraná III*. Disponível em: <<http://www.iapar.br/biodiesel/progr.pdf>>. Acesso em: 3 jul. 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Online. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, 2008. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=%20com_remository&Itemid=0&func=select&orderby=1> Acesso em: dez 2012.

IQBAL, S.Z., MUHAMMAD R.A., MOHAMMAD Z., NOREEN A., AND NITASHA B. 2013. "Aflatoxins contamination in peanut and peanut products commercially available in retail markets of Punjab, Pakistan." **Food Control** 32(1): 83–86. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512006263> (March 1, 2013).

JAIMEZ, J.; FENTE, C.A.; VAZQUEZ, B.I.; FRANCO, C.M.; CEPEDA, A.; MAHUZIER, G. PROGNON, P. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. **Journal of Chromatography** a. v. 882, p. 1-10, 2000.

JAY, J.M. **Modern Food Microbiology**. Gaithersburg: Aspen, 2006. 854p

JELINEK, C. F. Distribution of mycotoxins na analysis of world wide commodities data, including data from FAO/WHO/UNEP food contamination monitoring programme. International Conference on Mycotoxins, Bangkok. 49 p., 1988.

KOCABAS, C.N. et al. The effects of Aflatoxin B1 on the development kwashiokor in mice. **Hum exp Toxicol**, p. 155-153, Mar., 2003.

LAZZARI, F.A. Umidade, Fungos e Micotoxinas na Qualidade de Sementes, Grãos e Rações, Curitiba: Ed do autor, 1993.

LEESON, S.; DIAZ, G.J.; SUMMERS, J.D. Poultry metabolic disorders and mycotoxins. Guelph, University Books, 1995, 352p.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. Some nutritional implications of leg problems in poultry. **Br. Vet. J.**, v.44, n.1, p.81-92, 1988.

LOPES A.C.S., CAIAFFA W.T., MINGOTI S.A., LIMA-COSTA M.F.F. Ingestão Alimentar em Estudos Epidemiológicos. *Rev Bras Epidemiol*. 2003;6(3):209-19.

KUIPER-GOODMAN, T. Mycotoxins: risk assessment and legislation. **Toxicol. Lett.**, 82/83, 853-859, 1995.

LOPEZ, C., RAMOS, L., RAMADAN, S., BULACIO, L., PEREZ, J. Distribution of aflatoxin M1 in cheese obtained from milk artificially contaminated. **International Journal of Food Microbiology**, v.64, n.1, p.211-215, 2001.

MAGAN, N.; OLSEN, M. **Mycotoxins in food**: Detection and control. Woodhead Publishing Limited: Cambridge, England. 2000.

MAGAN, N.; ALDRED, D. Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *International Journal of Food Microbiology*, v.119, p.131-139, 2007

MALLMANN, C.A.; SANTURIO, J.M.; WENTZ, I. Aflatoxinas – Aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. *Ciência Rural*, v.24, n.3, p.635-643, 1994.

MARTINS, R. *Amendoim: desafios da produção agrícola ao processamento industrial*. Instituto de Economia Agrícola, São Paulo, 6 out. 2005. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?cod_Texto= 3573> Acesso em: 23 ago. 2012.

MALLMANN CA, KAWALSKI CH, ALMEIDA CA, MÜRMAN L AND SILVEIRA VG, **Prevalência de aflatoxinas em amendoim e seus derivados, destinados ao consumo humano, no estado do Rio Grande do Sul** 2003.

MAZIERO, M.T.; BERSOT, L.S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.12, n.1, p.89-99, 2010.

MILLER, J.D. Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. **J. STORED PROD. RES.**, v. 31, n. 1, p. 1-16, 1995.

MOSS, M.O. Recent studies of mycotoxins. **Journal Applied Microbiol.** Symposium, v. 84, p. 62S-76S, 1998.

NAKAI V.K., ROCHA L.O., GONÇALEZ E., FONSECA H., ORTEGA E.M.M, CORRÊA B., Distribution of fungi and aflatoxins in a stored peanut variety. **Food Chem.** 106: 285-290 2008.

NGINDU, A., JOHNSON, B.K., KENYA, P.R., NGIRA, J.A., OCHENG, D.M., NANDWA, H., OMONDI, T.N., JANSEN, A.J., NGARE, W., KAVITI, J.N. Outbreak of acute hepatitis caused by aflatoxin poisoning in Kenya. *Lancet* 1, 1346–1348 1982.

OGUZ H; KURTOĞLU, F; KURTOĞLU, V. et al. Evaluation of biochemical characters of broiler chickens during dietary aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. **Research Veterinary Science**, v.73, n.1, p.101-103, ago., 2002.

OLIVEIRA, C. A. F., FRANCO, R. C., ROSIM, R. E., & FERNANDES, A. M. Survey of aflatoxin M1 in cheese from the North-east region of São Paulo, Brazil. **Food Additives and Contaminants**, v.4, n.1, p.57-60, 2011.

Oga, S., 1996. Fundamentos de toxicologia São Paulo, SP.

OLIVEIRA, M.S.; PRADO, G.; JUNQUEIRA, R.G. Comparação das técnicas de cromatografia em camada delgada e ELISA na quantificação de aflatoxinas em amostras de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, n.3, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01012061200000300015&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 3 jul 2012.

OPAS. Micotoxinas. Criterios de Salud Ambiental, 11. Whashington, 1983, 131p.

PEREIRA, M. L., TOLEDO, M. C. F. Micotoxinas: impacto na saúde humana e animal e sua detecção pelo método de ELISA. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária da UFMG**, v. 13, n.1, p. 5-27, 1995.

PRADO, G. Influência da irradiação gama (Co60) na microbiota fúngica e na aflatoxina B1 em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). 186 p. 2005. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PRO AMENDOIM. Disponível em: <<http://www.proamendoim.com.br>> Acesso em: 1 ago. 2012.

RAMOS, C.R.B.A.; BRASIL, E.M.; GERALDINE, R.M. Avaliação de métodos de extração, limpeza e purificação de aflatoxinas para análise em cromatografia líquida de alta eficiência. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n. 2, p. 103-108, jun. 2008.

RASFF. The Rapid Alert System for Food and Feed. Annual Report 2010. Luxembourg, **European Communities**, 2011. Disponível em: <<http://ec.europa.eu/RASFF>> Acesso em: 17 fev., 2013.

REN, Y., ZHANG, Y., SHAO, S., CAI, Z., FENG, L., PAN, H., et al. Simultaneous determination of multi-component mycotoxin contaminants in foods and feeds by ultraperformance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1143, n.2, p.48-64, 2007.

RITTER, A. C.; HOELTZ, M.; NOLL, I. B. Toxigenic potential of *Aspergillus flavus* tested in different culture conditions. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 3, set., 2011.

ROSSETTO, C.A.V., SILVA, O.F., ARAÚJO, A.E.S., Influência da calagem, da época de colheita e da secagem na incidência de fungos e aflatoxinas em grãos de amendoim armazenados. *Ciência Rural* 35, 309e315; 2005..

ROTHSCHILD, L.J. IARC classes AFB1 as class 1 human carcinogen. **Food Chem. News**, v. 34, p. 62-66, 1992.

RUBIO, R.; MOYA, V. J.; BERRUGA, M. I. et al. Aflatoxin M(1) in the intermediate dairy products from Manchego cheese production: distribution and stability. **MLJEKARSTVO**, v.61, n.4, p.283-290, 2011.

SABINO, M. Micotoxinas em Alimentos. In: OGA, S. (Ed.), **Fundamentos de Toxicologia**. São Paulo: Atheneu Editora, 1996, p.461-472.

SABINO M., MILANEZ T.V., LAMARDO L.C.A., INOMATA E.I., ZORZETTO M.P, NAVAS S.A. et al. Occurrence of aflatoxins in peanuts and peanut products consumed in the state of São Paulo/Brazil from 1995 to 1997. **Rev Microbiol.** 1999; 30: 85-88.

SALLE, C. T. P.; LORENZINI, G.; SFOGGIA, M. V. Presença de aflatoxinas em fígados de frangos de corte criados a campo. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 29, n. 2, p. 101-106, 2001.

SEGALÉS, J.; DOMINGO, M.; CHIANINI, F.; MAJÓ, N.; DOMINGUEZ, J.; DARWICH, L; MATEU, E. Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. **Vet. Microbiol.**, v. 98, p. 151-158, 2004.

SANTIN, E. Micotoxicoses. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. (Eds.). Doenças das aves. Campinas: FACTA, 2000. p.379-388

SANTOS, C.C.M., LOPES, M.R.V., KOSSEKI, S.Y., 2001. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de São José de Rio Preto/SP. **Rev. Inst. Adolfo Lutz** 60, 153e157.

SEKIYAMA, B.L.; RIBEIRO, A.B.; MACHINSKI, P.A. and MACHINSKI JUNIOR, M., Aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in maize-based food products. **Braz. J. Microbiol.** [online]. 2005, vol.36, n.3, pp. 289-294. ISSN 1517-8382.

SERCK-HANSEN., A. Aflatoxin-induced fatal hepatitis? A case report from Uganda. **Arch. Environ. Health** 20, 729–731, 1970.

SICHIERI R. Estudo de Validação do questionário de frequência de consumo de alimentos. In: Sichieri, R. **Epidemiologia da Obesidade**. Rio de Janeiro; 1998. p.14-22.

SILVA, J.O. Ocorrência de aflatoxina B1 em arroz consumido por militares do exército brasileiro por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência. 2005, 101 f. (Dissertação - Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

AFSAH-HEJRI, L.; JINAP, S.; ARZANDEH, S.; MIRHOSSEINI, H. Optimization of HPLC conditions for quantitative analysis of aflatoxins in contaminated peanut. **Food**

Control, v. 22, n. 3-4, p. 381–388, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713510002847>>. Acesso em: 8/2/2013.

EZEKIEL, C. N.; SULTYOK, M.; WARTH, B.; ODEBODE, A. C.; KRASKA, R. Natural occurrence of mycotoxins in peanut cake from Nigeria. **Food Control**, v. 27, n. 2, p. 338–342, 2012. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512001727>>. Acesso em: 8/2/2013.

HOELTZ, M.; EINLOFT, T. C.; OLDONI, V. P.; ALBERTO, H.; NOLL, I. B. The Occurrence of Aflatoxin B 1 Contamination in Peanuts and Peanut Products Marketed in Southern Brazil. , v. 55, n. April, p. 313–317, 2012.

HUANG, B.; HAN, Z.; CAI, Z.; WU, Y.; REN, Y. Simultaneous determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and M2 in peanuts and their derivative products by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 662, n. 1, p. 62–8, 2010. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20152266>>. Acesso em: 1/3/2013.

IQBAL, S. Z.; ASI, M. R.; ZUBER, M.; AKRAM, N.; BATOOL, N. Aflatoxins contamination in peanut and peanut products commercially available in retail markets of Punjab, Pakistan. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 83–86, 2013. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512006263>>. Acesso em: 1/3/2013.

SOREN, N. M.; JASH, S.; PRASAD, C. S. **Value Addition of Feed and Fodder for Dairy Cattle**. 2013.

SPEIJERS, G. J. A; SPEIJERS, M. H. M. Combined toxic effects of mycotoxins. **Toxicology letters**, v. 153, n. 1, p. 91–8, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15342085>>. Acesso em: 19/8/2013.

YOUNIS, Y. M. H.; MALIK, K. M. TLC and HPLC assays of a ⁻ atoxin contamination in Sudanese peanuts and peanut products. , v. 30, n. 1, 2003.

SLATER B., PHILIPPI S.T., MARCHIONI D.M., FISBERG R.M. Validação de Questionário de Frequência Alimentar - QFA: considerações metodológicas. **Rev Bras Epidemiol**. 2003;6(3):200-8

SMITH, J.E; ROSS, I.C. The toxigenic Aspergilli. In: Smith, J.E; Henderson, R.S. (Ed.). **Mycotoxins and animal foods**. London: CRC Press, 1991. p. 31-61.

SMITH, T.K., SEDDON, I.R. Synergism demonstrated between *Fusarium* mycotoxins. **Feedstuffs**, jun., p.12-17, 1998.

SOARES LMV, RODRIGUEZ-AMAYA DB. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenona and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multitoxin thin layer chromatographic method. **J. AOAC**. 72: 22-26; 1989.

SYLOS, C.M. Ocorrência de micotoxinas em alimentos brasileiros. Depto. de Alimentos e Nutrição - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista - Araraquara, 1994.

TEIXEIRA, A. Adequação e apresentação de parâmetros de validação intralaboratorial de um ensaio para a quantificação de Aflatoxina em Castanha- do-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Serodopéia, 2008, 57f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

AFSAH-HEJRI, L.; JINAP, S.; ARZANDEH, S.; MIRHOSSEINI, H. Optimization of HPLC conditions for quantitative analysis of aflatoxins in contaminated peanut. **Food Control**, v. 22, n. 3-4, p. 381–388, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713510002847>>. Acesso em: 8/2/2013.

EZEKIEL, C. N.; SULYOK, M.; WARTH, B.; ODEBODE, A. C.; KRKA, R. Natural occurrence of mycotoxins in peanut cake from Nigeria. **Food Control**, v. 27, n. 2, p. 338–342, 2012. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512001727>>. Acesso em: 8/2/2013.

HOELTZ, M.; EINLOFT, T. C.; OLDONI, V. P.; ALBERTO, H.; NOLL, I. B. The Occurrence of Aflatoxin B 1 Contamination in Peanuts and Peanut Products Marketed in Southern Brazil. , v. 55, n. April, p. 313–317, 2012.

HUANG, B.; HAN, Z.; CAI, Z.; WU, Y.; REN, Y. Simultaneous determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and M2 in peanuts and their derivative products by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 662, n. 1, p. 62–8, 2010. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20152266>>. Acesso em: 1/3/2013.

IQBAL, S. Z.; ASI, M. R.; ZUBER, M.; AKRAM, N.; BATOOL, N. Aflatoxins contamination in peanut and peanut products commercially available in retail markets of Punjab, Pakistan. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 83–86, 2013. Elsevier Ltd. Disponível

em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512006263>>. Acesso em: 1/3/2013.

SOREN, N. M.; JASH, S.; PRASAD, C. S. **Value Addition of Feed and Fodder for Dairy Cattle**. 2013.

SPEIJERS, G. J. A; SPEIJERS, M. H. M. Combined toxic effects of mycotoxins. **Toxicology letters**, v. 153, n. 1, p. 91–8, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15342085>>. Acesso em: 19/8/2013.

YOUNIS, Y. M. H.; MALIK, K. M. TLC and HPLC assays of aflatoxin contamination in Sudanese peanuts and peanut products. *J. Food Sci.*, v. 30, n. 1, 2003.

U.S. Food and Drug Administration, FDA. Guidance for industry: Action levels for poisonous or deleterious substances in human food and animal feed. 2011. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ChemicalContaminantsandPesticides/ucm077969.htm>> . Acesso em: 15 jan., 2013.

WANG J.; LIU X.M. Contamination of aflatoxins in different kinds of foods in China. **Biomed. Environ Sci.** 2007; 20: 483-487.

WEB of Knowledge. Aflatoxins: Citations in Each Year. Disponível em: <apps.isiknowledge.com> Acesso em: 21 jan. 2013.

WHO. World Health Organization. Global Strategy for Food Safety: safer food for better health. Food Safety Programme. Geneva, Switzerland.2002.

WHO. World Health Organization. Global Strategy for Food Safety: safer food for better health. Food Safety Programme. Geneva, Switzerland.2011.

WILLETT W.C. Invited commentary: a further look at dietary questionnaire validation. **Am J Epidemiol.** 2001 Dec 15;154(12):1100-2; discussion 5-6.

WILLETT W.C. Future directions in the development of food-frequency questionnaires. **Am J Clin Nutr.** 1994;59(Suppl):171S-4S.

WILLETT W.C., HOWE G.R., KUSHI L.H., Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **Am J Clin Nutr.** 1997 Apr;65(4 Suppl):1220S-8S; discussion 9S-31S. Zulkifli SN, Stella MY. The food frequency method for dietary assessment. *J Am Diet Assoc.* 1992;92(6):681-5.

WONG, G.J. Mycotoxins and mycotoxicoses: aflatoxin. Botany 135: **Magical Mushrooms and mystical molds**. Honolulu, 1998.

WYATT, R.D. Formas prácticas para disminuir exitosamente las pérdidas por micotoxicosis. I. **Aflatoxinas. Avicultura Profesional**, v.11, n.2, p.64-67, 1993.

ANEXO



Anexo I – (QCFPA) Exemplo do Questionário de Consumo e Frequência de Consumo de doce derivado de amendoim “paçoca”.

Questionário

Consumo de doce de amendoim “paçoca”.

Entrevistado: _____ Local: _____

Data: _____ Hora: _____ Idade: _____ Peso: _____ Altura: _____

Sexo:

M

F

Com que frequência você consome paçoca?

Peso Ingerido por unidade?

Frequência	Quantidade de consumida										Tipo de paçoca	Peso/ unidade	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Diária													
1 vez/semana													
2 vezes/sema													
3 vezes/semana													
1 vez/mês													
1 vez/ano													
2 vezes/ano													
3 vezes/ano													

Outros: _____

Antes de consumir o alimento você lê a rotulagem nutricional?

Sim

Não

Você sabe o que são aflatoxinas?

Sim

Não

Quando você consome paçoca se preocupa com isso (aflatoxinas)?

Sim

Não