

Importância da Contaminação de Alimentos por Aflatoxinas para a Incidência de Câncer Hepático

The Importance of Food Contamination by Aflatoxins for Liver Cancer Incidence

Tailane Ramos Sacramento

Faculdade de Tecnologia e Ciências – FTC, Itabuna, BA

tailane.rs23@gmail.com

Resumo: As aflatoxinas são um grupo de compostos tóxicos produzidos pelos fungos *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, os quais ingeridos através de produtos alimentícios podem levar ao desenvolvimento de câncer em humanos. Nesse sentido, o presente estudo objetivou relacionar a incidência de neoplasias à ingestão de alimentos contaminados pela referida toxina, a partir de uma revisão de literatura. Existem mais de 20 tipos de aflatoxinas e derivados isolados, sendo os principais B₁, B₂, G₁, G₂, M₁. Dentre eles, a aflatoxina B₁ possui um maior poder toxigênico, considerada um pró-carcinógeno, sua forma ativada é capaz de se ligar ao DNA e causar alterações no gene supressor de tumor p53, com consequente perda do controle do crescimento de hepatócitos. Pesquisas do Departamento de Saúde de Pittsburgh relatam o papel causal da substância tóxica em 4,6% a 28,2% de todos os casos de carcinoma hepático globais. Devido à dificuldade de descontaminação do alimento, existe uma necessidade de monitoramento frequente da presença de aflatoxinas em produtos alimentícios e incentivo à educação nutricional da população, sobretudo nos países emergentes.

Palavras-chave: aflatoxina B₁; aflatoxinas; alimentos; carcinoma hepatocelular.

Abstract: Aflatoxins are a group of toxic compounds produced by the fungi *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*, which once ingested through food products can lead to cancer development in humans. In this sense, this study aimed to associate the inci-

Recebido em 20/05/2015 - Aceito em 10/11/2015.

RECEN 18(1) p. 141-169 jan/jun 2016 DOI: 10.5935/RECEN.2016.01.07

dence of neoplasms associated with the ingestion of contaminated foods by such toxin based on literature review. Studies show that there are over 20 types of aflatoxins and derived isolates, the main ones are B₁, B₂, G₁, G₂, M₁. Among them, aflatoxin B₁ has the greatest toxigenic power and it is considered pro-carcinogen. Its activated form is able to bind to DNA and cause changes in the p53 tumor suppressor gene, with consequent loss of control of the growth of hepatocytes. Research from Pittsburgh Department of Health report the causal role of the toxic substance in 4.6% to 28.2% of all cases of global hepatic carcinoma. Thus, considering the difficulty of decontaminating food, there is a need for frequent monitoring of the presence of aflatoxins in food products and also a need to encourage nutrition education of the population, especially in emerging countries.

Keywords: aflatoxin B₁; aflatoxins; food; hepatocellular carcinoma.

1 Introdução

Os fungos são elementos microbianos eucarióticos capazes de produzir substâncias tóxicas para o organismo humano e animal. Estes micro-organismos podem ser encontrados difundidos em qualquer parte do mundo, tanto no ar como no solo, e principalmente nos alimentos [1,2].

As espécies que mais trazem prejuízos ao homem são aquelas capazes de atacar e sobreviver em produtos alimentícios, pois ali liberam metabólitos secundários denominados de micotoxinas [3].

A contaminação alimentar por cepas de fungos toxigênicos representa um sério problema de saúde pública, em particular, nos países emergentes que nem sempre praticam as técnicas de colheita e os cuidados pós-colheita para prevenção do desenvolvimento fúngico [2].

O Brasil, por ser um país tropical, apresenta condições favoráveis ao crescimento de fungos toxigênicos, situação agravada pela utilização de práticas agrícolas inadequadas e pelo fato das micotoxinas possuírem alta estabilidade química [4,5].

Dentre as micotoxinas de grande interesse médico-sanitário e de importância agro-econômica, visto as consequências de sua ação danosa sobre os alimentos, encontram-

se a deoxinivalenol, a ocratoxina e as aflatoxinas [3].

As aflatoxinas, caracterizadas pela sua alta toxicidade e ampla ocorrência, são compostos tóxicos produzidos pelos fungos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*, conhecidos como aflatoxigênicos desde os anos 60 [6,7].

A presença de aflatoxinas em alimentos destinados ao consumo humano tem sido associada a efeitos adversos agudos e crônicos, os quais variam de acordo com o tempo de exposição, a dose, a dieta, o estado nutricional, o gênero e a idade do indivíduo. Estudos epidemiológicos realizados com populações expostas e experimentos feitos em animais levaram a classificação das aflatoxinas como carcinógeno humano do Grupo 1 pela Organização Mundial de Saúde (OMS) [8].

Existem mais de 20 tipos de aflatoxinas e derivados isolados, sendo os principais B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁) e G₂ (AFG₂). Dentre eles, a AFB₁ possui um maior poder toxigênico, seguida da AFG₁, AFB₂ e AFG₂. Além dos efeitos carcinogênicos, têm propriedades teratogênicas e mutagênicas [3].

O fígado constitui o órgão-alvo primário para esses compostos, uma exposição em curto prazo produz necrose e degeneração lipídica, quadro denominado de aflatoxicose. A ingestão de baixos teores das micotoxinas, com uma dada frequência e por tempo prolongado, pode resultar em carcinomas hepáticos [7,9].

Desde a descoberta das aflatoxinas, diversos países adotaram limites de tolerância para estas toxinas em alimentos destinados ao consumo humano. Porém, não está claro se as quantidades admissíveis oferecem risco significativo para o desenvolvimento de patologias [10].

Nesse contexto, o presente trabalho se propõe a realizar uma pesquisa bibliográfica, de cunho exploratório, baseado na análise de literaturas publicadas em forma de artigos, livros, revistas, dentre outros, com objetivo de demonstrar a incidência das aflatoxinas em alimentos, seu alto poder de toxicidade e seus efeitos para a saúde humana, destacando a carcinogenicidade da AFB₁. Pretende-se abordar os sérios danos hepáticos que essa aflatoxina pode causar ao homem, os prejuízos financeiros ocasionados pelas toxinas e formas de prevenir a contaminação alimentar.

2 Micotoxinas: definições e mecanismo de ação

O termo micotoxina (do grego *Mikes* = fungo, do latim *Toxicum* = veneno) é utilizado para descrever um conjunto complexo de substâncias químicas produzidas por fungos filamentosos [3].

Desde a antiguidade, há relatos sobre micotoxinas e suas consequências estão relacionadas ao início da atividade agrícola. Durante toda a Idade Média, epidemias de ergotismo foram descritas [2].

Porém, no ano 1960, a doença X dos perus trouxe uma maior atenção para as implicações das micotoxinas à saúde, quando o surto de aflatoxicose vitimou milhares de aves na Inglaterra. Os filhotes de perus desenvolviam letargia, anorexia e fraqueza muscular, seguidos de espasmos e morte. Pesquisas constataram que o surto estava relacionado a ração composta de amendoim importado do Brasil, contaminada por uma substância fluorescente produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*, então denominada aflatoxina [7].

As micotoxinas compreendem um grupo de metabólitos secundários tóxicos de baixo peso molecular que, quando ingeridos com os alimentos, causam prejuízos à saúde humana [11].

Cerca de 300 micotoxinas já foram descritas, destas 20 são encontradas em alimentos e rações a níveis considerados de risco para o organismo. Dentre elas, as mais incidentes são as aflatoxinas produzidas por *Aspergillus* spp., das quais destacam-se os tipos B₁, B₂, G₁ e G₂; a patulina produzida por diversos fungos, entre eles espécies de *Penicillium*; as fumonisinas e os tricotecenos originárias de espécies do gênero *Fusarium*, e as ocratoxinas que têm como produtores fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*. No entanto, a aflatoxina é a mais significativa por sua elevada ação tóxica e ampla ocorrência [6].

Devido a essa toxicidade e elevada resistência ao calor, a presença de micotoxinas em produtos alimentícios se configura como um problema para a saúde pública. Essas substâncias tóxicas, sintetizadas por fungos que colonizam cultivos e alimentos armazenados, também afetam o agronegócio de diversos países, por interferir na exportação e reduzir a produção agropecuária [7, 12].

Os países emergentes têm maiores prejuízos, visto que os produtos de boa qualidade são exportados e aqueles de qualidade inferior, com níveis de micotoxinas superiores aos permitidos pelos importadores, são destinados ao mercado interno [13].

A esta situação acresce o fato de que a liberação das micotoxinas depende do crescimento fúngico e, portanto pode ocorrer em qualquer estágio da cultura dos grãos [14]. A contaminação por micotoxinas pode ocorrer ao longo das fases da cadeia alimentar: cultivo, colheita, armazenamento, transporte, e processamento [15].

Os fungos *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, principais produtores de aflatoxinas, atacam os produtos alimentícios no período de armazenamento. Os fatores que influenciam o seu desenvolvimento são o tempo, a temperatura, o conteúdo de umidade do substrato, o grau de invasão fúngica antes da estocagem e a atividade de insetos e ácaros que propiciam a disseminação [16]. A temperatura, um dos principais fatores envolvidos nesse processo, em grãos, possui faixa ideal entre 12 e 37 °C [6].

Nesse sentido, se for controlado o crescimento fúngico, será estabilizada a produção de micotoxinas [17]. Ainda, as micotoxinas encontradas nos mais diversos tipos de cereais, oleaginosas e frutos ficam concentradas em determinados pontos do alimento, denominado de foco fúngico. E, com base em pesquisas e estudos já realizados, é possível determinar quais produtos alimentícios possuem maior susceptibilidade à invasão por fungos toxigênicos, o que auxilia na prevenção de intoxicações [11].

A intoxicação humana ocorre através da contaminação direta ou indireta de alimentos. Na primeira, o produto é atacado por um fungo toxigênico e em seguida há formação dos metabólitos tóxicos. A contaminação direta, por outro lado, ocorre quando as micotoxinas permanecem no produto final, mesmo depois da eliminação do fungo durante o processamento [1]. Por conseguinte, a exposição à micotoxinas causa desde lesões cutâneas, sintomas de hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, hematotoxicidade ou genotoxicidade, até a morte. Os possíveis efeitos tóxicos estão relacionados à indução de carcinogênese, depressão do sistema imunitário, degeneração das funções renais e danos no sistema endócrino [3].

Contudo, pelo fato das micotoxinas afetarem a economia, tem se elevado o interesse da ciência e indústria nacional em explanar o conhecimento a fim de amenizar os efeitos deletérios desses compostos. Todavia, para Cruz [13] embora haja um au-

mento da realização de pesquisas no Brasil, pouco tem sido feito para se analisar e quantificar o impacto das micotoxinas em alimentos no país. Desse modo, estudos sobre a incidência dos metabólitos fúngicos em produtos alimentícios são importantes para reforçar a prevenção e controle da contaminação.

3 Aflatoxinas e contaminação de alimentos

As aflatoxinas são metabólitos secundários que podem ser sintetizados pelas espécies de fungos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*. Estes micro-organismos têm a capacidade de se desenvolver em inúmeros produtos alimentícios, como milho, trigo, farinha de trigo, cevada, nozes, arroz, amêndoa, amendoim, feijão, coco, gengibre, frutas, pimentão-doce, frutas secas e cerveja, além de estar presente em rações e produtos de origem animal contaminados por rações [7, 11].

Os fungos toxigênicos podem infectar os cultivos em crescimento e produzir toxinas antes da colheita, durante essa e após seu armazenamento, quando as condições seguras não forem praticadas [15].

A intoxicação do homem pelas aflatoxinas se dá de forma direta e indireta, a primeira ocorre pelo consumo de alimentos com a toxina e a última pelo consumo de produtos derivados de animais, que tiveram sua ração contaminada, como leite, carne e ovos [1].

A ingestão de produtos alimentícios contaminados pela micotoxina produz diversos efeitos tóxicos em seres humanos, quadro designado de aflatoxicose. Fatores como idade, estado nutricional, extensão da exposição e possíveis efeitos sinérgicos de outros agentes químicos influenciam na severidade da intoxicação [3].

As aflatoxinas, derivadas do bisfurano cumarina, também estão envolvidas na etiologia do carcinoma hepático em humanos [18]. Segundo a *Food and Drug Administration*, o fígado constitui o órgão alvo primário. Além desse, o rim, baço e pâncreas podem ser afetados pelas propriedades mutagênicas, carcinogênicas e teratogênicas da micotoxina [3].

Mais de vinte substâncias compõem o grupo das aflatoxinas, as principais com relevância médico-sanitário são B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁) e G₂ (AFG₂). A AFB₁ e AFB₂ quando sofrem hidroxilação originam as aflatoxinas M₁ e M₂, encon-

tradas nos produtos lácteos e carne, a AFB₁, também pode formar aflatoxicol por meio de redução enzimática (Figura 1). Entre os metabólitos, o que apresenta maior poder toxigênico e concentração nos substratos é a AFB₁, seguida da AFG₁, AFB₂ e AFG₂ [2].

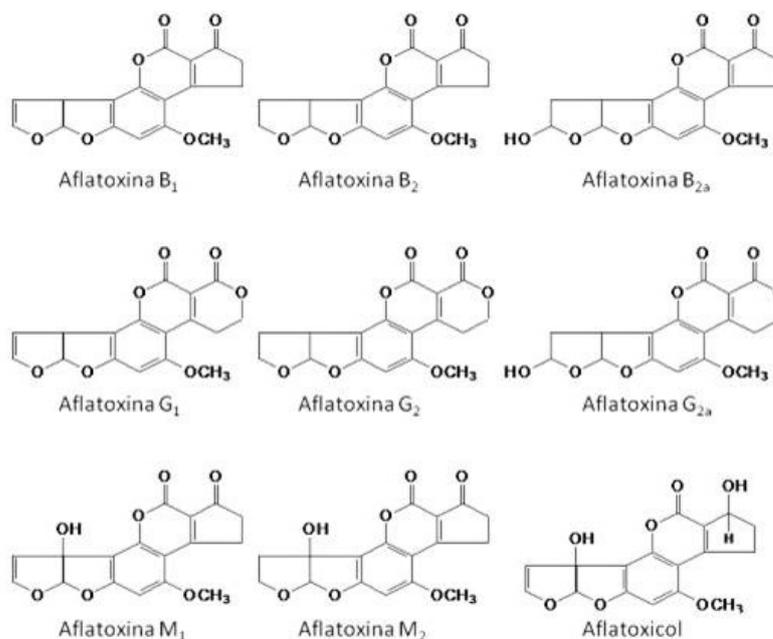


Figura 1. Estrutura química das principais aflatoxinas. Fonte: MAIA, SAKATA e SABBAG [7]

As aflatoxinas se caracterizam por possuir baixo peso molecular, solubilidade em solventes polares e termoestabilidade. Ainda apresentam fluorescência sob luz ultravioleta, aspecto utilizado em procedimentos de identificação [19]. As aflatoxinas B₁ e B₂ recebem essa denominação por emitirem fluorescência azul (*Blue* em inglês), e as aflatoxinas G₁ e G₂ devido apresentarem fluorescência verde (*Green* em inglês) [8].

Na tabela 1, apresentam-se as principais características físicas e químicas das aflatoxinas de maior relevância na saúde humana.

A termoestabilidade permite que as aflatoxinas resistam a determinados tratamentos térmicos, assim elas podem permanecer no alimento mesmo após a eliminação do fungo [1, 8].

Tabela 1. Características físicas e químicas das principais aflatoxinas

Aflatoxina	Fórmula química	Massa molecular	Temperatura de fusão °C	Emissão de fluorescência (nm) e cor sob luz UV
AFB ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	269	425 – azul
AFB ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289	425 – azul
AFG ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	244-246	450 – verde
AFG ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	330	237-240	450 – verde
AFM ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299	425 – violeta azulada
AFM ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293	425 – violeta
Aflatoxicol	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	230-234	425

Fonte: Drumond [2]

4 Metabolismo hepático da aflatoxina B₁

Por possuir características lipofílicas e baixo peso molecular, as aflatoxinas são facilmente absorvidas após a ingestão. O local de absorção é o intestino delgado, sobretudo no duodeno, por difusão passiva [20].

Depois de passar pela mucosa do trato gastrointestinal, a micotoxina segue para o fígado através do suplemento sanguíneo do sistema portal hepático. No fígado, ficam concentradas devido à alta permeabilidade da membrana do hepatócito a essas toxinas e ao processo de biotransformação pelas enzimas presentes na célula hepática [3].

O metabolismo hepático da aflatoxina B₁, em especial, envolve a ação de enzimas microssomais do sistema de funções oxidases mistas, pertencentes à superfamília do citocromo P-450. Devido ao seu potencial carcinogênico, a biotransformação da AFB₁ tem sido a mais estudada [10].

A forma pura da AFB₁ não tem propriedade mutagênica e é biotransformada nos compostos AFP₁, AFB₁-epóxido (tóxico, mutagênico e carcinogênico), AFBa₂, aflatoxicol e AFM₁ (tóxica) (Figura 2). Alguns desses produtos de biotransformação podem ser revertidos em outros ou convertidos em produtos de detoxificação. O aflatoxicol, por exemplo, pode ser reconvertido em AFB₁ e também se converter em aflatoxicol M₁, este, por sua vez, é potencialmente convertido em AFM₁ ou ainda

transformado em compostos conjugados com ácido glicurônico [21, 22].

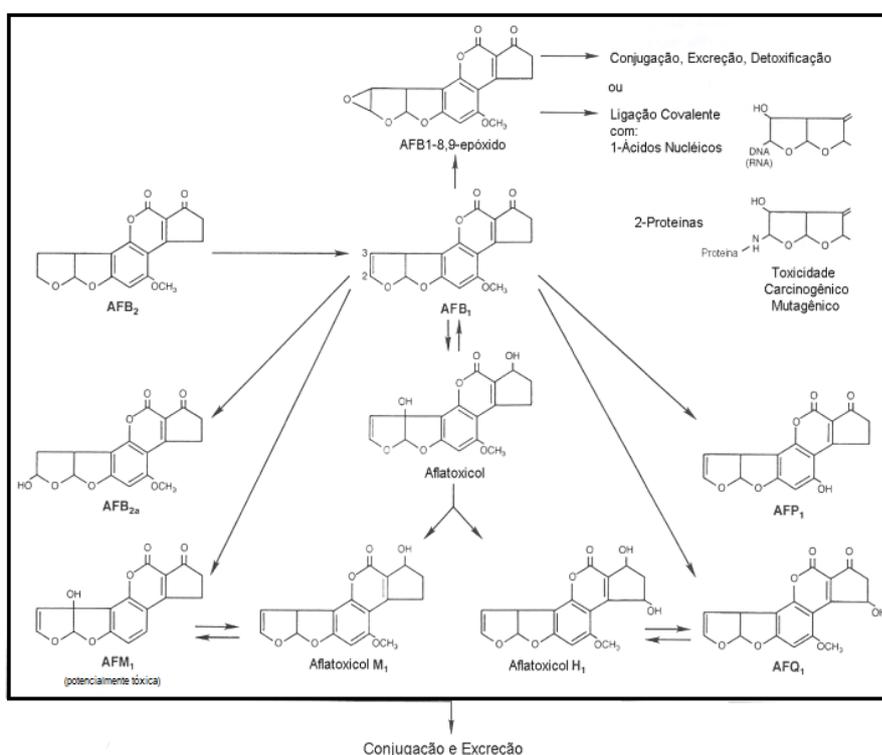


Figura 2. Biotransformação da aflatoxina B₁. Fonte: FASSBINDER [3]

Os efeitos tóxicos da AFB₁ estão relacionados com o fato desta sofrer bioativação. Processo que, segundo a maioria dos especialistas, classifica a micotoxina como um pró-carcinógeno, cuja forma ativada é o 8,9-óxido de AFB₁ ou AFB₁-epóxido. Este composto possui a capacidade de reagir por ligações covalentes com o ácido desoxirribonucléico (DNA), ácido ribonucléico (RNA) e proteínas, originando adutos, responsáveis pela lesão bioquímica primária produzida pelas aflatoxinas [13].

A AFB₁-epóxido ao se ligar com o DNA modifica a sua estrutura e, por conseguinte, sua atividade biológica, desencadeando os mecanismos básicos dos efeitos mutagênicos e carcinogênicos da AFB₁. A formação dos adutos ocorre através da ligação com guaninas da molécula de DNA, na posição N7, ao nível do códon 249, do gene supressor de tumores p53, que perde a função de controlar a duplicação celular e passa a acelerar a proliferação das células e a carcinogênese. Essa ocorrência é

característica de vários carcinomas, sobretudo hepáticos [23].

A carcinogênese envolve duas fases distintas denominadas iniciação e promoção do câncer. A fase de iniciação resulta de mutações ocorridas a nível celular, e a promoção neoplásica relaciona-se com a expressão fenotípica das modificações primárias. As lesões bioquímicas geradas em RNA e proteínas caracterizam mecanismos de toxicidade aguda da AFB₁ por conduzir à morte celular pela inativação de macromoléculas essenciais às células [7].

Além da epoxidação, a biotransformação primária da AFB₁ inclui a hidroxilação, para formar as aflatoxinas M₁ (AFM₁), Q₁ (AFQ₁) e B_{2a} (AFB_{2a}); e, O-demetilação, para formar a aflatoxina P₁ (AFP₁). Por serem solúveis em água, essas substâncias podem ser excretadas através da urina ou bile e, nas fezes, ainda, em lactentes e animais em lactação a AFM₁ é eliminada no leite (Figura 3). Característica que sugere a participação destes derivados no processo de detoxificação da AFB₁ [10].

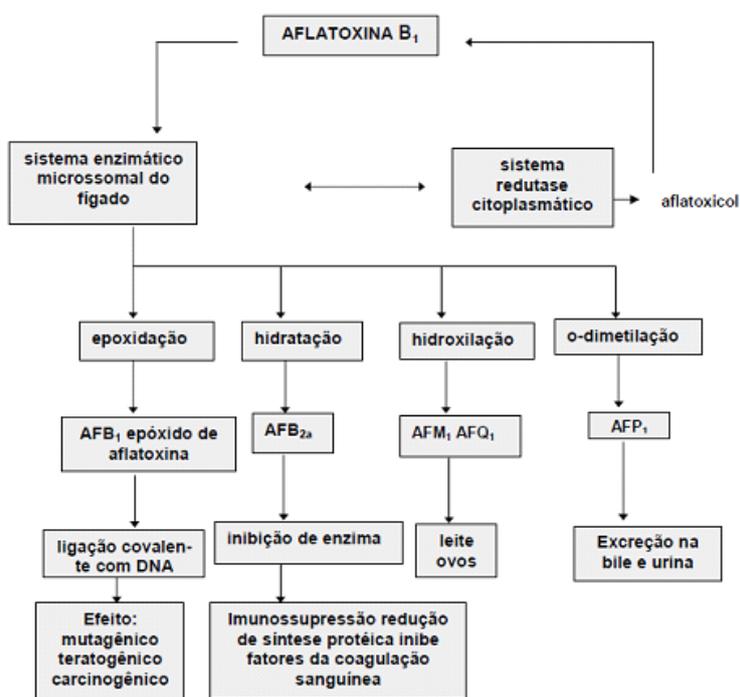


Figura 3. Metabolismo hepático da aflatoxina B₁. Fonte: SILVA [21]

5 Aflatoxina B₁ e carcinoma hepático em humanos

O câncer é uma alteração neoplásica ocasionada por mudanças no material genético (DNA), denominadas mutações que levam ao crescimento desordenado de células capazes de invadir tecidos e órgãos [24].

Existem vários tipos de câncer devido à diversidade de células encontradas no corpo humano. O carcinoma hepatocelular (CHC), uma neoplasia epitelial agressiva, tem sua origem nos hepatócitos [24].

O hepatocarcinoma é uma das neoplasias malignas mais comuns no mundo, com predomínio em alguns países da África, Ásia e ilhas do Pacífico. A incidência do CHC é maior nos homens do que nas mulheres, em idade de 30 a 50 anos. Os países mais incidentes são Moçambique, Zimbábue, Etiópia, China (costa sudoeste) e Taiwan [8].

As diferenças extremas observadas na prevalência do CHC entre os diversos países revelam envolvimento de fatores ambientais em sua etiologia. Dentre os fatores identificados, as aflatoxinas e o vírus da hepatite B (HBV) possuem maior importância [10].

Segundo Baggio [8] a exposição a AFB₁ potencializa o risco de carcinoma hepático quando associada ao HBV, que atua como favorecedor da manifestação fenotípica do tumor causado pela toxina. Na China, Vietnã e África do Sul, essa combinação de aflatoxina com a exposição ao vírus da hepatite B aumenta os riscos de ocorrência de câncer de fígado em 60 vezes [25].

Evidências experimentais que derivam da extrapolação para o homem de resultados obtidos em estudos de biotransformação, mutagenicidade e carcinogenicidade em animais e nas preparações *in vitro* indicam que as aflatoxinas constituem um fator de risco para o CHC. Os estudos epidemiológicos com seres humanos também amparam a hipótese de que em áreas geográficas contaminadas frequentemente por aflatoxinas há uma incidência de CHC mais acentuada [10].

A tabela 2 apresenta os resultados de alguns trabalhos que mostram uma forte correlação entre a incidência de câncer hepático e o grau de exposição à aflatoxina.

Na China e na África sub-saariana, cerca de 250.000 mortes são ocasionadas por CHC anualmente, atribuídas, muitas vezes às aflatoxinas e ao HBV. Em Moçambique,

país no qual existe um consumo regular de alimentos contaminados pelas toxinas, a incidência de câncer no fígado é de aproximadamente, 13 casos por 10.000 habitantes ao ano [13].

Tabela 2. Relação entre a ingestão de AFB₁, excluídas outras causas, e a incidência de CHC, em países da África e Ásia

Regiões	Ingestão de AFB ₁ (µg/kg/dia)	Incidência do CHC (por 100.000/ano)
Quênia	3,5	1,2
	5,9	2,5
	10,0	4,0
Moçambique	20,3	5,9
	8,63	5,0
	77,7	12,1
	86,9	9,0
	87,7	15,5
	131,4	17,7
	183,7	14,0
Swazilândia	11,4	5,7
	14,3	2,9
	18,6	6,1
	32,9	11,1
	38,6	5,7
	40,0	9,2
	42,9	19,6
	72,9	23,7
	127,1	22,4
158,6	24,9	
República Popular da China	21,0	175,4
	157,0	182,2
	1232,0	288,5
	3545,0	613,5
Transkei	5,1	5,3
	18,0	3,2
	19,6	9,0
	23,2	10,3

Fonte: Oliveira e Germano [10]

Nesse contexto, pesquisas realizadas no Departamento de Saúde de Pittsburgh relatam o papel causal da aflatoxina em 4,6% a 28,2% de todos os casos de hepatocar-

cinoma globais [26].

Alguns estudos realizados têm sugerido que a AFB₁ participa da proto-oncogênese e também causa alterações no gene supressor de tumor p53, com consequente perda do controle do crescimento de hepatócitos [7].

Foi com base em trabalhos científicos divulgados que a Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC) concluiu, em 1987, que existem evidências suficientes para considerar a aflatoxina B1 como fator etiológico do câncer hepático em populações humanas. Com isso, a AFB₁ foi classificada na classe 1 dos carcinógenos humanos pela IARC [21].

Por outro lado, não existe até o momento uma caracterização completa da relação dose-resposta para as aflatoxinas no homem. Isto se deve, entre outras causas, ao fato de que, nos estudos epidemiológicos, em particular o apresentado na tabela 2, há uma imprecisão no grau de exposição, uma vez que se estima a partir dos níveis de contaminação por AFB₁ na dieta das populações, e não na dose efetivamente ingerida individualmente [10].

Nessa perspectiva, estudos feitos em amostras de soro e biópsia de cadáveres destas regiões que vieram a óbito por CHC revelam um percentual considerável de positividade para a presença de aflatoxina. Fato que reafirma o papel das aflatoxinas como um fator de risco para o carcinoma hepatocelular no homem, melhor do que os estudos e experimentos epidemiológicos, devido à dificuldade de cobaias humanas [3].

Dentro desse contexto, uma pesquisa desenvolvida nos Estados Unidos e publicada na revista Nature, edição datada de 22 de outubro de 2009, reforça a ação da aflatoxina sobre o organismo humano, ao retratar que a ingestão de forma crônica pode causar câncer do fígado.

Segundo o estudo, a toxina destrói o gene p53 que atua na prevenção de neoplasias em humanos, apontando que sem a proteção do p53, a aflatoxina pode comprometer a imunidade, de modo a causar uma grave desnutrição e, por fim, o câncer [25].

Assim, a ingestão dietética de aflatoxinas constitui um importante fator de risco para o CHC, de modo que se deve atentar quanto à origem de grãos e cereais, visto que quando armazenados em locais inadequados e úmidos podem ser contaminados pelo fungo *A. flavus*, produtor da substância cancerígena [24].

6 Incidência de aflatoxinas em alimentos

A exposição humana à micotoxinas pelo consumo de alimentos contaminados é uma questão de saúde pública mundial. A contaminação de produtos alimentícios pode ocorrer nas etapas de produção, processamento e distribuição. Com isso, programas de monitoramento dos níveis de contaminação alimentar por micotoxinas são essenciais para estabelecer prioridades em ações de vigilância sanitária [27].

O controle sobre os limites legais para aflatoxinas em alimentos e rações variam entre os países, com tendência a serem mais altos em países produtores de insumos agrícolas e mais baixos em nações consumidoras. A comissão europeia adverte níveis mínimos e estabelece limite de 2 ng/g de AFB₁ e, 4 ng/g para aflatoxina total em cereais, frutas secas e nozes para consumo humano [7]. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da RDC n 7, de 18 de fevereiro de 2011, determina os Limites Máximos Toleráveis (LMT) para micotoxinas em alimentos prontos para o consumidor e matérias-primas. Os LMT para aflatoxinas M₁, B₁, B₂, G₁ e G₂ variam de 0,5 a 20,0 µg/Kg (Tabela 3) [28].

Tabela 3. Limites máximos de aflatoxinas admissíveis em alimentos

Aflatoxina	Alimento	LMT (µg/kg)
M ₁	Leite fluído	0,5
	Leite em pó	5,0
	Queijos	2,5
B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	Cereais e produtos de cereais, exceto milho e derivados, incluindo cevada malteada	5,0
	Feijão	5,0
	Castanhas exceto Castanha-do-Brasil, incluindo nozes, pistachios, avelãs e amêndoas	10,0
	Frutas desidratadas e secas	10,0
	Castanha-do-Brasil com casca para consumo direto	20,0
	Castanha-do-Brasil sem casca para consumo direto	10,0
	Castanha-do-Brasil sem casca para processamento posterior	15,0
	Alimentos à base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	1,0

Aflatoxina	Alimento	LMT ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	Fórmulas infantis para lactentes e fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância	1,0
	Amêndoas de cacau	10,0
	Produtos de cacau e chocolate	5,0
	Especiarias: <i>Capsicum</i> spp. (o fruto seco, inteiro ou triturado, incluindo pimentas, pimenta em pó, pimenta de caiena e pimentão-doce); <i>Piper</i> spp. (o fruto, incluindo a pimenta branca e a pimenta preta), <i>Myristica fragrans</i> (noz-moscada), <i>Zingiber officinale</i> (gingibre), <i>Curcuma longa</i> (curcuma). Misturas de especiarias que contenham uma ou mais das especiarias acima indicadas	20,0
	Amendoim (com casca), (descascado, cru ou tostado), pasta de amendoim ou manteiga de amendoim	20,0
	Milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmolas de milho	20,0

Adaptado de: RDC nº 7 de 2011 [28]

Estima-se que 25% da produção mundial agrícola esteja contaminada por aflatoxinas, cujos níveis variam de um país para outro [29]. O Brasil tem cerca de 45% do milho produzido afetado pela ação das micotoxinas, o que leva a enormes prejuízos financeiros, pois representa uma perda estimada de 14 a 16 milhões de toneladas por ano [30].

Além dos produtos agrícolas, alimentos de origem animal também podem ser contaminados, o que leva a um risco de intoxicação humana por via indireta [3]. Nesse sentido, resultados de avaliações laboratoriais realizadas nos últimos 10 anos pelo Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC) em amostras dos principais ingredientes utilizados na nutrição animal (milho, trigo, arroz, farelo de trigo, farelo de arroz, farelo de soja, silagem e a própria ração) revelaram uma prevalência média de 41% para aflatoxinas [31].

Na maioria das vezes as aflatoxinas se encontram nos alimentos em concentrações muito baixas (ng/g) de forma a não causar alterações nas propriedades organolépticas, como o sabor e odor, o que dificulta sua constatação pelos consumidores, sendo que apenas um trabalho eficaz das autoridades competentes poderá evitar possíveis intoxicações [27].

Nesse contexto, é importante ressaltar que alguns produtos possuem maior susceptibilidade a sofrer contaminação, dentre aqueles cultivados no Brasil temos os cereais, que propiciam condições mais favoráveis ao fungo desde o campo até sua estocagem, seguido pelo amendoim, milho, feijão, trigo e cevada. Isto desperta atenção uma vez que se trata de alimentos comuns na cesta básica do consumidor e presentes na dieta alimentar diária do brasileiro [32].

Para Silva [21] a contaminação por aflatoxinas em amendoim é um problema que persiste no Brasil, devendo-se levar em conta além das condições climáticas (umidade e altas temperaturas), as práticas de colheita, secagem e armazenamento utilizado pelos produtores.

Os produtos vegetais têm por via de contaminação o contato com esporos fúngicos, dispostos, em sua maioria, no solo durante as etapas de colheita e secagem. E, apesar da aquisição de contaminantes também poder ocorrer antes da colheita, principalmente, em períodos chuvosos, as maiores concentrações de aflatoxinas estão nos grãos mal armazenados em ambientes quentes e úmidos [6].

Quando em condições ambientais adequadas, como temperatura entre 25-30 °C e atividade de água superior a 0,86, as aflatoxinas, produzidas após a fase de crescimento exponencial dos fungos *Aspergillus* spp., podem contaminar os alimentos. Entre eles, o amendoim que tem seu valor depreciado pela presença das toxinas, em virtude dos seus efeitos maléficos ao organismo humano [21, 33].

Uma vez que o cultivo do grão é realizado, em maior parte, por pequenos produtores que utilizam um sistema rudimentar de plantio e colheita, torna-se frequente a notificação do Brasil por países da União Europeia sobre níveis de contaminação acima do permitido pela legislação vigente [21].

Dentro desse cenário, estudos realizados em alguns estados brasileiros demonstraram motivos suficientes para despertar preocupação sobre a intoxicação pela aflatoxina nos produtos alimentícios.

Caldas, Silva e Oliveira [27] analisaram 366 amostras de alimentos (amendoim cru e derivados, milho de pipoca, milho em grão e castanha-do-Pará) consumidos no Distrito Federal, detectando-se a presença de aflatoxinas em 19,6% das amostras, dessas 98,5% continha AFB₁, o que indica seu potencial de contaminar os alimentos.

Em São Paulo, Santos, Lopes e Kosseki [34] avaliaram a contaminação por aflatoxina em amostras de amendoim e seus produtos no período de 1996-2000. Das 178 amostras analisadas (77 de amendoim cru, 31 pés-de-moleque, 48 paçocas, 22 outros derivados), 59 (33,2%) apresentaram contaminação por aflatoxinas B₁ + B₂ em níveis superiores a 30 µg/kg.

Ainda em São Paulo, na região de Marília, Silva et al [35] coletaram 75 amostras de amendoim e derivados no período de 2002-2009. Ao analisarem as amostras, foi verificado que 16% (4 amostras de amendoim e 8 de paçoca) estavam contaminadas por aflatoxinas em níveis > 2 µg/kg e todas continham AFB₁. Segundo os autores do estudo, apesar dos níveis de aflatoxinas serem baixos é fundamental continuar com o controle de qualidade na cadeia produtiva.

Na Bahia, Batatinha et al [36] detectaram aflatoxinas em 93,55% das 31 amostras analisadas de amendoim, sendo que 54,84% apresentaram teor de contaminação por B₁ + B₂ + G₁ + G₂ superior a 20 µg/kg.

Em Minas Gerais, na cidade de Viçosa, Botrel e Melo [37] analisaram 42 amostras de amendoim recolhidas de supermercados, destas 22 (52,4%) continham níveis de aflatoxinas acima do limite permitido pela ANVISA.

No município de Porto Alegre – RS, Oliveira e Koller [5] analisaram o grau de contaminação de amendoim e derivados utilizados na alimentação humana em 22 amostras (12 de amendoim *in natura* e 10 de paçoca). Foram constatadas a presença de aflatoxinas em 7 (60%) amostras de paçoca e 6 (58%) amostras de amendoim, dessas 2 tiveram níveis de contaminação superior a 20 µg/kg. Isso demonstra que a contaminação dos grãos *in natura* pelas toxinas pode ser tratado como um problema de saúde pública.

Além do amendoim, que revela uma elevada susceptibilidade à contaminação pela aflatoxina e apresentou os níveis mais altos de contaminação, também o arroz demonstra ser susceptível. E, por este se tratar de um dos alimentos que diariamente está na mesa do brasileiro, é importante conhecer seus níveis de contaminação fúngica, bem como de apurar as possíveis causas do ataque de fungos [38].

Nesse contexto, Silva [21] avaliou a presença de aflatoxinas em arroz beneficiado polido tipo 1, destinado ao consumo de Militares do Exército Brasileiro em Curitiba-

PR, entre 2003 e 2004. Um total de 30 amostras foram analisadas pelo método de Cromatografia de Camada Delgada (CCD), e nenhuma apresentou contaminação. Por outro lado, das 26 amostras analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), 6 (23,07%) apresentaram positividade para AFB₁ (0,54 a 2,04 µg/kg) e 1 (3,84%) continha AFB₂ (1,84 µg/kg).

No município de Lavras e região sul do estado de Minas Gerais, Carvalho [15] testou 36 amostras de arroz e apenas uma estava contaminada com aflatoxina B1 com um nível de 1,2 µg/kg.

Outro alimento com risco de contaminação é o milho. Bento et al [39] avaliaram 84 amostras de grãos de milho provenientes de diferentes municípios localizados em diferentes regiões do estado de Mato Grosso, referentes às safras 2009 e 2010. A ocorrência de aflatoxinas foi evidenciada em 19,04% das amostras da safra de 2009, e 23,80% da safra de 2010 apresentaram contaminação cujos valores variaram de 1µg/kg a 108,7 µg/kg. No estudo, a produção de aflatoxinas foi relacionada à infecção dos grãos em condições de campo.

Amaral et al [40] ao analisarem a quantidade de aflatoxina total, em produtos alimentícios à base de milho comercializados em Maringá e Marialva, Paraná, entre os anos 2003 e 2004, observaram uma baixa ocorrência das toxinas. Entretanto, foi observado que a Ingestão Diária Provável Média (IDP_M) de AFB₁ estava acima da Ingestão Diária Tolerável (IDT), que é de 0,15 ng/Kg p.c./dia, indicando um risco de hepatocarcinogenicidade na população brasileira da Região Sul do Brasil, devido ao consumo de alimentos à base de milho. Além disso, foi demonstrado que a IDP_M de AFB₁ pelo consumo de fubá é de 0,14 ng/Kg p.c./dia no Brasil, os níveis de exposição variam conforme a renda familiar e é maior na região Nordeste.

Já Mallmann et al [41] pesquisaram a incidência de aflatoxinas em nozes e frutas secas. A análise de 93 amostras, sendo 23 de nozes (castanhas, nozes e amêndoas) e 70 de frutas secas (uvas passas, damascos, ameixas secas e peras secas), revelou que 10,8% (10) dessas amostras apresentavam contaminação por aflatoxinas. As nozes apresentaram 21,7% (5) de positividade, seguidas pelas frutas secas com 7,1% (5). Uma amostra de ameixas secas apresentou 102 µg/kg de aflatoxinas, valor superior ao limite máximo pela legislação do Mercosul para alimentos destinados a dieta humana (20

µg/kg).

Além dos alimentos já descritos, a aflatoxina também pode ser detectada no leite materno, o que merece certo destaque, pois pode veicular AFM₁, decorrente do metabolismo orgânico e com isso acarretar sérios problemas à saúde do lactente pela amamentação, que por certo período trata-se de seu único alimento [32, 42].

Romero [22], ao avaliar 69 amostras de urina de indivíduos residentes na cidade de Piracicaba-SP, detectou a presença de AFM₁ em 54 (78%) das mesmas, com concentrações entre 1,8 e 39,9 pg/ml. Isso demonstra que as populações estudadas estão expostas as aflatoxinas. Também foram analisadas 18 amostras de leite materno, uma apresentou contaminação detectável de AFM₁.

Mesmo abaixo do limite previsto pela Legislação Brasileira, como já foi citado anteriormente, não está claro se esses valores representam ou não risco significativo para o desenvolvimento do câncer hepático. Assim, retifica a necessidade das boas práticas de cultivo, transporte e armazenamento desse cereal para consumo humano [3].

Também fica evidente a necessidade do frequente monitoramento das micotoxinas, em especial as aflatoxinas, visto que estas são substâncias carcinogênicas [3]. Assim como a aquisição de informação, no sentido de compreender os fatores envolvidos em casos anteriores de micotoxicoses, ajuda a evitar situações de risco [2].

7 Prevenção e controle da contaminação alimentar por aflatoxina

A contaminação por micotoxinas em alimentos e derivados não configura um problema apenas nos países pobres. A economia de diversas regiões é afetada, visto que a ocorrência das substâncias tóxicas causa interferência ou impedem a exportação de produtos alimentícios, além de reduzir a produção animal e agrícola e comprometer a saúde humana [7].

As micotoxinas são invisíveis a olho nu, não podem ser detectadas pelo olfato ou paladar, assim, os alimentos uma vez contaminados seguem para comercialização. Tal mecanismo resulta em uma exposição contínua a pequenas doses das toxinas, o que indica uma probabilidade do ser humano desenvolver patologias crônicas ou toxicoses

[43].

Dessa forma, o monitoramento constante e contínuo de aflatoxinas com técnicas de amostragem adequadas à detecção, bem como dos metabólicos da AFB₁, a avaliação dos níveis de exposição das células humanas à atividade biológica da AFB₁ e atuação dessas toxinas sobre a incidência de enfermidades agudas ou crônicas na população são estratégias importantes para uma melhor caracterização dos riscos à saúde do homem [10].

Existem inúmeros métodos e formas de se evitar a contaminação alimentar por aflatoxinas, porém a única forma capaz de tornar o alimento livre da presença destas toxinas é o combate ao crescimento fúngico ainda na colheita e armazenamento. Para isso, são necessárias algumas medidas básicas, dentre elas, o controle de insetos nas plantações, a prática de cuidados apropriados no momento da colheita e do transporte e controle de temperatura e umidade durante a armazenagem dos alimentos [3].

Segundo Carvalho [15] para prevenção do aparecimento de micotoxinas é importante que a colheita seja realizada logo após a maturidade dos grãos. No caso dos cereais, grãos de café, frutos e sementes oleaginosas, as culturas devem ser secas imediatamente após a colheita.

Gorayeb [44] em seu estudo observou que nas umidades relativas acima de 90%, em temperatura de cerca de 25 °C, o *A. flavus* tem um elevado crescimento e síntese de aflatoxina. Para ele, é conveniente secar vagens de amendoim até uma umidade de equilíbrio inferior a 11% e os grãos a 8%, e mantê-los armazenados em ambiente com umidade relativa inferior a 75%.

Ações como adição de adsorventes de micotoxinas nas rações, como bentonitas e silicatos de alumínio, ou uso de antifúngicos também podem amenizar a contaminação em grãos e cereais, porém essas substâncias não eliminam totalmente as aflatoxinas [7].

Dessa forma, torna-se necessário um controle desde o plantio, a fim de garantir a qualidade do produto isento dos fungos produtores de metabólitos tóxicos, visto que depois de contaminados, sua desintoxicação é uma tarefa muito mais complexa. Os métodos de detoxificação de alimentos exigem processos como, por exemplo, expô-los a temperaturas elevadas de até 300 °C para eliminar a toxina e o fungo, os quais

podem destruir as propriedades nutritivas do produto, além de possuírem alto custo [3, 45]. Motivos pelos quais as indústrias alimentícias evitam aderir a esses métodos [7].

Nesse contexto, as Boas Práticas Agrícolas (BPA) e as Boas Práticas de Fabricação (BPF) são procedimentos primordiais para controlar as possíveis contaminações e garantir que o produto atenda às especificações de qualidade [44].

Elas incluem aspectos que vão desde as condições de produção até as instalações de beneficiamento e armazenamento. Estes aspectos, dentre outros, são pré-requisitos fundamentais, constituindo-se na base higiênico-sanitária para implantação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) [46].

O sistema APPCC é uma abordagem sistemática na identificação, avaliação e controle de fatores que podem comprometer a segurança alimentar. O APPCC auxilia a proteger os alimentos contra perigos microbiológicos, físicos e químicos, dentre eles, as micotoxinas [47].

O controle dos pontos críticos que podem constituir perigo potencial à segurança alimentar deve ser analisado através do estudo e planejamento de cada uma das etapas do processamento dos alimentos, a partir de sete princípios básicos. São eles: identificação dos perigos, avaliação dos riscos e descrição dos métodos de controle; determinação dos pontos críticos de controle (PCC); estabelecimento de limites críticos para cada PCC; estabelecimento de procedimentos de monitoramento; estabelecimento de procedimentos de ações corretivas; estabelecimento de procedimentos de registro e; estabelecimento de procedimentos de verificação [7].

Segundo informações contidas no Manual de Boas Práticas Agrícolas e Sistema APPCC, não existe a possibilidade de erradicar os fungos toxigênicos no meio ambiente (solo, ar, água), mas é possível controlar o risco de sua produção nas etapas pós-colheita, como no processo de secagem (umidade, temperatura e outros fatores que não permitam a multiplicação do fungo produtor) e de armazenamento (por parâmetros semelhantes) [7].

O controle da qualidade da água, tratamento do solo, defensivos agrícolas, maquinário adequado e cuidados pós-colheita constituem ferramentas que devem ser empregadas para minimizar a infestação e a síntese de aflatoxinas [44].

Na produção de amendoim no campo, a presença dos fungos aflatoxigênicos é constante, de modo que se pode apenas minimizar o desenvolvimento fúngico e a produção de aflatoxina através de calagem do solo, secagem adequada e armazenamento em locais secos e ventilados até o envio para as indústrias de beneficiamento [48].

Para Álvares [49] as Boas Práticas são importantes na prevenção da contaminação de castanhas por aflatoxinas, visto que uma vez contaminada nem a temperatura elevada do beneficiamento consegue eliminar as toxinas. De acordo com a pesquisadora esses procedimentos influenciaram a cadeia produtiva da castanha-do-Brasil e tornaram o Acre referência no assunto.

O projeto Pró-Amendoim criado em 2001, com o apoio da Associação Brasileira de Chocolate, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados (ABICAB), que tem por objetivo monitorar a qualidade de produtos feitos com amendoim, também é baseado na utilização de boas práticas de fabricação e Avaliação de Perigos e Pontos Críticos de Controle como forma de prevenir as aflatoxinas. Em 2002, a ABICAB lançou um Selo de Qualidade que credenciou as nove empresas associadas ao Programa Pró-Amendoim, que tem a finalidade visual de garantir ao cliente a segurança do produto alimentício adquirido [50].

Além disso, a Comissão *Codex Alimentarius* (WHO-FAO) estabeleceu em 2003 um Código de boas práticas para prevenção e redução de contaminação de cereais por micotoxinas. Esse código, que salienta a necessidade dos produtores compreenderem e aceitarem a importância das boas práticas agrícolas, deveria ser adotado como um guia para evitar e controlar a formação de aflatoxinas nos alimentos [44].

Nesse sentido, a criação de normas para o controle de micotoxinas e a inspeção de produtos que possam ser meios de contaminação por aflatoxinas se configura em um fator primordial, de modo a trazer benefícios econômicos aos agricultores e garantir segurança alimentar para os consumidores [51].

8 Considerações finais

No presente trabalho foram relacionados resultados de pesquisas e estudos de diversos autores, sendo possível constatar que os alimentos, de modo geral, estão sujeitos à contaminação por fungos, e que alguns destes micro-organismos produzem

substâncias químicas denominadas micotoxinas, dentre elas se destacam as aflatoxinas.

A ingestão de aflatoxinas em produtos alimentícios causa intoxicação aguda e crônica no homem. A aflatoxina B₁, especialmente, constitui um fator de risco para o carcinoma hepático, por induzir uma mutação no gene p53 supressor de tumor.

A contaminação de alimentos varia em função de fatores geográficos e sazonais e também das condições de cultivo, colheita e armazenamento dos mesmos. Países tropicais, como o Brasil, apresentam uma maior vulnerabilidade para a ocorrência de fungos nas plantações. Os maiores índices de contaminação fúngica nos produtos agrícolas ocorrem nas etapas de produção, que abrange desde o plantio até a armazenagem.

A estabilidade das aflatoxinas impõe o uso de processos extremos de detoxificação (altas temperaturas, radiação), mecanismos que destroem as propriedades nutritivas dos produtos, além de não serem economicamente viáveis. Além disso, a contaminação inviabiliza o processamento do alimento, visto que a toxina permanece ativa e torna-o impróprio para o consumo.

Ainda existe uma considerável quantidade de alimentos contaminados por aflatoxinas e essa contaminação ocorre principalmente pela falta de cuidados que devem ser tomados na fase de cultivo. Dessa forma, é fundamental serem desenvolvidas ações de monitoramento contínuo e estímulo às boas práticas agrícolas, principalmente na região Nordeste, área de maior consumo de produtos susceptíveis a contaminação.

Referências

- [1] MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. DOS S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. *Rev Bras Prod Agroind*, vol. 12, n. 1, p. 89-99, 2010.
- [2] DRUMOND, V. L. M. M. Presença de aflatoxinas em arroz e cereais importados na União Européia – Revisão bibliográfica e análise de dados RASFF. Dissertação de Mestrado. Universidade Nova Lisboa, Monte de Caparica, 2012.

- [3] FASSBINDER, E. F. Estudo bibliográfico sobre a incidência de aflatoxina em alimentos, e o poder carcinogênico da aflatoxina B₁. Monografia de Graduação. Universidade Comunitária da Região de Chapecó, Chapecó, 2010.
- [4] ROSMANINHO, J. F.; OLIVEIRA C. A. F.; BITTENCOURT, A. B. F. Efeitos das micotoxinoses crônicas na produção avícola. *Arq Inst Biol*, vol. 68, n. 2, p. 107-114, 2001.
- [5] OLIVEIRA, L. DA S. F. DE; KOLLER, F. F. DE C. Ocorrência de *Aspergillus* spp. e aflatoxinas em amostras de amendoim *in natura* e paçocas. *Rev Ciên Ambien*, vol. 5, n. 1, p. 57-68, 2011.
- [6] LANG, R. M. Ocorrência de fungos toxigênicos e micotoxinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil. var. *paraguariensis*) comercializada em Santa Catarina. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- [7] MAIA, J. T. L. S.; SAKATA, R. A. P.; SABBAG, S. P. Ocorrência de aflatoxinas em produtos alimentícios e o desenvolvimento de enfermidades. *Enciclopédia Biosfera*, vol. 7, n. 13, p. 1477-1498, 2011.
- [8] BAGGIO, E. C. M. Determinação de aflatoxina M1 em leite pasteurizado pelos métodos de CCD e CLAE utilizando coluna de imunoafinidade. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- [9] ROCHA, M. D.; MAIA, P. P.; RODRIGUES, M. A. C.; MARTINS, I. Incidência de aflatoxinas em amostras de amendoim e paçoca comercializadas na cidade de Alfenas – MG, Brasil. *Rev Bras Toxicol*, vol. 21, n. 1, p. 15-19, 2008.
- [10] OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. *Rev Saude Publ*, vol. 31, n. 4, p. 417-424, 1997.
- [11] CARVALHO, A. P. P. Aflatoxinas: ocorrência, distribuição e estimativa de ingestão através de produtos de amendoim na cidade de Piracicaba - São Paulo.

2005. 101 f. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2005.
- [12] CARRENO, V. A.; HURTADO, G. J. J.; NAVAS, M. C. Exposición a aflatoxina: Un problema de salud pública. *Iatreia*, vol. 27, n. 1, p. 42-52, 2014.
- [13] CRUZ, J. V. DA S. Ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em produtos à base de milho e milho utilizado como ingrediente de ração para animais de companhia, comercializados na região de Pirassununga, Estado de São Paulo. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.
- [14] BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev*, vol. 16, n. 3, p. 497– 516, 2003.
- [15] CARVALHO, R. A. DE Incidência de fungos e aflatoxinas em arroz (*Oriza sativa L.*). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- [16] ESPER, R. H. Óleos essenciais de mentrasto e orégano no controle de *Aspergillus flavus* em milho e soja. Dissertação de Mestrado. Instituto Biológico, São Paulo, 2011.
- [17] SABINO, M. Micotoxinas em Alimentos. In: OGA, S. (Ed). Fundamentos de Toxicologia. São Paulo. Atheneu Editora, 1996.
- [18] LEVISION, W. Microbiologia Médica e Imunologia. 10^a ed. Porto Alegre. Artmed, 2010.
- [19] REIS, G. M. Variabilidade genética de cepas de *Aspergillus flavus* isoladas de amendoim. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- [20] MACHINSKI JUNIOR, M. Aflatoxinas: análise em amendoim por cromatografia em camada delgada. In: MOREAU, R. L. M.; SIQUEIRA, M. E. P. B. Toxicologia Analítica. Guanabara Koogan S. A., p. 194-199, 2008.
- [21] 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 Curitiba. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- [22] ROMERO, A. DE C. Mensuração de biomarcador da exposição às aflatoxinas em fluídos biológicos. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.
- [23] GONÇALVES, E. S.; SILVA, J. M. B. DA; PAVESI, T.; MOREIRA, J. C. A importância da determinação analítica de intermediários reativos e de seus produtos de reações com biomacromoléculas: uma mini revisão. *Quim Nova*, vol. 37, n. 2, p. 317-322, 2014.
- [24] INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Câncer de fígado. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/conteúdo_view.asp?id=330. Acesso em: ago/2014.
- [25] FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO (FAPESP). Substância cancerígena tem atuação desvendada. Agência FAPESP, São Paulo, 2009. Disponível em: <http://agencia.fapesp.br/>. Acesso em: jun/2014.
- [26] LIU, Y.; FELÍCIA, W. Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: A Risk Assessment. *Environ Health Persp*, vol. 118, n. 6, p. 818-824, jun. 2010.
- [27] CALDAS, E. D.; SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J. N. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. *Rev Saude Publ*, vol. 36, n. 3, p. 319-323, 2002.
- [28] BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 18 fev. 2011. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/bc17db804f45fe2cbd41fdd785749fbd/Resolu%C3%A7%C3%A3o+0-2011-CGALI.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: set/2014.

- [29] IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em alimentos. *An Acad Pernamb Ciênc Agron*, vol. 7, p. 138-161, 2010.
- [30] CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA (CIB). Ingestão de aflatoxina pode causar câncer. *Biotech*, vol. 2, n. 5, p. 01-04, 2004.
- [31] MALLMANN, C. A. Micotoxinas: como gerenciar o risco e minimizar o problema. *Rev AviSite*, n. 86, p. 66, set. 2014.
- [32] BANDO, E.; GONÇALES, L. N.; TAMURA, N. K.; MACHINSKI JUNIOR, M. Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas. *J Bras Patol Med Lab*, vol. 43, n. 3, p. 175-180, 2007.
- [33] PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; GAZZINELLI-MADEIRA, J. E. C.; GODOY, I. J.; CORRÊA, B.; JUNQUEIRA, R. G.; FERREIRA, S. O. Resistência de quatro genótipos de amendoim à produção de aflatoxina B₁ após inoculação com *Aspergillus flavus*. *Cien Tecnol Alim*, vol. 19, n. 1, p. 84-87, 1999.
- [34] SANTOS, C. C. M. DOS; LOPES, M. DO R. V.; KOSSEKI, S. W. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim comercializados na cidade de São José do Rio Preto/SP. *Rev Inst Adolfo Lutz*, vol. 60, n. 2, p. 153-157, 2001.
- [35] SILVA, R. A. DA; YAMAMOTO, I. T.; FERREIRA, L. O.; MARQUES, L. R. M. Detecção e quantificação de aflatoxinas em amostras de grãos de amendoim e derivados comercializados na região de Marília – SP, 2002-2009. *Braz J F Nutr*, vol. 24, n. 1, p. 61-64, 2013.
- [36] BATATINHA M. J. M.; SANTOS, M. M.; BOTURA, M. B.; ALMEIDA, G. N.; DOMINGUES, L.F.; KOWALSKI, C. H.; MALLMANN, C. A. Ocorrência de aflatoxinas em amendoins e seus produtos comercializados no estado da Bahia durante o ano de 2002. *Rev Inst Adolfo Lutz*, vol. 62, n. 3, p. 183-187, 2003.
- [37] BOTREL, D. A.; MELO, N. R. DE. Contaminação por fungos e presença de aflatoxinas em amendoim. Universidade Federal de Viçosa, 2013. Disponível em: <http://pt.engormix.com>. Acesso em: set/2014.

- [38] FERREIRA, H.; PITTNER, E.; SANCHES, H. F.; MONTEIRO, M. C. Aflatoxinas: um risco a saúde humana e animal. *Ambiência*, vol. 2, n. 1, 2006.
- [39] BENTO, L. F.; CANEPPELE, M. A. B.; ALBUQUERQUE, M. C. DE F.; KOBAYASTI, L.; CANEPPELE, C.; ANDRADE, P. DE J. Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. *Rev Inst Adolfo Lutz*, vol. 71, n. 1, p. 44-49, 2012.
- [40] AMARAL, K. A. S. DO; NASCIMENTO, G. B.; SEKIYAMA, B. L.; JANEIRO, V.; MACHINSKI JUNIOR, M. Aflatoxinas em produtos à base de milho comercializados no Brasil e riscos para a saúde humana. *Cien Tecnol Alim*, vol. 26, n. 2, p. 336-342, 2006.
- [41] MALLMANN, C. A.; KOWALSKI, C. H.; ALMEIDA, C. A. A.; DILKIN, P.; MÜRMAN, L.; DILKIN, M.; CARVALHO, R. R. Aflatoxinas em nozes e frutas secas comercializadas no Brasil. *International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins*, 2000. Guarujá – SP, p. 35, mai. 2002.
- [42] ANDRADE, P. D. Aflatoxinas e ocratoxina a na dieta de lactentes e adultos: desenvolvimento de metodologia e avaliação da exposição. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, Brasília, 2012.
- [43] AMARAL, C. L.; CHIERICATTI, C.; BASÍLICO, J. C.; FERREIRA, N. C. A.; ANTUNES, A. E. C. Fungos potencialmente micotoxigênicos em feijões (*Phaseolus vulgaris L.*) de diferentes marcas comerciais. *Rev Cient Eletrôn Agron*, vol. 24, n. 2, p. 69-77, 2013.
- [44] GORAYEB, T. C. C. Avaliação das condições críticas para o surgimento de aflatoxina na cadeia de processamento de amendoim (*Arachis hypogaea L.*). Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2007.
- [45] ROSMANINHO, J. F.; OLIVEIRA C. A. F.; BITTENCOURT, A. B. F. Efeitos das micotoxicoses crônicas na produção avícola. *Arq Inst Biológico*, vol. 68, n. 2, p. 107-114, 2001.

- [46] ALENCAR, C. R. DE. Manual de implantação e execução do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) em indústrias alimentícias. Monografia de Pós-graduação. Universidade Castelo Branco, São Paulo, 2007.
- [47] FIGUEIREDO, V. F. DE; COSTA NETO, P. L. DE O. Implantação do HACCP na indústria de alimentos. *Gest Prod*, vol. 8, n. 1, p. 100-111, 2001.
- [48] ROSSETTO, C. A. V; LIMA, T. M.; VIEGAS, É. C.; SILVA, O. F.; BITTENCOURT, A. M. Efeito da calagem, da colheita e da secagem na qualidade sanitária de amendoim na seca. *Pesq Agropec Bras*, vol. 38, n. 5, p. 567-573, 2003.
- [49] ÁLVARES, V. S.; CASTRO, I. M.; COSTA, D. A.; LIMA, A. C.; MADRUGA, A. L. S. Qualidade da castanha-do-brasil do comércio de Rio Branco, Acre. *Acta Amazônica*, vol. 42, n. 2, p. 269-274, 2012.
- [50] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CHOCOLATE, CACAU, AMENDOIM, BALAS E DERIVADOS (ABICAB). Amendoim. São Paulo, 2014. Disponível em: http://www.abicab.org.br/index_home.htm. Acesso em: jun/2014.
- [51] PEREIRA, K. C.; SANTOS, C. F. DOS. Micotoxinas e seu potencial carcinogênico. *Ensaio e C*, vol. 15, n. 4, p. 147-165, 2011.