



CASTANHAS DO BRASIL: AVALIAÇÃO DO RISCO DEVIDO À EXPOSIÇÃO POR AFLATOXINA B1

A.P. F. Souza¹, N. R. Rodrigues¹

1-Divisão de Química Analítica – Universidade Estadual de Campinas, Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas – CEP: 13140-000 – Paulínia – SP – Brasil, Telefone: 55 (19) 2139 – 2879 – e-mail: (anasouza@cpqba.unicamp.br)

RESUMO – A Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*) é considerada um alimento rico em nutrientes e frequentemente associada a benefícios à saúde. No Brasil, dada sua produção artesanal, as Castanhas do Brasil estão suscetíveis ao surgimento de fungos e conseqüentemente micotoxinas. Dentre elas, a AFB1 é considerada carcinogênica, teratogênica, mutagênica e imunossupressora. Assim o objetivo desse trabalho foi realizar a estimativa da exposição alimentar a AFB1 através da estimativa de ingestão de Castanhas do Brasil. Análises por cromatografia líquida foram realizadas em amostras Castanhas do Brasil comercializadas no município de Campinas e 35,7% apresentaram níveis detectáveis de AFB1. Com base nos resultados obtidos estabeleceu-se uma estimativa de ingestão de AFB1 através do consumo de castanhas do Brasil e avaliou-se o risco através da ferramenta MOE (*margin of exposure*). Em toda população avaliada neste estudo o MOE calculado foi menor que o valor de referência (10.000) e indicam uma preocupação para a saúde.

ABSTRACT – The Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*) is considered a food rich in nutrients and is often associated with health benefits. In Brazil, given their artisanal production, Brazil nuts are susceptible to the appearance of fungi and consequently mycotoxins. Among them, the AFB1 is considered carcinogenic, teratogenic, mutagenic, and immunosuppressive. Thus, the aim of this study was to estimate the food exposure to AFB1 by estimating the intake of Brazil nuts. Liquid chromatography analyzes were carried out on Brazil Nuts samples sold in the city of Campinas, and 35.7% had detectable levels of AFB1. Based on the results, an AFB1 intake through the consumption of Brazil Nuts was established and the risk was assessed using the MOE (*margin of exposure*) tool. In all the population studied the calculated MOE was less than the reference value (10,000) and indicated a health concern.

PALAVRAS-CHAVE: micotoxinas; castanhas do Brasil; MOE.

KEYWORDS: mycotoxins; Brazil Nuts; MOE.

1. INTRODUÇÃO

A Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*) é um alimento rico em micronutrientes como magnésio, cobre e zinco, possui alto teor de macronutrientes como gorduras e proteínas além da presença de compostos bioativos (dentre eles os compostos fenólicos). É altamente associada a benefícios à saúde, auxiliando na melhora dos sistemas anti-inflamatórios devido a presença de antioxidantes e a na redução do risco de doença crônica e cardiovascular (Cardoso et al., 2017; O’Neil et al., 2015).

O Brasil é o segundo principal produtor mundial de Castanha do Brasil (35,4%) com produção concentrada na região Norte do país. Considerada orgânica, a produção de Castanhas do Brasil não utiliza



nenhum produto químico. É uma produção tida como artesanal, sendo a coleta e o armazenamento realizados de maneira tradicional pela população local (Kluczkowski, 2019; Taniwaki et al., 2019).

Dada as características do sistema de produção, as Castanhas do Brasil são susceptíveis ao aparecimento de fungos, dentre eles *A. flavus* e *A. parasiticus* (Kluczkowski, 2019). Tais fungos sob determinadas condições de umidade e temperatura produzem metabólitos secundários, as micotoxinas (Taniwaki et al., 2019). Dentre elas, as aflatoxinas são as mais produzidas e seus análogos mais tóxicos são B1, B2, G1 e G2. Aflatoxinas são carcinogênicas, teratogênicas, mutagênicas e imunossupressoras (Jiménez Medina et al., 2019; Wu, 2014; Pitt, 2004). A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classifica a aflatoxina B1 (AFB1) como o composto natural cancerígeno de maior potência com hepatotoxicidade e efeitos cumulativos em seres humanos (IARC, 2002). Todas as partes da castanha do Brasil (casca e amêndoa) são suscetíveis à contaminação por aflatoxinas (Kluczkowski, 2019).

O Comitê Conjunto de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO / OMS (JECFA) em sua última avaliação reafirmou suas conclusões anteriores sobre as aflatoxinas estarem entre as substâncias mutagênicas e cancerígenas mais potentes conhecidas. Para tal, estudos em espécies-teste e estudos epidemiológicos em humanos foram utilizados como base. Por tratar-se de substância carcinogênica e genotóxica o JECFA não estabelece uma ingestão tolerável (JECFA, 2016).

A Comissão Europeia definiu limites estritos para proteger humanos e animais, estabelecendo níveis máximos toleráveis de aflatoxina B1 e aflatoxinas totais (soma B1, B2, G1 e G2) em Castanhas do Brasil destinadas a consumo humano direto ou como ingrediente em gêneros alimentícios no valor de 8 e 15 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente (EC, 2006).

Para a avaliação da exposição a micotoxinas a estimativa da exposição alimentar através da abordagem determinística e a margem de exposição (MOE, do inglês *Margin of Exposure*) serão utilizados. A MOE considera as preocupações de segurança decorrentes da presença de substâncias genotóxicas e cancerígenas, caso da AFB1. Desse modo o objetivo deste estudo é avaliar através da dieta os riscos potenciais à saúde resultantes da ingestão de AFB1 detectada em Castanhas do Brasil comercializadas no município de Campinas – SP.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Níveis de AFB1 em Castanhas do Brasil

Para determinar os níveis de AFB1 em Castanhas do Brasil em Campinas-SP foram coletadas, entre outubro de 2015 e maio de 2016, quatorze amostras aleatoriamente nas prateleiras de supermercados, sendo oito amostras com casca e seis amostras sem cascas prontas para consumo. As amostras de castanha do Brasil na casca foram descascadas manualmente antes da moagem. Todas as amostras foram processadas no liquidificador e foram extraídas com acetonitrila seguido de evaporação e derivatização conforme recomendado pela AOAC 994.0822 com 700 μl de ácido acético: água: TFA (1: 7: 2) e analisadas por HPLC-Fluorescência (AOAC, 2005). O método foi validado no limite de quantificação (LOQ) de 6 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

2.2 Ingestão e avaliação de risco de AFB1

A ingestão crônica de AFB1 através do consumo de Castanha do Brasil foi estimada considerando um consumo regular de duas unidades da noz, em média 10 gramas (Cardoso et al., 2017). Para o cálculo da concentração média os valores de AFB1 nas amostras no limite inferior (AFB1 não detectada) foram dados como zero e no limite superior (níveis de AFB1 < LOQ) considerou-se como o LOQ (WHO, 2009) e aplicados na Equação 1.

$$Ingestão = \frac{\sum(\text{concentração} \times \text{consumo})}{\text{peso corporal}}$$

(Equação

1)

O risco de exposição à AFB1 foi caracterizado pelo cálculo da MOE (Equação 2). Para determinar o MOE foi considerando como referência toxicológica um limite mínimo de confiança (BMDL, *benchmark dose level*) para uma resposta de referência de 0,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corporal (pc) por dia, referente a incidência de câncer hepático em ratos machos após a exposição à AFB1 (EFSA, 2020).

$$MOE = \frac{\text{referência toxicológica (BMDL)}}{\text{ingestão}}$$

(Equação

2)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Níveis de AFB1 em Castanhas do Brasil

O método utilizado foi validado e seu desempenho para quantificação de AFB1 estava de acordo com o seu propósito. A recuperação e a precisão do método de extração foram determinadas em dois níveis de concentração de 6 (LOQ) e 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Foram detectados níveis de contaminação por AFB1 em cinco amostras de Castanhas do Brasil (35,7%). Dessas, duas apresentaram níveis quantificáveis (14,3%). A ocorrência, os níveis médios e os intervalos de AFB1 nas amostras de Castanhas do Brasil estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Níveis de AFB1 encontradas em amostras Castanhas do Brasil comercializadas em Campinas- São Paulo – Brasil, obtidos após análise por HPLC-fluorescência.

Amostra	Média ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Min -Max ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
01	8,79	8,42-8,98
02	<LOQ	-
03	ND	-
04	ND	-
05	ND	-
06	ND	-
07	<LOQ	-
08	ND	-
09	59,0	58,1-60,0
10	ND	-
11	<LOQ	-
12	ND	-
13	ND	-
14	ND	-

n = 03

Andrade et al (2013) analisaram 942 amostras de Castanhas do Brasil e amendoins do Distrito Federal-Brasil, dessas 42 amostras apresentaram níveis de contaminação por aflatoxinas totais e em apenas duas delas não foi detectado AFB1. Somente em Castanhas do Brasil a média de contaminação foi de 553 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Já Cunha et al (2014) não encontraram contaminação por AFB1 em suas análises. A heterogeneidade dos níveis de contaminação pode ser explicada pelo crescimento localizado da colônia de fungos dada a precariedade da cadeia produtiva e falta de controle de qualidade efetivo e pelas condições de armazenamento que podem favorecer a formação das aflatoxinas (Taniwaki et al, 2019).

3.2 Ingestão e avaliação de risco de AFB1

A avaliação da exposição foi conduzida com base nos resultados obtidos pelas estimativas de ingestão nas quais foram considerados quatro grupos da população de acordo com classificação do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). O peso corpóreo utilizado para cada grupo de cada gênero está descrito na tabela POF 2008-2009 e trata-se de uma média para o Estado de São Paulo (IBGE, 2009). Os dados de consumo foram estimados considerando a ingestão de, em média, duas Castanhas do Brasil por dia (10g). Essa quantidade é considerada suficiente para o aporte de minerais como o selênio (Cardoso et al., 2017). Para o cálculo da MOE dividiu-se o valor estabelecido para BMDL_{10} pelos valores de ingestão média calculados para cada estrato da população escolhida para essa estimativa. Valores de MOE superiores a 10.000 são considerados seguros enquanto que uma $\text{MOE} \leq 10.000$ pode representar um risco potencial para a saúde pública.

A estimativa de ingestão média e a avaliação da exposição através da MOE estão apresentadas na Tabela 2. Para a população infantil, na faixa etária de 10 anos, a ingestão média é de 1,6 e 1,7 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc dia}^{-1}$ para meninas e meninos, respectivamente. Esse valor é praticamente duas vezes a ingestão média estimada para a população entre 30-34 anos (0,9 e 0,8 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc dia}^{-1}$, para mulheres e homens, respectivamente). Já na faixa etária dos idosos acima de 75 anos a ingestão média de AFB1 chega a quase 1 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc dia}^{-1}$ para mulheres e 0,8 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc dia}^{-1}$ para homens. Andrade et al. (2013) estimou uma ingestão média de Castanhas do Brasil, considerando a população brasileira (maiores de 10 anos), em torno de 4,3-4,7 $\text{ng kg}^{-1} \text{pc dia}^{-1}$ para os maiores consumidores (consumo de 10,7 g de Castanha do Brasil por dia).

Tabela 2 – Estimativa da exposição a AFB1 por faixa etária e por sexo.

Sexo/Faixa Etária	Feminino			Masculino		
	Consumo $\text{g kg}^{-1} (\text{pc})$	Ingestão média $(\text{ng kg}^{-1} \text{pc dia}^{-1})$	MOE	Consumo $\text{g kg}^{-1} (\text{pc})$	Ingestão média $(\text{ng kg}^{-1} \text{pc dia}^{-1})$	MOE
10 anos	0,2671	1,5823	253	0,2857	1,6921	236
30 a 34 anos	0,1601	0,9485	422	0,1303	0,7716	518
55 a 64 anos	0,1490	0,8824	453	0,1328	0,7866	509
75 anos	0,1635	0,9686	413	0,1392	0,8248	485

pc = peso corpóreo, obtido na POF 2008-2009 (IBGE, 2009). $\text{BMDL} = 400 \text{ ng kg}^{-1} \text{pc dia}^{-1}$ obtido em EFSA, 2020.

Os valores de MOE calculados variaram entre 236-509 para homens e 253-453 para mulheres. Esses valores indicam uma preocupação para a saúde pública uma vez que se apresentam abaixo de 10.000 (valor de referência).

Uma série de fatores influenciam a avaliação de risco a exposição por AFB1. Cunha et al (2018) enumera uma série de fatores que influenciam uma avaliação do risco por micotoxinas. Nesse estudo em especial pode-se elencar a distribuição heterogênea das AFB1 no alimento; a subestimação e/ou superestimação nos dados de consumo e a estimativa de ingestão desconsiderando outros alimentos da dieta. Todavia, dada importância do consumo Castanha do Brasil para a melhora em fatores de risco cardiovascular e fonte de minerais, esses resultados não devem ser desconsiderados e podem servir de orientação para novos estudos que abrangem uma dieta completa.



4. CONCLUSÕES

Castanhas do Brasil comercializadas no município de Campinas foram analisadas quanto a presença de Aflatoxina B1 (AFB1) e em duas amostras AFB1 em níveis acima do limite aceitável ($8 \mu\text{g kg}^{-1}$). A estimativa de ingestão média de AFB1 foi realizada em quatro estratos da população de ambos os sexos. A maior ingestão média de AFB1 apresentou no grupo de faixa etária de 10 anos de idade, sendo $1,5823$ e $1,6921 \text{ ng kg}^{-1}\text{pc dia}^{-1}$ para meninas e meninos, respectivamente. No outro extremo a menor ingestão foi estimada para a faixa etária de 55 a 64 anos para mulheres ($0,8824 \text{ ng kg}^{-1} \text{ pc dia}^{-1}$) e na faixa etária de 30 a 34 anos para homens ($0,7716 \text{ ng kg}^{-1} \text{ pc dia}^{-1}$). Em todas os estratos o MOE calculados indicam uma grande preocupação quanto a exposição a AFB1.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, P. D., de Mello, M. H., França, J. A., & Caldas, E. D. (2013). Aflatoxins in food products consumed in Brazil: A preliminary dietary risk assessment. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 30(1), 127–136. <https://doi.org/10.1080/19440049.2012.720037>
- AOAC. (2005). Association of Official Analytical Chemists. “Official methods of analysis 994.08 – Derivatization of standards for aflatoxins”, Chapter 49.
- Cardoso, B. R., Duarte, G. B. S., Reis, B. Z., & Cozzolino, S. M. F. (2017). Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. *Food Research International*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.036>
- Cunha, S. C., Sá, S. V. M., & Fernandes, J. O. (2018). Multiple mycotoxin analysis in nut products: Occurrence and risk characterization. *Food and Chemical Toxicology*, 114, 260–269. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.039>
- EC. (2006). Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:02006R1881-20200701>
- EFSA. (2020). CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman JK, del Mazo J, Grasl-Kraupp B, Hogstrand C, Hoogenboom LR, Leblanc J-C, Nebbia CS, Nielsen E, Ntzani E, Petersen A, Sand S, Schwerdtle T, Vleminckx C, Marko D, Oswald IP, Piersma A, Routledge M, Schlatter J, Baert K, Gergelova P and Wallace H, 2020. Scientific opinion – Risk assessment of aflatoxins in food. *EFSA Journal* 2020;18(3):6040, 112 pp. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2020.6040>
- IARC. (2002). International Agency for Research on Cancer. Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene: Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, aflatoxins, 82, 556 Disponível em: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono100F-23.pdf>
- IBGE. (2009). Pesquisa de Orçamentos Familiares POF 220-2009. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9050-pesquisa-de-orcamentos-familiares.html?edicao=9058&t=resultados>
- JECFA. (2016). Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Disponível em: <https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=5639>

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

- Jiménez Medina, M. L., Lafarga, T., Garrido Frenich, A., & Romero-González, R. (2019). Natural Occurrence, Legislation, and Determination of Aflatoxins Using Chromatographic Methods in Food: A Review (from 2010 to 2019). *Food Reviews International*. Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1701009>
- Kluczkowski, A. M. (2019). Fungal and mycotoxin problems in the nut industry. *Current Opinion in Food Science*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.07.009>
- O'Neil, C. E., Fulgoni, V. L., & Nicklas, T. A. (2015). Tree Nut consumption is associated with better adiposity measures and cardiovascular and metabolic syndrome health risk factors in U.S. Adults: NHANES 2005-2010. *Nutrition Journal*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s12937-015-0052-x>
- Pitt, J., I (2004). *Biocontrol of aflatoxins in peanuts*. In D. Barug (Ed.), Meeting the mycotoxin menace (pp. 144).: Wageningen Academic Pub.
- Taniwaki, M. H., Pitt, J. I., Copetti, M. V., Teixeira, A. A., & Iamanaka, B. T. (2019). Understanding mycotoxin contamination across the food chain in Brazil: Challenges and opportunities. *Toxins*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/toxins11070411>
- WHO. (2009). Environmental Health Criteria 240. *Dietary exposure assessment of chemicals in food*. Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food.
- Wu, F. (2014) Perspective: time to face the fungal threat. *Nature*, 516(7529):S7. <https://doi.org/10.1038/516S7a>

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br