

Influência da irradiação gama (^{60}Co) na destruição da aflatoxina B₁ em amendoim (*Arachis hypogaea* L.)

Effect of gamma-irradiation (^{60}Co) on aflatoxin B₁ inactivation in peanut (*Arachis hypogaea* L.)

RIALA6/1038

Guilherme PRADO^{1,2*}; Eliana P. CARVALHO²; Marize S. OLIVEIRA¹; Jovita E. C. M. GAZZINELLI¹; Vanessa D. MORAES¹; Ricardo F. CORRÊA³; Valbert N. CARDOSO⁴; Thais V. SOARES¹

* Endereço para correspondência: ¹Fundação Ezequiel Dias, Laboratório de Micologia e Micotoxinas. Rua Conde Pereira Carneiro, 80, Gameleira – 30510010. Belo Horizonte/MG.

² Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciência de Alimentos. Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

³ Laboratório de Medidas Nucleares, Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear. Belo Horizonte/MG.

⁴ Laboratório de Radioisótopos. Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais.

Recebido: 18/07/2005 – Aceito para publicação: 06/10/2005

RESUMO

Foi verificado o efeito da irradiação gama (^{60}Co) em doses que variaram de 0 a 30 kGy, na destruição de diferentes níveis aflatoxina B₁ em amostras de amendoim, cultivar Tatu Vermelho, artificialmente e naturalmente contaminadas, procedentes de São Paulo, safras 2001/2002 e 2002/2003. A aflatoxina B₁ foi extraída em mistura de metanol e KCl 4% (270 + 30, v/v), seguido de clarificação com CuSO₄ 10% e partição com clorofórmio. A quantificação foi feita por cromatografia em camada delgada, medindo-se a área das fluorescências de amostras e padrões em densitômetro a 366 nm. Doses de irradiação gama (^{60}Co) de 1, 5 e 10 kGy reduziram em cerca de 20 % os níveis de aflatoxina B₁ em amostras artificialmente contaminadas com 55,3, 105,8 e 159,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. As amostras naturalmente contaminadas com aflatoxina B₁ (84,0 e 258,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) e tratadas com irradiação gama (^{60}Co) em doses de 5 e 10 kGy, não apresentaram redução do teor de aflatoxina B₁. Entretanto, as amostras naturalmente contaminadas com aflatoxina B₁ (86,0 e 248,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) e irradiadas nas doses de 15, 20, 25 e 30 kGy apresentaram valores menores de aflatoxina B₁, com faixa de redução que variou de 49 a 72%. Desta forma, pode-se concluir que a irradiação gama (^{60}Co) não é capaz de destruir totalmente a aflatoxina B₁ em condições naturais, mesmo em doses de até 30 kGy.

Palavras-Chave. amendoim, aflatoxina B₁, irradiação gama.

ABSTRACT

The effect of gamma-irradiation in doses ranging from 0 to 30 kGy was verified in order to inactivate aflatoxin B₁ in peanuts sample. Peanut samples of Tatu Vermelho cultivar 2001/2002 and 2002/2003 crops, cultivated in São Paulo state, naturally or experimentally contaminated with aflatoxin B₁ at varied contents, were investigated. Aflatoxin B₁ was extracted with methanol:4% potassium chloride moisture (270 + 30, v/v) followed by clarification with 10% cupric sulfate and partition with chloroform. Aflatoxin quantification was done by means of thin layer chromatography, measuring the samples and the standard fluorescent areas on densitometer at 366 nm. Gamma-irradiation (^{60}Co) at doses of 1.5 and 10 kGy reduced the aflatoxin B₁ contents in around 20% in samples experimentally contaminated with 55.3, 105.8, and 159.3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. In naturally contaminated peanut samples containing 84.0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ and 258.3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ of aflatoxin B₁, and treated with gamma-irradiation (^{60}Co) at 5 and 10 kGy doses, no reduction of aflatoxin B₁ levels was evidenced. On the other hand, samples naturally contaminated with aflatoxin B₁ (86.0 and 248.0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) and irradiated with 15, 20, 25 and 30 kGy doses, showed lower values of aflatoxin B₁, ranging from 49 to 72%. In conclusion, no total inactivation of aflatoxin B₁ occurs by means gamma-irradiation (^{60}Co) in natural conditions, even at 30 kGy dose.

Key Words. peanut, aflatoxin B₁, gamma irradiation.

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas são produtos do metabolismo secundário do *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius*, que contaminam as culturas no campo durante o armazenamento e também os produtos alimentícios. A aflatoxina B₁ apresenta atividade carcinogênica, teratogênica e mutagênica para os seres humanos e animais, e entre todas, é usualmente a toxina de maior ocorrência e concentração nos alimentos¹.

A contaminação de alimentos com aflatoxinas é mais freqüente em regiões tropicais e subtropicais, como o Brasil, onde o clima favorece o desenvolvimento de fungos toxigênicos, principalmente em amendoim^{2,3}.

O processo de irradiação consiste na exposição de alimentos a uma fonte de radiação ionizante, minuciosamente controlada, por tempo pré-fixado. Radiações ionizantes são partículas ou fótons que possuem energia suficiente para produzir partículas eletricamente carregadas (íons) nos materiais com os quais entram em contato. Os irradiadores gama comerciais utilizam, em sua maioria fontes de ^{60}Co . Esta escolha está baseada na insolubilidade do ^{60}Co em água e no fato de este fornecer a mesma dose em tempo 7 vezes menor que o ^{137}Cs ^{4,5}.

A radiação ionizante pode agir diretamente sobre os componentes essenciais da célula ou indiretamente, proporcionando a formação de produtos radiolíticos, particularmente os radicais livres formados a partir da água⁶.

Em 1981, a preservação de alimentos pelo tratamento com a irradiação foi aprovada pelo Comitê Misto da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO/WHO) e a Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA). Em 1984 foi criado o Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos (GCIIA) pela WHO, juntamente com a FAO e a IAEA, para acompanhar a evolução dessa tecnologia. O Brasil, junto com mais 44 países, faz parte desse grupo^{7,8}.

No Brasil está em vigor a Resolução RDC N.º 21, de 26 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Não há mais restrições em relação às doses a serem aplicadas. Qualquer alimento pode ser irradiado, desde que sejam observadas as seguintes condições: (1) a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade desejada; (2) a dose máxima deve ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais do alimento⁹.

O objetivo do trabalho foi verificar a eficiência da irradiação gama (^{60}Co) em destruir a aflatoxina B₁ em amostras de amendoim artificialmente e naturalmente contaminadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Os experimentos foram realizados em amostras artificialmente e naturalmente contaminadas, constituídas de grãos de amendoim beneficiado, cultivar Tatu Vermelho, safra

2001/2002 e safra 2002/2003, provenientes da Indústria de Alimentos Santa Helena (Ribeirão Preto - São Paulo).

As cinco amostras encaminhadas apresentavam os seguintes níveis de aflatoxinas:

A. Safra 2001/2002

1. Aflatoxinas: não detectadas (ND)
2. Aflatoxina B₁: 84,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$
3. Aflatoxina B₁: 258,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$

B. Safra 2002/2003

4. Aflatoxina B₁: 248,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$
5. Aflatoxina B₁: 86,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$

A quantificação das aflatoxinas foi efetuada na Indústria de Alimentos Santa Helena e confirmada na Fundação Ezequiel Dias (Laboratório de Micologia e Micotoxinas).

Preparo das amostras

O preparo das amostras foi efetuado de acordo com a finalidade de cada ensaio e descrito a seguir:

Verificação da eficiência da irradiação gama (^{60}Co) na destruição da aflatoxina B₁ em amostras artificialmente contaminadas

A amostra 1 (Aflatoxina B₁: ND) foi espalhada e dividida em 3 bandejas de alumínio, com cerca de 2,0 kg em cada uma delas. Posteriormente, realizou-se a contaminação com solução padrão de aflatoxina B₁ (item 2.3) para obter concentrações de 50, 100 e 150 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de aflatoxina B₁, respectivamente. As amostras permaneceram à temperatura ambiente durante a noite para evaporação do solvente. Em seguida foram moídas, homogeneizadas e passadas em tamiz 20 mesh. Após quarteamento, as amostras foram pesadas em sacos plásticos (200 g) e guardadas sob refrigeração (4°C) até o momento de serem irradiadas. Anteriormente ao processo de irradiação, foram determinados em triplicata os níveis de aflatoxina B₁ das três amostras fortificadas.

Verificação da eficiência da irradiação gama ^{60}Co na destruição da aflatoxina B₁ em amostras naturalmente contaminadas

As amostras 2, 3, 4 e 5 naturalmente contaminadas com aflatoxina B₁, foram moídas, homogeneizadas e passadas em tamiz 20 mesh. Após quarteamento, as amostras foram distribuídas em sacos plásticos contendo cerca de 200 g. Em seguida o material foi acondicionado sob refrigeração (4°C) até o momento de ser irradiado.

Solução padrão de aflatoxina B₁

Solução padrão estoque de aflatoxina B₁ (10,92 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) foi preparada dissolvendo o padrão sólido (Sigma, Sigma Chemical Co. St. Louis, MO) em benzeno:acetonitrila (98:2, v/v

v). A concentração exata foi medida em espectrofotômetro Shimadzu UV-1601 PC, Shimadzu Scientific Instrument, Japan¹⁰.

Metodologia de irradiação

O processo de irradiação foi conduzido e executado na Empresa Brasileira de Radiações Ltda - EMBRARAD (São Paulo). A taxa de dose foi por volta de 4,0 kGy.h⁻¹, tendo o irradiador uma fonte de ^{60}Co com tecnologia da Nordion Canadian.

Em amostras artificialmente contaminadas

A amostra preparada no item 2.2.1 foi irradiada com irradiação gama (^{60}Co) nos níveis de 0,0, 1,0, 5,0 e 10,0 kGy, em triplicata. Posteriormente, a quantificação da aflatoxina B₁ nas três concentrações de contaminação, foi executada em triplicata, obtendo-se então nove resultados para cada nível de irradiação e concentração de aflatoxina B₁.

Em amostras naturalmente contaminadas

As amostras preparadas no item 2.2.2 seguiram o seguinte esquema de irradiação gama:

Amostra 2 (84,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$): Controle (sem irradiação) e irradiada com 5,0 e 10,0 kGy. A irradiação em cada um dos níveis estudados foi efetuada em uma única amostra. As análises de quantificação de aflatoxina B₁ foram realizadas em triplicata;

Amostra 3 (258,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$): Controle (sem irradiação) e irradiada com 1,0, 5,0 e 10,0 kGy. A irradiação em cada um dos níveis estudados e as análises de aflatoxina B₁ foram efetuadas em triplicata.

Amostra 4 (248,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) e Amostra 5 (86,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$): Controle (sem irradiação) e irradiadas com 15, 20, 25 e 30 kGy. A irradiação em cada um dos níveis estudados foi efetuada em uma única amostra. As análises de quantificação de aflatoxina B₁ foram realizadas em triplicata.

Quantificação de aflatoxina B₁

O método empregado foi o descrito por Valente Soares e Rodriguez-Amaya¹¹. A separação e identificação da aflatoxina B₁ foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD), em placas de sílica gel 60G, 20 x 20 cm (Merck) sem indicador fluorescente, com espessura de 0,25 mm, utilizando-se como fase móvel tolueno:acetato de etila:clorofórmio:ácido fórmico (70:50:50:20, v/v/v/v), recomendado por Gimeno¹². Os extratos das amostras para CCD foram ressuspensos em benzeno:acetonitrila (98:2), em volumes que variavam de 100 a 300 μL . Para aplicação na placa de cromatografia de camada delgada foram utilizados volumes que variaram de 2 a 10 μL . Para a elaboração das curvas de calibração foram utilizados volumes da solução padrão (item 2.3) na faixa de 2 a 10 μL , sempre com um mínimo de 4 pontos. A quantificação das aflatoxinas foi feita por medidas das intensidades das fluorescências dos spots das amostras e de padrões, em Densitômetro Shimadzu, modelo CS9301PC, com lâmpada de xenônio, em leitura linear, com feixe 0,4 x 5,0 mm e alta

sensibilidade de fluorescência. Os níveis de aflatoxina B₁ nas amostras foram calculados a partir das áreas dos picos das aflatoxinas referentes aos extratos das amostras e da solução padrão de aflatoxina B₁.

Delineamento experimental e análise estatística

O modelo estatístico foi dado em função do delineamento inteiramente casualizado, cujo método consiste em realizar análise de variância para identificar diferenças dos tratamentos (13). No experimento descrito no item 2.4.1, o esquema fatorial foi 4 doses de irradiação gama (0, 1, 5 e 10 kGy) e 3 concentrações de aflatoxina B₁, totalizando 12 tratamentos. Analogamente, no experimento descrito no item 2.4.2 foi utilizado o esquema fatorial somente nas amostras 4 e 5, constituindo 5 doses de irradiação gama (0, 15, 20, 25 e 30 kGy) e duas concentrações de aflatoxina B₁, totalizando 10 tratamentos. Em todos os experimentos efetuados os resultados foram avaliados pelo Teste F para constatar a presença de efeitos significativos ($p < 0,05$). Nestes casos foi aplicado o teste de Tukey para determinar as diferenças entre as médias e/ou a técnica de regressão. Foram utilizados os recursos do software estatístico SAS e SISVAR^{14,15}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Destruição da aflatoxina B₁ em amostras artificialmente contaminadas e irradiadas

As concentrações obtidas de aflatoxina B₁ em amendoim artificialmente contaminado, a partir da fortificação da amostra 1 (item 2.2.1), foram 55,3, 105,8 e 159,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Após irradiação com ^{60}Co a 1,0, 5,0 e 10,0 kGy (item 2.4.1), os teores encontrados de aflatoxina B₁ e o resumo da análise de variância estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Fixando o nível de significância em 5% (teste F), os resultados encontrados indicam que apenas os efeitos principais, doses ($p=0,0000$) e concentração ($p=0,000$), foram significativos, isto é, pelo menos uma das médias apresenta diferença significativa quando comparada com as demais. Convém salientar que a interação dose*concentração não foi significativa ($p=$

Tabela 1. Teores de Aflatoxina B₁ em amendoim *in natura* artificialmente contaminado em três concentrações, após irradiação, em triplicata com ^{60}Co a 0, 1, 5 e 10 kGy.

Dose de irradiação (kGy)	Aflatoxina B ₁ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)		
0	55,3*	105,8*	159,3*
1	43,4**	91,4**	135,4**
5	39,6**	85,0**	132,6**
10	39,0**	82,1**	131,2**

*Médias de triplicata.

**Médias de triplicata em cada nível de irradiação da quantificação de aflatoxina B₁.

0,8700), o que leva a crer na ausência da dependência entre as concentrações de aflatoxina B₁ com as doses empregadas de irradiação gama.

Dessa forma, como não ficou comprovada a interação entre os fatores, efetuou-se o teste de Tukey, em nível de significância de 5% para os efeitos principais: dose de irradiação gama e concentração de contaminação de aflatoxina B₁ (Tabela 3).

Os resultados foram considerados para cada fator, independentemente do outro. Comparando-se as doses de irradiação, pode-se verificar que apenas a dose inicial (0 kGy) difere significativamente das demais (letra minúscula diferente), ao passo que doses de 1, 5 e 10 kGy apresentaram comportamento similar (letra minúscula igual). Em relação às concentrações de contaminação, as doses apresentaram médias diferenciadas (letras minúsculas diferentes). Pode-se observar que o aumento da dose de irradiação nas três concentrações de contaminação provocou aumento na redução do teor de aflatoxina B₁. Entretanto, mesmo a dose de irradiação a 10 kGy não foi capaz de eliminar totalmente a aflatoxina B₁.

Destruição da aflatoxina B₁ em amostras naturalmente contaminadas e irradiadas

Os resultados do efeito da irradiação gama (^{60}Co) na destruição da aflatoxina B₁, em amostras naturalmente contaminadas, 84,0 e 258,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, amostras 2 e 3, respectivamente (item 2.4.2), e os resumos das respectivas

Tabela 2. Análise de variância das respostas de contaminação em 3 concentrações de aflatoxina B₁ e 4 doses de irradiação gama (^{60}Co).

Fonte de variação	GL.	Q.M.	p-valor
Concentração	2	27233,7608	0,0000
Dose	3	971,5996	0,0000
Concentração*	6	29,8403	0,8700
Dose			
Erro	24	74,1427	
Total	35		

Coefficiente de variação: 9,4%

análises de variâncias dos dados referentes aos efeitos dos tratamentos efetuados são apresentados nas Tabelas 4, 5, 6 e 7.

Observou-se que nas doses de 1, 5, e 10 kGy (Tabelas 4 e 6) praticamente não ocorreu destruição da aflatoxina B₁ em amostras naturalmente contaminadas, diferentemente das amostras artificialmente contaminadas, que apresentaram redução de cerca de 20% (Tabela 1). Esta diferença pode ser explicada pelo fato de a aflatoxina B₁, na amostra *in natura*, estar ligada a componentes naturais como as proteínas, conferindo proteção aos efeitos da irradiação gama. Da mesma forma, as interações dos radicais livres e moléculas ativas, produzidas durante o processo de irradiação, com a aflatoxina B₁ livre, como no caso das amostras fortificadas, devem acontecer de forma mais fácil e efetiva¹⁶.

A análise de variância mostrada na Tabela 5 evidencia estatisticamente que as doses de irradiação gama (5 e 10 kGy – Tabela 5) utilizadas para destruição da toxina na amostra avaliada, apresentaram o mesmo comportamento em relação à amostra não irradiada (0 kGy). Este fato foi constatado em virtude de a probabilidade do teste F (p= 0,824) ser superior a probabilidade 0,05, isto é, nível de significância. Da mesma forma, a análise de variância registrada na Tabela 7 mostra que não há diferença significativa entre as doses de irradiação gama utilizadas (1; 5 e 10 kGy – tabela 6) na destruição da aflatoxina B₁. Este fato foi observado em função de a probabilidade do teste F (p= 0,392) ser superior à probabilidade 0,05, isto é, nível de significância.

Os resultados do efeito da irradiação gama (^{60}Co) em doses de 0, 15, 20, 25 e 30 kGy na destruição da aflatoxina B₁, em amostras naturalmente contaminadas, 248,0 e 86,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, amostras 4 e 5, respectivamente (item 2.4.2), são mostrados nas Tabelas 8 e 9 e Figuras 1 e 2.

Fixando o nível de significância em 5%, os resultados encontrados na análise de variância indicaram que os efeitos principais, doses (p= 0,0000) e concentrações de contaminação (p=0,0000) foram significativos, isto é, pelo menos uma das médias apresenta diferença significativa quando comparada com as demais. No caso da interação dose*concentração, esta se mostrou significativa (p= 0,0000). Assim sendo, pode-se afirmar que as doses de irradiação apresentaram-se dependentes da concentração de aflatoxina B₁. Portanto, para melhor investigação tornou-se

Tabela 3. Efeitos médios de doses de irradiação gama (a) e de concentrações de contaminação de aflatoxina B₁ (b) na redução do nível de aflatoxina B₁. Teste de Tukey em nível de significância de 5%.

Doses de irradiação gama (kGy)	Médias de aflatoxina B ₁ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)
10	84,1 b
5	85,7 b
1	90,0 b
0	106,8 a

(a)

Concentrações de contaminação ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Médias de aflatoxina B ₁ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)
55,3	44,3 c
105,8	91,0 b
159,3	139,6 a

(b)

Tabela 4. Teores de aflatoxina B₁ em amendoim naturalmente contaminado com 84,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Amostra 2), após irradiação com ^{60}Co a 0; 5 e 10 kGy e análise em triplicata.

Dose de Irradiação (kGy)	Aflatoxina B ₁ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Média ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Coefficiente de Variação (%)
0	69,0	84,0	29,5
	71,0		
	113,0		
5	98,0	90,3	8,3
	90,0		
	83,0		
10	75,0	82,7	9,1
	83,0		
	90,0		

Tabela 5. Análise de variância para verificar o efeito da dose de irradiação gama (^{60}Co) na destruição de aflatoxina B₁ em amostra naturalmente contaminada (84,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$).

Fonte de variação	GL.	Q.M.	p-valor
Dose	2	49	0,824
Erro	6	243	
Total	8		

Coefficiente de variação: 18,2%

Tabela 6. Teores de aflatoxina B₁ em amendoim naturalmente contaminado com 258,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Amostra 3) após irradiação, em triplicata, com ^{60}Co a 0; 1; 5 e 10 kGy.

Dose de Irradiação (kGy)	Repetições	Aflatoxina B ₁ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)*	Média Aflatoxina B ₁ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Coefficiente de Variação (%)
0	A	238,7	258,3	7,2
	B	259,0		
	C	277,3		
1	A	245,0	253,0	6,1
	B	265,7		
	C	249,0		
5	A	277,0	266,0	7,4
	B	274,7		
	C	247,0		
10	A	251,3	251,0	5,7
	B	245,3		
	C	258,3		

* Médias de três determinações

Tabela 7. Análise de variância para verificação do efeito da dose de irradiação gama (^{60}Co) na destruição de aflatoxina B₁ em amostra naturalmente contaminada (258,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$).

Fonte de variação	GL.	Q.M.	p-valor
Dose	3	384	0,392
Erro	32	373	
Total	35		

Coefficiente de variação: 7,5%

Tabela 8. Teores de aflatoxina B₁ em amendoim naturalmente contaminado com 248 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (amostra 5), após irradiação com ^{60}Co a 0, 15, 20, 25 e 30 kGy.

Dose(kGy)	Repetições	Aflatoxina B ₁ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Média($\mu\text{g.kg}^{-1}$)*	Coefficiente de Variação (%)
0	A	268	248a	8,3
	B	227		
	C	249		
15	A	84	75b	12,1
	B	68		
	C	71		
20	A	84	69b	19,3
	B	58		
	C	66		
25	A	70	69b	3,6
	B	72		
	C	67		
30	A	67	78b	18,2
	B	94		
	C	73		

*Médias com a mesma letra na vertical não diferem entre si pelo Teste de Tukey em 5% de probabilidade.

necessário a realização do desdobramento das dosagens de irradiação dentro de cada concentração de aflatoxina B₁.

Considerando-se o nível de significância em 5%, os resultados encontrados evidenciam que para cada concentração de aflatoxina B₁ as doses de irradiação apresentaram comportamento diferenciado, conforme mostrado nos modelos quadráticos (Figura 3).

Conforme observado, os modelos ajustados estão adequados aos dados experimentais. Este fato foi comprovado mediante o alto valor do R² verificado em ambas as concentrações de contaminação, ou seja, próximo a 100%. Observou-se, nos modelos acima, que a maior concentração de aflatoxina B₁ ocasionou resposta maior após irradiação da amostra. Notou-se também que à medida que as doses de irradiação gama aumentavam, houve redução na resposta de teor de aflatoxina B₁. Esta redução foi mais acentuada para a maior concentração de aflatoxina B₁.

A aplicação de doses maiores de irradiação gama (15, 20, 25 e 30 kGy), em amostras naturalmente contaminadas com 5-6% de umidade, conferiu redução de aflatoxina B₁ na faixa de 49 a 72% (Figuras 1 e 2). Esses resultados estão em desacordo com os obtidos por Aziz e Youssef¹⁷. Esses autores, no único trabalho descrito em literatura sobre o assunto, conseguiram redução da aflatoxina B₁, em amendoim *in natura*, de 45% na dose de 5 kGy, 82-88% com 10 kGy e 100% com 20 kGy. Deve-se registrar que nesse trabalho foi utilizada amostra com concentração de 27,0 µg.kg⁻¹ de aflatoxina B₁ e que os autores não mencionaram o nível de umidade da amostra irradiada. Sabe-se que quanto maior o teor de água do grão, mais efetivo é o processo de irradiação. O processo de radiólise da água forma maior número de radicais livres e de outras espécies iônicas e excitadas, aumentando os efeitos indiretos da irradiação^{18,19}.

Outra possível explicação para a irradiação gama não ser totalmente efetiva seria o pequeno tamanho da molécula da

Tabela 9. Teores de aflatoxina B₁ em amendoim naturalmente contaminado com 86 µg.kg⁻¹ (Amostra 6), após irradiação com ^{60}Co a 0, 15, 20, 25 e 30 kGy.

Dose(kGy)	Repetições	Aflatoxina B ₁ (µg.kg ⁻¹)	Média(µg.kg ⁻¹)*	Coefficiente de Variação (%)
0	A	94	86 ^a	17,4
	B	96		
	C	69		
15	A	42	44 ^b	9,1
	B	52		
	C	39		
20	A	38	35 ^b	5,2
	B	35		
	C	32		
25	A	29	29 ^b	3,9
	B	29		
	C	31		
30	A	30	33 ^b	13,2
	B	31		
	C	38		

*Médias com a mesma letra na vertical não diferem entre si pelo Teste de Tukey em 5% de probabilidade.

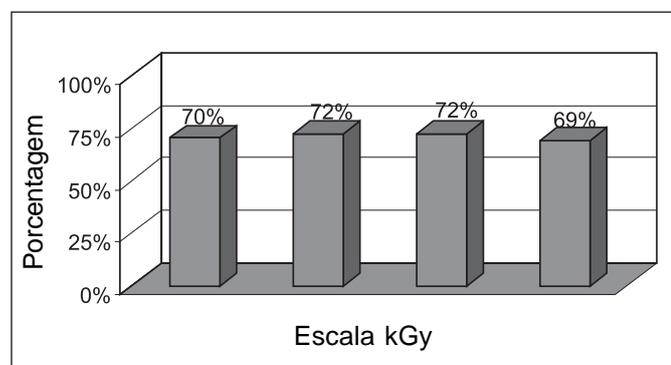


Figura 1. Porcentagem média de redução de aflatoxina B₁ - 248 µg.kg⁻¹ - em função da dose de irradiação.

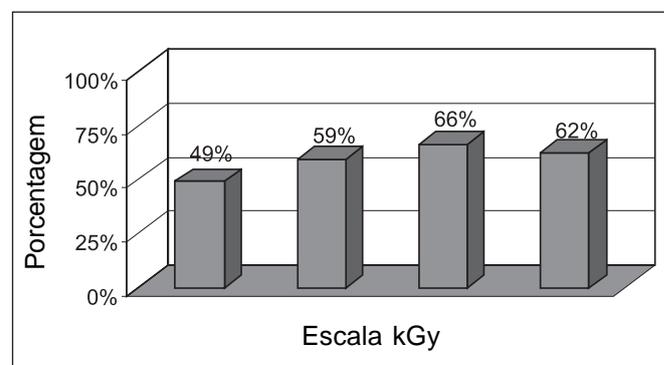


Figura 2. Porcentagem média de redução de aflatoxina B₁ - 86 µg.kg⁻¹ - em função da dose de irradiação.

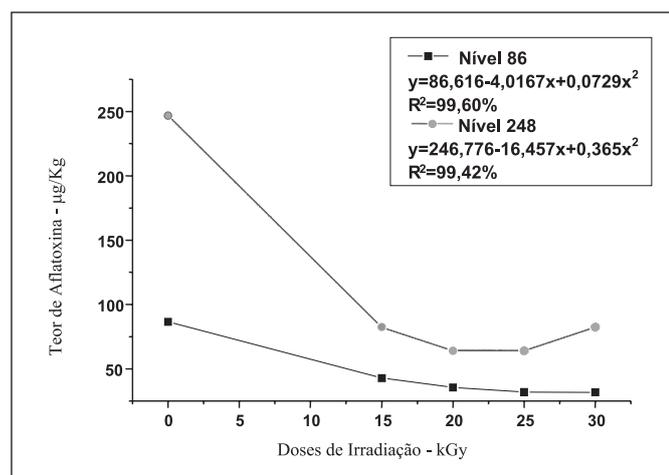


Figura 3. Modelos quadráticos para as doses de irradiação na concentração alta e baixa de aflatoxina.

aflatoxina B₁ (peso molecular 312 g). Sabe-se que a sensibilidade à irradiação gama é proporcional ao seu peso molecular. Uma molécula de DNA, por exemplo, é mais sensível que a de um aminoácido¹⁹. Além disso, o amendoim apresenta elevado teor de proteínas e lípidos (50% de gordura e 22-30% de proteína). Essas moléculas teriam maior probabilidade (efeito competição) de sofrer ação direta e indireta das radiações ionizantes, durante o processo de irradiação, que a aflatoxina B₁^{19,20,21}.

Desde que não foi observada diferença significativa, em nível de 5 % de probabilidade, entre o percentual de destruição de aflatoxina B₁ e as doses de 15, 20, 25 e 30 kGy, sugere-se que seja aplicada a dose de 15 kGy para amendoim *in natura* contaminado com aflatoxina B₁, com o objetivo de reduzir níveis elevados de contaminação. Entretanto, a estabilidade do óleo de amendoim e a qualidade do produto devem ser avaliadas pelo monitoramento dos valores de ácido tiobarbitúrico e do índice de peróxido. Chiou et al. observaram um ligeiro aumento desses parâmetros quando dose de 15 kGy foi aplicada em amendoim em grão²².

CONCLUSÕES

Doses de irradiação gama (^{60}Co) até 10 kGy não foram suficientes para destruir aflatoxina B₁ em amostras naturalmente contaminadas. Estas mesmas doses, entretanto, destruíram cerca de 20% da aflatoxina B₁ em amostras artificialmente contaminadas.

Doses de irradiação gama (^{60}Co) de 15, 20, 25 e 30 kGy destruíram a aflatoxina B₁ em amostras naturalmente contaminadas, em percentual que variou de 49 a 72%.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro e

a Indústria de Alimentos Santa Helena (Ribeirão Preto - São Paulo) pelas amostras utilizadas nesta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Council for Agricultural Science and Technology - CAST. Mycotoxins: economics and health risks. Ames, Iowa: Council for Agricultural Science and Technology, 2003. Task Force Report 139.
2. Bhat RV. Mould deterioration of agricultural commodities during transit: problems faced by developing countries. *Int J Food Microbiol* 1988; 7: 219-25.
3. Rodriguez-Amaya B, Sabino M. Mycotoxin research in Brazil: The last decade in review. *Braz J Microbiol* 2002; 33: 1-14.
4. Hernandez NK, Vital HC, Sabaa-Srur UO. Irradiação de alimentos: vantagens e limitações. *Bol SBCTA* 2003; 37: 154-9.
5. Verruma-Bernardi MR, Spoto MHF. Efeito da radiação gama sobre o perfil sensorial de suco de laranja. *Ciênc Tecnol Aliment* 2003; 23: 28-32.
6. Worcman-Barninka D, Landgraf M. Irradiação de carnes. *Bol SBCTA* 2003; 37: 22-7.
7. Del Mastro NL. Alimentos esterilizados para uso em hospitais e rações alimentares. *Rev Bras Pes Des* 1999; 2: 4.
8. Giroux M, Lacroix M. Nutritional adequacy of irradiated meat - a review. *Food Res Int* 1998; 31: 257-64.
9. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento para irradiação de alimentos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 29 jan. 2001.
10. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of the AOAC International*. 16. ed. Gaithersburg: AOAC International, 1997.
11. Valente Soares LM, Rodriguez-Amaya DB. Survey of aflatoxins, ochratoxins A, zearalenone, and sterigmatocystin in some brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. *J Assoc Off Anal Chem* 1989; 72: 22-5.
12. Gimeno A. Thin layer chromatographic determination of aflatoxins, ochratoxins, sterigmatocystin, zearalenone, citrinin, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, penicillic acid, patulin and penitrem A. *J Assoc Off Anal Chem* 1979; 62: 579-85.
13. Sampaio MBI. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.
14. SAS Institute. *Users guide: statistics. 1989-1996. Version 6.11. System for Windows*. Edition. Cary North Carolina, 1996.
15. Ferreira DF. *Sistema de análise estatística - SISVAR*. Lavras: UFLA, 2000.
16. Samarajeewa U, Sen AC, Cohen MD, Wei CI. Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. *J Food Prot* 1990; 53: 489-01.
17. Aziz NH, Youssef BM. Inactivation of naturally occurring of mycotoxins in some egyptian foods and agricultural commodities by gamma irradiation. *Egypt J Food Sci* 2002; 30: 167-77.
18. Relá PR. Cresce uso de irradiação para conservação de alimentos. *Rev Eng Alim* 2000; 29: 26-9.
19. Landgraf M. Controle do desenvolvimento microbiano nos alimentos. In: Melo Franco BDG, Landraf M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Ed Atheneu; 2003. p. 109-48.
20. Azeredo GA, Bruno RLA, Souza AP, Silva A, Bruno GB, Queiroga VP. Qualidade fisiológica de sementes armazenadas de amendoim. *Rev. Ceres* 2003; 50: 127-41.
21. Fagundes MH. Sementes de amendoim: alguns comentários. 2002 (acesso em: 6 maio 2004). Disponível em: <http://www.conab.gov.br>..
22. Chiou RYY, Lin CM, Shyu SL. Property characterization of peanut kernels subjected to gamma irradiation and its effect on the outgrowth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *J Food Sci* 1990; 55: 210-3.