

## AFLATOXINAS, OCRATOXINA A E ZEARELENONA EM ALIMENTOS PARA CONSUMO ANIMAL NO SUL DO BRASIL – PARTE II

Maria Antonieta BALDISSERA\*  
Janio M. SANTURIO\*  
Samira H. CANTO\*\*  
Patricia H. PRANKE\*\*  
Carlos Alberto A. ALMEIDA\*\*\*  
Cleusa SCHIMIDT\*\*\*\*

RIALA6/739

BALDISSERA, M.A.; SANTURIO, J.M.; CANTO, S.H.; PRANKE, P.H.; ALMEIDA, C.A.A.;  
SCHIMIDT, C. – Aflatoxinas, Ocratoxina A e Zearelenona em alimentos para consumo  
animal no sul do Brasil – Parte II – *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 53(1/2): 5-10, 1993.

**RESUMO:** Os metabólitos tóxicos Aflatoxinas (AFL) B1, B2, G1 e G2, são produzidos por linhagens de fungos *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, Ocratoxina A (OCT) produzida por *A. ochraceus* e várias espécies de *Penicillium* e a Zearelenona (ZEA) pelo *Fusarium graminearum*.

Estas micotoxinas foram pesquisadas em 519 amostras de diferentes substratos constituídos especialmente de milho e ração balanceada, além de outros produtos utilizados na alimentação animal como arroz, sorgo, farelo de trigo e colza, provenientes do Brasil e uma amostra da Argentina durante o período compreendido entre os anos de 1987-1991.

Foi empregado o método SOARES & RODRIGUES-AMAYA para extração e quantificação das micotoxinas, com limites de detecção de 4, 5, 60 p.p.b. para Aflatoxinas, Ocratoxina A e Zearelenona, respectivamente.

Em 68,59% das amostras não foram detectadas estas micotoxinas, mas 24,86% das amostras positivas estavam contaminadas por Aflatoxinas, 1,73% por Ocratoxina A e 4,82% das amostras estavam contaminadas por Zearelenona. O nível máximo de contaminação por Aflatoxinas foi de 1906 p.p.b., de 745 p.p.b. por Ocratoxina A e de 4982 p.p.b. por Zearelenona.

Frente aos resultados obtidos, sugere-se o monitoramento constante destas micotoxinas, principalmente Aflatoxinas, por parte da indústria e a atenção dos produtores de aves e suínos, pois estas micotoxinas comprometem a saúde animal e, por consequência, o desempenho produtivo destes animais.

**UNITERMOS:** Micotoxinas, Aflotoxinas, Ocratoxina A, Zearelenona, cromatografia em camada delgada.

\* Professores DACT e DMVP – Universidade Federal de Santa Maria – Campus – CEP: 97119-900

\*\* Farmacêuticos-Bioquímicos – Bolsistas do CNPq (Bolsa de Aperfeiçoamento)

\*\*\* Farmacêutico Bioquímico

\*\*\*\* Bolsista de Iniciação Científica – FAPERGS

## INTRODUÇÃO

As micotoxinas constituem-se em um grupo de compostos tóxicos produzidos por linhagens fúngicas que crescem sob condições favoráveis em uma grande variedade de substratos, principalmente grãos<sup>13</sup>.

Afetam com frequência cereais e sementes oleaginosas durante a colheita, armazenamento e industrialização<sup>3</sup>.

A presença de micotoxinas em produtos alimentícios depende do crescimento de espécies fúngicas específicas e de fatores como umidade e temperatura<sup>7,17</sup>.

Os metabólitos tóxicos Aflatoxinas (AFL) B1, B2, G1, G2, são produzidos pelos fungos *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, Ocratoxina A (OCT) produzidos por *A. ochraceus* e várias espécies de *Penicillium* e Zearalenona (ZEA) pelo fungo *Fusarium graminearum*<sup>4</sup>.

As principais linhagens fúngicas que produzem AFL, necessitam de determinadas condições para seu desenvolvimento, como umidade relativa do ar entre 80 e 90% e temperatura ambiental superior a 20°C<sup>8,9</sup>. Sendo o Brasil um país de clima tropical, apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento destas micotoxinas.

A AFL B1 é a mais encontrada e também a mais tóxica. Provoca profundas alterações orgânicas traduzidas por hemorragias através da inibição dos fatores II e VII da coagulação sanguínea e lesões no hepatócito; a ingestão de baixas quantidades por longo período determina baixa conversão alimentar nos animais, imunodepressão e câncer hepático. Os rebanhos que consomem grãos contaminados são os mais afetados, principalmente aves e suínos<sup>11,7</sup>.

A Ocratoxina A provoca lesões extensas nos túbulos renais, especialmente em suínos, impedindo a reabsorção de água pelo organismo<sup>5,16</sup>.

A Zearalenona possui efeito estrogênico, principalmente em suínos, podendo produzir edema, profapso de vulva, abortos e crescimento das mamas nos machos. Esta toxina é somente produzida em épocas temperadas ou frias, entre 12 e 14°C, semelhantes às encontradas na região sul do país<sup>4,10</sup>.

Devido à toxicidade destas micotoxinas foram analisados durante cinco anos (1987-1991), alimentos destinados ao consumo animal, através da cromatografia em camada delgada frente as AFL, OCT e ZEA.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 519 amostras de diferentes substratos constituídos principalmente de milho e

ração balanceada, além de outros produtos utilizados na alimentação animal, como arroz, sorgo, farelo de trigo e colza (gráfico 1), provenientes de várias regiões do Brasil e da Argentina (Figura 1), remetidas para o Laboratório de Micotoxinas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), no período compreendido entre os anos de 1987 a 1991.

Amostras pesando aproximadamente 1 kg foram coletadas em diferentes pontos do lote de grãos ou ração a serem avaliados. No laboratório foram triturados, homogenizados e retirada uma subamostra de 50g para a determinação das micotoxinas.

A metodologia empregada para a extração é a preconizada por SOARES e RODRIGUES-AMAYA<sup>15</sup>, a identificação e quantificação foram realizadas através de cromatografia em camada delgada (CCD)<sup>1,17</sup>.

TABELA 1

Tipo de alimentos para consumo animal analisados no período de 1987 a 1991.

AMOSTRAS	ANO					TOTAL	%
	1987	1988	1989	1990	1991		
Milho	35	48	42	47	66	238	45,86
Ração balanceada	12	23	35	35	61	166	31,98
Outros alimentos*	06	20	30	09	50	115	22,16
TOTAL	53	91	107	91	177	519	100,00

\* : arroz, sorgo, trigo, colza, soja, etc.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para AFL, OCT e ZEA detectados em 163 amostras positivas distribuídas nos anos de 1987 a 1991 são mostradas na Tabela 2, onde N. D. (não detectado) expressa valores inferiores ao limite de detecção em CCD para AFL de 4 ppb, OCT de 5 ppb e para ZEA de 60 ppb.

TABELA 2

Distribuição de Aflatoxinas, Ocratoxina A e Zearalenona detectadas em 163 amostras analisadas no período de 1987 a 1991.

AMOSTRAS	ANO					TOTAL	%
	1987	1988	1989	1990	1991		
Aflatoxinas	15	10	08	17	79	129	79,14
Ocratoxina A	N.D.*	02	07	N.D.	N.D.	09	5,52
Zearalenona	N.D.	08	10	02	05	25	15,34
TOTAL	15	20	25	19	84	163	100,00
%	9,2	12,27	15,34	11,66	51,53		100,00

\* N.D.: Não Detectado

ENTRAM GRÁFICO E FIGURA 1

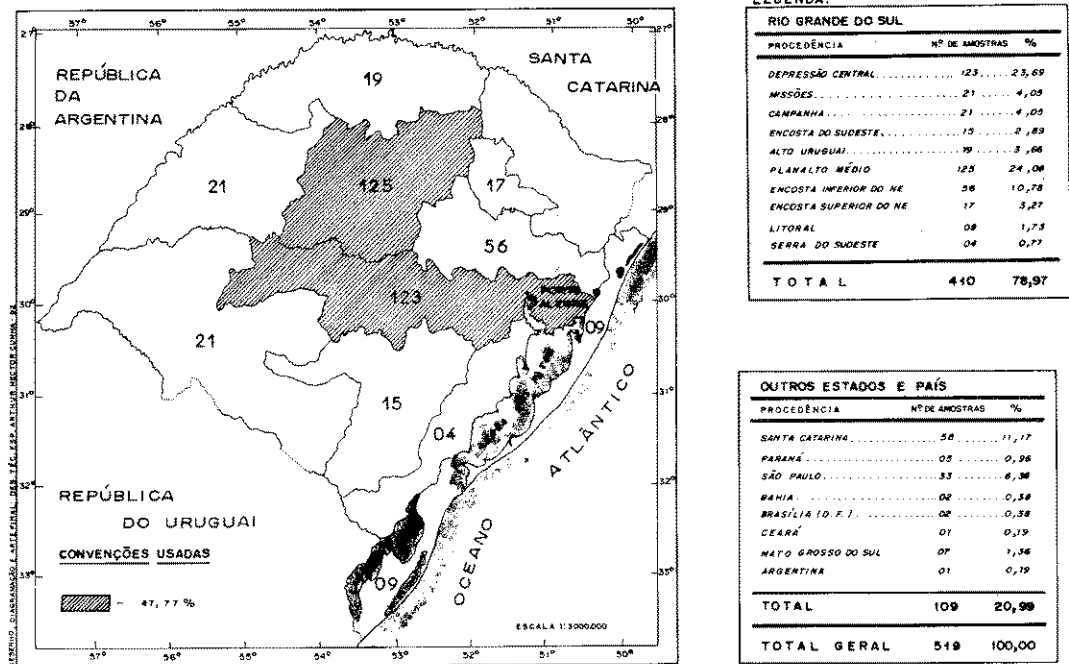


FIGURA 1 - Distribuição segundo a procedência, número de amostras e percentual de amostras analisadas: 1987 - 1991.

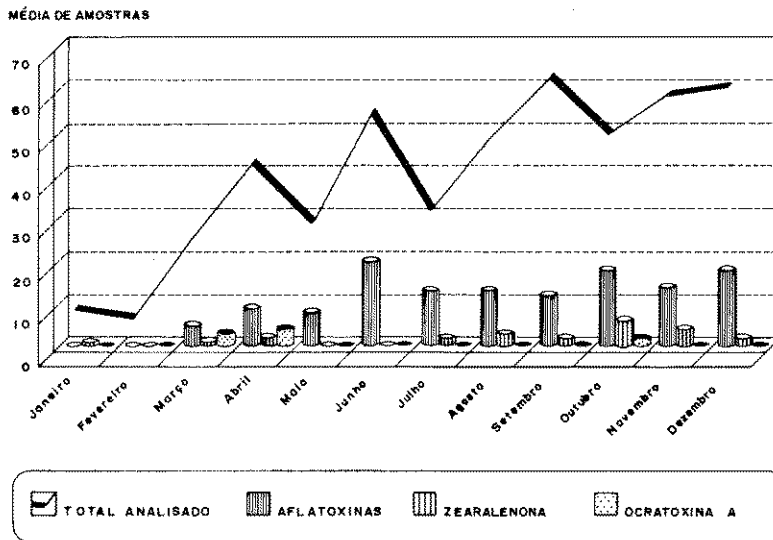


GRÁFICO 1 - Sazonalidade das amostras de alimentos para consumo animal, detectadas com Aflatoxinas, Zearalenona e Ocratoxina A entre 1987 a 1991.

Estes resultados expressam uma positividade de 31,40% frente a estas micotoxinas nos alimentos analisados. As AFL B1, B2, G1 e G2 representam 79,14% (Figura 2) das amostras positivas comprovando, assim, uma predominância desta micotoxina e representando 24,85% do total das amostras analisadas, superando expectativas desta contaminação em outros países como EUA, onde a contaminação chega a apenas 5 a 10% em rações para consumo animal<sup>18</sup>.

Isto permite considerar a aflatoxicose como um dos problemas que pode afetar a produção animal.

Nas Tabelas 3 e 4, observa-se a incidência de AFL, OCT e ZEA, utilizando-se como parâmetros os níveis toleráveis no Brasil<sup>2</sup>, bem como valores mínimos e máximos encontrados.

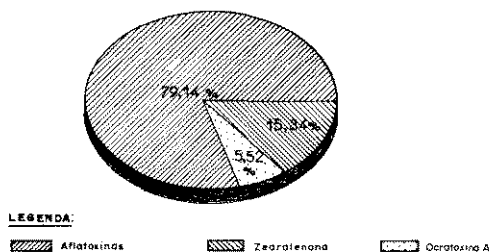


FIGURA 2 - Distribuição das amostras positivas de Aflatoxinas, Ocratoxina A e Zearalenona detectadas no laboratório de micotoxinas da UFSM de 1987-91

FIGURA 2

- Distribuição das amostras positivas de Aflatoxinas, Ocratoxina A e Zearalenona detectadas no laboratório de micotoxinas da UFSM de 1987-91

Os níveis de AFL encontrados foram de até 1906 ppb, em amostras do Rio Grande do Sul, enquanto SABINO *et alii*<sup>11</sup> encontraram níveis de até 3200 ppb em amostras de milho procedente da região sul do

país; já SANTOS *et alii*<sup>12</sup> ao analisar milho contaminado em Minas Gerais, revelaram níveis de AFL de 1985 ppb, o que provocou três surtos de aflatoxicose em suínos.

As amostras positivas para OCT alcançaram percentual de 5,52% frente às demais micotoxinas analisadas, sendo que sete amostras provenientes do estado de São Paulo, apresentaram concentrações de até 645 ppb. Esta contaminação ocorreu em resíduos de farelo de bolacha que foi adicionado como veículo ao concentrado para alimentação de suínos. O desenvolvimento desta micotoxina por linhagens de *Aspergillus ochraceus* ocorre especialmente com umidades de 17% no grão e temperatura de 24°C, condições estas que facilmente acontecem na região Sudeste. Já no Rio Grande do Sul, a contaminação de duas amostras talvez esteja correlacionada ao gênero *Penicillium* que, de acordo com a WHO<sup>16</sup>, necessita de clima frio para produção de OCT.

Os níveis de ZEA em uma amostra de milho no Rio Grande do Sul alcançaram 4982 ppb, provavelmente devido às condições climáticas do estado, onde a temperatura é baixa no inverno e a umidade ambiental é alta, favorecendo a formação desta micotoxina durante o cultivo e principalmente no armazenamento de grãos. O Rio Grande do Sul é a região brasileira com maior risco de contaminação por ZEA, pois esta micotoxina, para ser produzida precisa de alta umidade e de alternância de dias quentes com noites frias<sup>6</sup>. Estas condições climáticas ocorrem durante quase todo o ano neste estado. SABINO *et alii*<sup>10</sup> ao analisarem ZEA nas regiões Sul e Sudeste encontraram 5% de amostras positivas, enquanto SOARES & RODRIGUEZ-AMAYA<sup>15</sup>, na região de Campinas, SP, obtiveram resultados negativos para esta micotoxina. No entanto, em 410 amostras analisadas no Rio Grande do Sul (Tabela 3), foram detectadas 6,1% das amostras contaminadas por ZEA.

Quanto à sazonalidade das micotoxinas (Gráfico 1), observa-se que as AFL ocorreram durante quase todos os meses do ano, com variações mínimas de

TABELA 3

Incidência de Aflatoxinas, Ocratoxina A e Zearalenona em Alimentos Analisados pelo Laboratório de Micotoxina da UFSM de 1987 a 1991.

PROCEDÊNCIA	TOTAL DE AMOSTRAS ANALISADAS		Nº AMOSTRAS POSITIVAS AFLATOXINAS				Nº AMOSTRAS POSITIVAS ZEARELENONA				Nº AMOSTRAS POSITIVAS OCRATOXINA A			
	Nº	%	< 30 PPB		≥ 30 PPB		< 200PPB		≥ 200PPB		< 50 PPB		≥ 50 PPB	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
RIO GRANDE DO SUL	410	79	75	58,1335	27,13	3	12	22	88	2	22,2	ND*	-	
OUTRAS REGIÕES	109	21	18	13,9401	0,8	ND**	-	ND**	-	1	11,1	6	66,7	

\*Valores inferiores a 5 ppb Nº: Número de amostras

\*\* Valores inferiores a 60 ppb%: Percentagem de amostras

TABELA 4

Valores máximo e mínimo de Aflatoxina, Zearalenona e Ocratoxina a Encontrados em 519 amostras. UFSM (1987 a 1991).

MICOTOXINA	PROCEDÊNCIA	VALOR MÍNIMO (ppb)	VALOR MÁXIMO (ppb)
Aflatoxinas	RS *	4	1906
	Outras regiões	5	31,9
Zearalenona	RS	100	4982
	Outras regiões	N.D.**	N.D.
Ocratoxina A	RS	14	21
	Outras regiões	50	745

\* Rio Grande do Sul\*\* : N.D.= Não detectado

positividade. Já a ZEA ocorreu, principalmente de julho a dezembro, em amostras provenientes do RS, confirmando que o clima do estado é o fator preponderante para o seu desenvolvimento.

Devido ao pequeno número de amostras contaminadas com OCT não foi possível determinar épocas do ano de maior ou menor incidência.

Os resultados aqui apresentados permitem concluir que a presença de micotoxinas em alimentos para o consumo animal analisados no Laboratório de

Micotoxinas - UFSM, mostraram um elevado índice de contaminação desses agentes tóxicos.

Em vista dos resultados encontrados, torna-se necessário uma ativa vigilância de alimentos destinados ao consumo animal, pois muitas vezes, a má qualidade destes poderá determinar prejuízos ao produtor rural.

RIALA6/739

BALDISSERA, M.A.; SANTURIO, J.M.; CANTO, S.H.; PRANKE, P.H.; ALMEIDA, C.A.A.; SCHIMIDT, C. - Aflatoxin, Ochratoxin a and Zearalenone in Animal Feedstuffs in South Brazil. Part. II. - *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 53(1/2): 5-10, 1993.

ABSTRACT: The toxic metabolites of aflatoxins are produced by fungi strains *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* Ochratoxin a (OCT) produced by *A. ochraceus* and different species of penicillium and the Zearalenone (ZEA) by the *Fusarium graminearum*. The mycotoxins were tested in 519 samples. The samples used were mainly corn, feedstuffs, rice, sorghum, wheat flour and colza. The samples were collected during the year of 1987-1991 one being from Argentina and all others from Brazil. The method used was the one described by SOARES & RODRIGUES-AMAYA for extraction and quantification of mycotoxins with the limits of detection being 4, 5, 60 ppb for Aflatoxin, Ochratoxin A and Zearalenone, respectively. In 68,59% of the samples no mycotoxins were detected. However 24,68% of the samples were positive for Aflatoxins, 1,73% for Ochratoxin A and 4,82% were contaminated by Zearalenone. The maximum level of Aflatoxin was 1906 ppb; 745 ppb for Ochratoxin A and 4982 ppb for Zearalenone.

These results indicate the necessity of a constant surveillance of mycotoxins, mainly aflatoxins by the industry. The producers of chickens and swine should be aware that mycotoxins are bad for animal health and also for productivity.

Uniterms: Mycotoxins, Aflatoxins, Ochratoxin A, Zearalenone, Thin-layer chromatography

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BALDISSERA, M. A.; SILVA, J.B.; SANTURIO, J.M.; ALMEIDA, C.A. A Multidetecção de Aflatoxina A e Zearalenona por cromatografia em camada delgada - *C. Rev. Soc. Bras. Toxicol.*, 2 (2):45-53, 1989.
2. BRASIL. Leis, decretos, etc. - Resolução nº 34/76, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial, Brasília*, 19 jan., 1977. Seção I. pt. I. p. 710. Fixa padrões de tolerância para as Aflatoxinas em alimentos.
3. EPPLEY, R.M. Screening Method for Zearalenone, Aflatoxin and Ochratoxin: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 51(1): 74-8, 1968.
4. MALMANN, C.A. *Influência da administração de Zearalenona em duas fases de gestação sobre o desenvolvimento reprodutivo de porcas*. Tese de Mestrado, Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, Medicina Veterinária. 1990, 53 p.
5. MERWE, K.J. Van Der; STEYN, P. S.; FOURIEL, L. Micotoxins. Part II. The constitution of Ochratoxin A, B e C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* with. *J. Chem. Soc.*, London, p. 7083-88, 1965.
6. MIROCHA, C.J. & CHRISTENSEN, C.M. The estrogenic mycotoxins synthesized by *Fusarium Mycotoxins*. Ed. I.F.H. Purchase, Amsterdam, 1974, pp. 129-148, 202 p.
7. ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. *Criterios de salud ambiental 11: Micotoxinas*. 1983, 131 p.
8. PREGNOLATTO, W. & SABINO, M. Pesquisa e dosagem de Aflatoxina em amendoim e derivados e em outros cereais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. 20/30:65-71, 1969/1970.
9. RIBEIRO NETO, L.V. Aflatoxinas e Câncer Hepático, *Ciência e Cultura*, 33(8): 1051-3, 1980.
10. SABINO, M.; PRADO, G.; INOMATA, E.I.; PEDROSO, M.O. & GARCIA, R.V. Natural occurrence of Aflatoxins and Zearalenone in maize in Brazil, Part II. *Food Additives and Contaminants*, 6(3): 327-31, 1989.
11. SABINO, M.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.I.; ICHIKAWA, A.H. & GIANNATTASIO, C.M.P. Ocorrência de Aflatoxina B1 em produtos alimentícios e rações animais, consumidos no Estado de São Paulo e várias regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1 e 2): 81-5, 1988.
12. SANTOS, J.L.; RIBEIRO, M.F.B.; SILVA, J.C.P. & FARIA, J.E. Aflatoxicose em suínos, ocorrência de surtos na Zona da Mata de Minas Gerais. *Arg. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 38(2):167-72, 1986.
13. SANTURIO, J.M.; BALDISSERA, M.A.; SILVA, J.B. & BRONDANI, E.R. Detecção de aflatoxinas em rações para consumo animal: Resultados de 1987. *Rev. Centro de Ciências Rurais*. 18(2):169-75, 1989.
14. STOLOFF, L. *Environmental Carcinogens Selected Methods of Analysis*. Lyon, IARC Publications nº 44, cap. 3, 33-62, 1982, 455 p.
15. SOARES, L.M.V. & RODRIGUEZ AMAYA, D.B. Survey of Aflatoxins, Ochratoxin A, Zearalenone and Sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic methods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73(1):22-6, 1989.
16. WHO - Environmental Health Criteria 105: *Selected Mycotoxins: Ochratoxins, Trichotecenes, Ergot*. Geneve, World Health Organization, 1990, 263 p.
17. WHO - Environmental Health Criteria 11: *Mycotoxins*. Geneve, World Health Organization, 1979, 127 p.
18. WOOD, G.E. Aflatoxins in domestic and imported foods and feeds. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71(4): 543-48, 1989.

Recebido para publicação em 04 de dezembro de 1992.