

AFLATOXINAS, OCRATOXINA A E ZEARALENONA EM ALIMENTOS DA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL

Eliana Badiale FURLONG*
Leonor Almeida De Souza SOARES*
Ana Paula VIEIRA**
Geraldine DADALT***

RIALA 06/872

FURLONG, E. B. et al. — Aflatoxinas, Ocratoxina A e Zearalenona em alimentos da região sul do Rio Grande do Sul – Rev. Inst. Adolfo Lutz 58(2): 105-111, 1999

RESUMO: Foi realizado um levantamento de ocorrência de aflatoxinas B₁, B₂, G₁, G₂, ocratoxina A e zearalenona em produtos alimentícios comercializados nas cidades de Rio Grande e Pelotas, RS. As amostras, produtos de arroz (47), milho (39) e trigo (79), foram coletadas em supermercados nos anos de 1996 e 1997. Foi empregado o multimetodo de camada delgada descrito por Soares (1987). A performance deste para cada tipo de produto estudado foi avaliada e os indicadores foram semelhantes aos da literatura para este tipo de método. Os resultados mostraram que 6,7% das amostras estavam contaminadas por micotoxinas. Os produtos de milho foram os que apresentaram níveis de aflatoxina B₁ (32 µg.Kg⁻¹) acima dos limites permitidos pela legislação brasileira. Ocratoxina A foi encontrada em amostras de arroz (48 e 19 µg.Kg⁻¹) e trigo (18 e 26 µg.Kg⁻¹). Zearalenona esteve presente em amostras de milho (163 µg.Kg⁻¹) e farinhas de trigo (105 e 97 µg.Kg⁻¹).

DESCRITORES: aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona, arroz, trigo e milho

INTRODUÇÃO

A motivação para as pesquisas em micotoxicologia, no Sul do Brasil como em outras regiões do mundo, decorrem do fato de que contaminação fúngica e a produção de substâncias tóxicas (micotoxinas) são, direta ou indiretamente, responsáveis por grandes prejuízos na agropecuária regional. Diretamente por alterarem a qualidade dos grãos, do ponto de vista agrônomo e tecnológico, e indiretamente, por provocarem a diminuição do

crescimento, da capacidade reprodutiva e até a morte de animais que consomem os grãos contaminados.^{5,6,14}

A literatura menciona que para os humanos o maior problema decorre da ação crônica das toxinas fúngicas, pois além da alteração do crescimento em jovens e crianças, ocasionam distúrbios neurológicos, imunológicos e aparecimento de câncer em alguns casos.^{3,10,13}

Muitos levantamentos sobre a ocorrência de micotoxinas vem sendo realizados no país, mas ainda há necessidade de informações sobre produtos parcialmente processados e muito empregados em preparos indús-

* Dr^a Ciência de Alimentos

** Mestre em Ciência e Tecnologia Agroindustrial

*** Bolsista de Iniciação Científica CNPq — Realizado no LABORATÓRIO DE MICOTOXINAS — DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE — Rua Eng. Alfredo Huch, 475 — fone: 311900 r 147. Fax : 0532 329716 CEP: 962001-900 — Rio Grande-RS — Email: dqmebf@super.furg.br

triais e domésticos, tais como farinhas de trigo, derivados de arroz e de milho. Isto porque a contaminação destes é aleatória e dependente de uma série de fatores bióticos e abióticos, nem sempre previsíveis.^{1,2,9,11,12}

A informação sobre a qualidade dos alimentos consumidos pela população poderia vir a colaborar com a ação preventiva, que vem sendo desencadeada pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento, no sentido de oferecer alimentos seguros à população. Esta também poderia indicar a necessidade de possíveis correções no sistema de produção dos estabelecimentos rurais e industriais de transformação dos alimentos.

Dentre as dificuldades existentes para que estejam disponíveis dados sobre a situação dos produtos comercializados pode-se destacar a metodologia analítica, os laboratórios com pessoal treinado e o custo das determinações e a amostragem¹⁴.

Assim, pensando em otimizar os recursos financeiros disponíveis e visando contribuir para a tomada de medidas efetivas, no sentido de prevenir danos à saúde pública, o objetivo deste trabalho foi realizar sistematicamente levantamento de ocorrência de aflatoxinas B₁, B₂, G₁, G₂, ocratoxina A e zearalenona em derivados de trigo, arroz e milho, destinados ao consumo humano, comercializados na região sul do Rio Grande do Sul, nos anos de 1996 e 1997.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Amostragem

A coleta de amostras realizou-se no ano de 1996 e 1997 nas lojas de três grandes redes de supermercados existentes nas cidades de Rio Grande e Pelotas, região sul do Rio Grande do Sul. Antes do início da coleta foram identificadas as três marcas mais consumidas de arroz branco, parboilizado e integral; de milho para pipoca, para canjica, fubá e farinhas de trigo especial, integral e farelo de trigo. Os farelos de arroz, por não estarem disponíveis no comércio, foram tomados em diferentes engenhos da região.

Em cada estabelecimento foram coletados um número de pacotes de um quilograma de cada produto de cada marca que representassem aproximadamente 0,5% do total disponível nas prateleiras do estabelecimento no momento da coleta.

Após cada amostragem os produtos de mesmo tipo e marca, provenientes de diferentes pontos de coleta, foram misturados para formar um lote, que posteriormente era quarteado para a tomada da amostra analítica.

Foram formados 79 lotes de derivados de trigo constituídos por farelo (9), farinha integral (21) e farinha

especial (49). Os derivados de milho formaram 39 lotes constituídos por milho de pipoca (9), fubá (21) e milho para canjica (9). Derivados de arroz coletados compuseram 47 lotes formados por arroz integral (12), arroz parboilizado (12), arroz branco (15) e farelo (8).

2. Avaliação da eficiência do método analítico

O multimétodo de camada delgada, proposto por Soares¹⁴, foi avaliado quanto a sua eficiência para o laboratório em que se realizou este trabalho.

Foram testadas a recuperação em três níveis, a repetibilidade e o limite de detecção para aflatoxina B₁ (10, 20, 50 µg.Kg⁻¹), ocratoxina A (15, 25, 50 µg.Kg⁻¹) e zearalenona (50, 100, 150 µg.Kg⁻¹) em um representante de cada tipo de matriz estudada. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Para representar os produtos derivados do arroz, do trigo e do milho foram utilizados respectivamente o arroz branco, a farinha de trigo especial e o fubá.

3. Triagem e quantificação

Foram utilizadas placas prontas de sílica gel G 60 com 0,25 mm de espessura (Wathman) como fase estacionária. Para eluição das toxinas foi empregado o sistema solvente tolueno : acetato de etila : ácido fórmico

(5 : 3 : 0,5) para triagem e para a quantificação o mesmo com o ácido fórmico na proporção de 1. A visualização da presença de toxinas padrão e nos extratos de amostras foi sob luz ultravioleta de ondas longas e curtas.

Para confirmação foram empregadas co-cromatografia e derivação química¹⁴.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Amostragem

Em vista da disponibilidade de recursos financeiros a amostragem enfatizou aqueles produtos que são consumidos em maior quantidade e frequência, sempre com o cuidado de garantir a representatividade das amostras. Os farelos de trigo e arroz, pouco consumidos em alimentação humanas, foram analisados pelo risco de contaminação direta e indireta que oferecem.

Os lotes formados foram compostos por produtos de mesmo tipo e marca, e, sempre que possível com a mesma data de fabricação. A grande dificuldade com este procedimento foi encontrar todos os produtos e marcas em todas as ocasiões em que se realizavam as coletas.

Eficiência do Método Empregado

A eficiência do multimétodo de Soares¹⁴, que vem sendo largamente empregado pelos laboratórios nacionais por sua sensibilidade, precisão, exatidão, simplicidade e custo acessível; foi avaliada, pois para cada tipo de produto a presença de interferentes e de falsos positivos em função de sua matriz. Os reagentes e os procedimentos do analista também influenciam os resultados e precisam estar considerados quando se pretende implantar uma rotina de avaliação de ocorrência de micotoxinas.

Na Tabela 1 estão os resultados médios de três repetições do estudo da recuperação; os coeficientes de variação e os limites de detecção para aflatoxina B₁, ocratoxina A e zearalenona em arroz branco, farinha de trigo especial e fubá que não se apresentaram contaminados durante a triagem.

A micotoxina de mais altos limites de detecção foi a zearalenona, em termos de repetibilidade a aflatoxina B₁ foi a de menor variabilidade, como vem sendo relatado por outros autores que tem utilizado esta metodologia no país.^{2, 9, 11, 14}

Tabela 1. Recuperação, coeficiente de variação e limite de detecção de aflatoxina B₁, ocratoxina A e zearalenona em diferentes produtos*

	Arroz branco	Farinha de trigo	Fubá
Recuperação (%)	Média 3 níveis (CV)	Média 3 níveis (CV)	Média 3 níveis (CV)
Aflatoxina B ₁	84 (5,1%)	91,5 (4,3%)	83 (5,8%)
Ocratoxina A	78 (6,3%)	82,7 (5,6%)	77 (3,8%)
Zearalenona	75 (6,4%)	88 (4,3%)	85 (6,0%)
Coef. Variação (%)			
Aflatoxina B ₁	18	12	17
Ocratoxina A	19	16	23
Zearalenona	20	21	18
Lim. Detecção µg.Kg⁻¹			
Aflatoxina B ₁	2,5	1,9	4,0
Ocratoxina A	6,0	6,0	8,5
Zearalenona	45	40	32

CV: coeficiente de variação entre os níveis de contaminação

*média de três repetições

O método apresentou melhor eficiência quando aplicado a farinhas de trigo. No caso do arroz os resultados dos indicadores de eficiência do método foram atribuídos a maior dificuldade em se uniformizar a granulometria da amostra. Na etapa de triagem, o fubá apresentava muitos interferentes que dificultaram a determinação das micotoxinas. No aspecto geral todos os indicadores de eficiência testados não diferiram dos mencionados em literatura.

Resultados

O arroz e seus derivados estão entre produtos agropecuários de maior volume de produção e comercialização na região sul do Rio Grande do Sul. Os grãos de

arroz são beneficiados para obtenção de arroz integral, branco e parboilizado. O farelo resultante destes processos é utilizado para extração de óleo. Pode-se estimar a partir da diversidade de produtos e dos hábitos de consumo a grande exposição da população a substâncias tóxicas, no caso destes produtos estarem contaminados.

A agroindústria, que processa grãos de trigo, está também, entre as que mais fornecem produtos destinados ao consumo humano. Diariamente são consumidos diversos produtos preparados em ambiente doméstico ou comercial com farinhas comum, especial e integral. Os tratamentos efetuados nos grãos, para dar origem a estes insumos, removem parcialmente a contaminação porém manuseios posteriores ao beneficiamento, tais como embalagem, armazenamento e comercialização podem propiciar a recontaminação.

O milho, dentre os cereais estudados, é consumido na forma de grão principalmente na alimentação animal. Beneficiado é consumido na forma de farinhas de várias granulometrias. Milho para pipoca e canjica são principalmente consumidos na alimentação infantil, sem mui-

tos tratamentos que propiciem grande diminuição nos níveis de micotoxinas, quando presentes no grão.

Na Tabela 2 aparecem os resultados da triagem e quantificação das micotoxinas aflatoxina B₁, B₂, G₁, G₂, ocratoxina A e zearalenona.

Tabela 2. Amostras suspeitas e contaminadas dos produtos estudados

Tipo de Produto	Micotoxina Suspeita	Amostras Confirmadas	Níveis Detectados $\mu\text{g.Kg}^{-1}$
Farelo de arroz	Aflatoxinas (4)	1	48
	Ocratoxina A (2)	1	35
Arroz Integral	Aflatoxina B ₁ (3) Ocratoxina A (2)	nd	—
Arroz Parboilizado	Aflatoxina B ₁ (2) Ocratoxina A (2)	nd	19
Arroz Branco	Zearalenona (2) Ocratoxina A (2)	nd	—
Total	19	3	
Farelo de trigo	Ocratoxina A (4)	1	18
	Zearalenona (3)	1	105
Farinha integral	Aflatoxina B ₁ (3)	nd	—
	Zearalenona (1)	1	97
Farinha especial	Zearalenona (2)	nd	—
	Ocratoxina A (2)	1	26
Total	15	4	
Milho pipoca	Aflatoxina B ₁ (3)	1	32
	Aflatoxina G ₁ (3)	nd	
	Ocratoxina A (2)	nd	
Fubá	Aflatoxina B ₁ (3) Aflatoxina B ₂ (1)	1	30
Canjica	Aflatoxinas (3) Zearalenona (2)	1 B ₁	163
Total	17	4	

— nd: não detectado

A tabela acima mostra farelos de arroz e de trigo contaminados. Os farelos são constituídos principalmente pelas porções mais externas dos grãos, a mais exposta a contaminação fúngica, além disso por se tratar de um subproduto os cuidados no seu manuseio não seguem condições rígidas de higiene ¹.

A contaminação do arroz parboilizado poderia ser justificada pelo fato que este foi submetido a um processo de encharcamento prévio ao descascamento que poderia propiciar a migração de micotoxinas de porções mais externas para o interior do grão ⁴.

Em derivados de grãos de milho a micotoxina mais frequentemente detectada foi a aflatoxina B₁, inclusive em níveis superiores aos permitidos pela Resolução 34/76, do Ministério da Saúde⁸ e Portaria 183 do Ministério da Agricultura⁷, o que vem sendo frequentemente relatado na literatura ^{2,9,11}.

É interessante observar que o número de produtos falsos positivos foi alto (30, 9%) no conjunto de amostras analisadas, porém considerando cada tipo de produto estudado o milho se destacou com 28,2% de amostras suspeitas de contaminação. Os derivados de trigo foram os que apresentaram o menor número de falsos positivos,

o que já era esperado pelos resultados dos testes de avaliação da metodologia.

Os produtos analisados neste trabalho não são muito frequentes nos levantamentos de outros países, pois trata-se de uma amostragem regional, porém os níveis e a frequência da ocorrência podem ser considerados baixos¹². Cabe salientar que na maioria dos relatos são analisados produtos pouco processados, diferente deste caso em que foram coletados alimentos prontos para preparo doméstico ou industrial.

Em qualquer caso a presença de micotoxinas em produtos destinados ao consumo humano coloca em risco a segurança da saúde da população e deveriam ser tomadas providências no sentido de minimizar ou alertar sobre o problema, sempre salientando o aspecto crônico do efeito da contaminação.

Os resultados demonstram também a necessidade de um controle mais rígido da qualidade dos produtos alimentícios, no sentido da contaminação por micotoxinas e suas transformações ao longo de toda a cadeia produtiva.

A Figura 1 ilustra a distribuição percentual de ocorrência de micotoxinas nos produtos estudados.

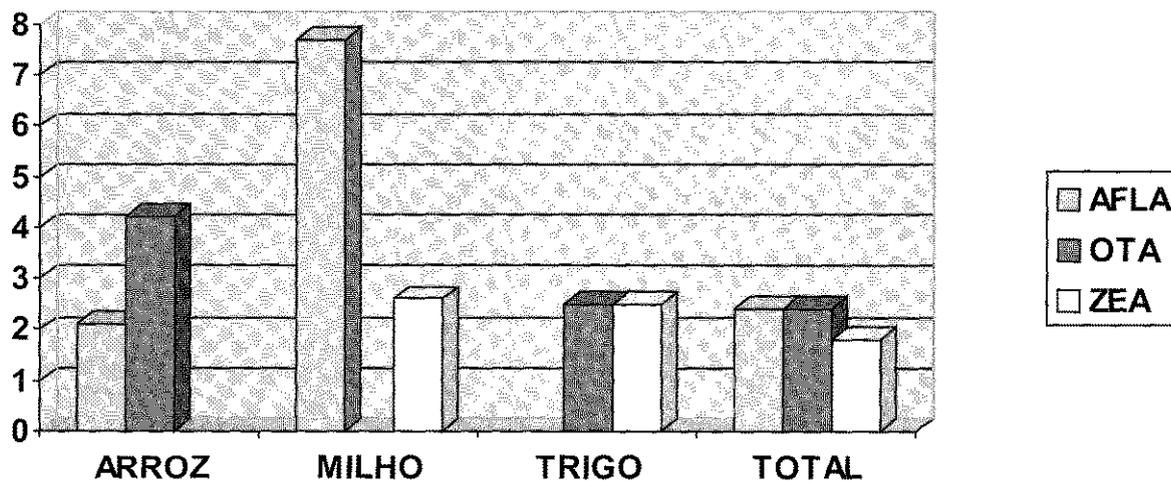


Figura 1 - Distribuição percentual de micotoxinas nos diferentes produtos

A figura acima mostra que não houve ocorrência simultânea de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em todas as amostras estudadas e que no conjunto de produtos avaliados a ocorrência é inferior a 3%.

CONCLUSÕES

O multimétodo de camada delgada para detecção das micotoxinas analisadas apresentou eficiência adequa-

da para todas as matrizes deste levantamento, pois os valores de recuperação foram superiores a 75%, coeficientes de variação entre 12 e 23% e limites de detecção entre 1,9 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ (aflatoxina B₁) e 45 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ (zearalenona) .

Os resultados do levantamento levam a concluir que, no ano de 1996 e 1997 no comércio da região sul do Rio Grande do Sul:

— o maior número de falsos positivos ocorreu em amostras de milho (56%);

— um total de 6,7% das amostras avaliadas estavam contaminadas pelas micotoxinas objeto deste estudo;

— os insumos derivados de milho (15,4%) são os mais contaminados, seguidos pelos de arroz (5%) e de trigo (5%);

a única micotoxina, detectada em níveis acima do permitido pela legislação do Ministério da Saúde e da

Agricultura, foi a aflatoxina B₁ em farelo de arroz (48 µg.Kg⁻¹) e milho para pipoca (32 µg.Kg⁻¹).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão de auxílio financeiro para a realização deste trabalho.

RIALA 06/872

FURLONG, E. B. et al. — AFLATOXINS, OCHRATOXIN A AND ZEARELENONE IN FOODS OF RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL — Rev. Instituto Adolfo Lutz 58(2): 1999

ABSTRACT: A survey about occurrence of aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂ ochratoxin A and zearalenone in food products commercialized in the cities Rio Grande (RS) and Pelotas (RS) was conducted. The samples — products of rice (47), corn (39) and wheat (79) — were purchased on the supermarkets during 1996 and 1997. Simultaneous method of thin layer chromatograph described by Soares (1987) was used. The performance for each studied matrix was evaluated and it was in conform to literature. The results showed that 6,7% of samples was contaminated with analysed mycotoxins. Corn products had aflatoxin B₁ levels that exceeded Brazilian legislation ((32 µg.Kg⁻¹). Ochratoxin A was founded in rice products (48 e 19 µg.Kg⁻¹) and wheat (8 e 26 µg.Kg⁻¹). Zearalenone was present in corn samples (163 µg.Kg⁻¹) and wheat meals (105 e 97 µg.Kg⁻¹).

KEY WORDS: aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone, rice, corn, wheat.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BADIALE-FURLONG & SOARES, L.M.V. Trichothecenes in wheat stored in elevators in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Food Add. and Contaminants*, 12(5):683-688, 1995
2. BALDISSERA, M. A. ; SANTURIO, J.M. ; CANTO, S.H.; PRANKE, P.H.; ALMEIDA, C. A. & SCHIMIDT, C. Aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em alimentos para consumo animal no sul do Brasil – parte II. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 53 (1/2): 5-10, 1993
3. BULLERMAN, L.B.; SCHOEREDER, L.L. & PARK, K.Y. Formation and control of mycotoxins in food. *Journal Food Protection* (47)8:637-646, 1984.
4. COELHO, C.S.P. Migração de Micotoxinas durante o processo de parboilização do arroz. Tese apresentada ao Curso de Mestrado em Engenharia de Alimentos da Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, 1998, 106p.
5. HENNIGEN, M.R. E DICK, T. Incidence and abundance of mycotoxins in grain (maize) used for animal nutrition in Rio Grande do Sul. IN: *Anais do VII Encontro Nacional de Micotoxinas*, São Paulo, SP, 1992.
6. MEIRELLES, M.C.A.; CORREA, B.; FISCHMAN, O.; GAMBALE, W. & PAULA, C.R. Mycoflora of the toxic feeds associated with equine leukoencephalomalacia (ELEM) outbreaks in Brazil. *Mycopathology*, 127: 183-188, 1994.
7. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, Portaria nº 183 de 21 de março de 1996, publicada pelo Diário Oficial da União de 25 de março de 1996, Seção I, pag 4929.
8. MINISTÉRIO DA SAÚDE: Comissão de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução nº 34/76, publicada no Diário Oficial da União em 19 de janeiro de 1977.
9. NORDIN, N.S.D. *Deteção de aflatoxinas e zearalenona em milho (Zea maiz) destinados a alimentação animal*. Tese apresentada ao Curso de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1995, 89p.
10. OMER, R.E.; IDRIS, M.O.; KADARU, M.Y.; BAKKERM N,U.; VANT VEER, P; KOK, J.; HOOGENBOOM, R.L.A.P. & POLMAN, T.H.G.

- Aflatoxin and Liver Cancer in Sudan, *Nutrition and Cancer* 32(3):174-180, 1998
11. PICH, P. H. Detecção de aflatoxinas em produtos derivados de milho comercializadas na região de Porto Alegre. Tese apresentada ao Curso de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998, 112p.
 12. PITTET, A. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds — na updated review. *Revue de Médecine Vétérinaire; Mycotox 98 Symposium International, Mycotoxins in Food Chain*, Toulouse, France, 1998.
 13. SANTURIO, J.M.; BALDISSERA, M.A.; ALMEIDA, S.H.E. et alii. Aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em grãos e rações destinadas ao consumo animal no sul do Brasil. IN: *Anais do VII Encontro Nacional de Micotoxinas*, SP. p14, 1995.
 14. SOARES, L.M.V. *Micotoxinas: Um método para análise simultânea e incidência em alimentos comercializados na região de Campinas*, SP. (Tese de Doutorado), FEA — UNICAMP; 1987.
- Recebido para publicação em 01/04/99

