

DETECÇÃO DE AFLATOXINAS EM RAÇÕES PARA CONSUMO ANIMAL:
RESULTADOS DE 1987

Detection of Aflatoxins in Animal Feed: Results of 1987

Janio Morais Santurio*, Maria Antonieta Baldissera**,
Jussara Bernardes da Silva**, Elianir Rubnich Brondani***

RESUMO

Com o objetivo de se detectar possível contaminação de alimentos por aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, produzidas pelos fungos *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, foram analisadas através de cromatografia em camada delgada, durante o ano de 1987 no laboratório de micotoxinas da UFSM, 74 amostras de alimentos para ração animal. Estas amostras foram coletadas e enviadas por veterinários de 27 diferentes municípios da Região Sul do Brasil. Das rações analisadas em 74,32% não foram detectadas contaminação por aflatoxinas. Em 21,63% das amostras foi detectada a presença de aflatoxina B1 e B1 + B2, sendo que 9,46% destas apresentaram níveis de contaminação a 50µg/kg (ppb). O nível máximo de contaminação encontrado foi de 350ppb de aflatoxina B1. Aflatoxina G1 foi encontrada em 4,05% das amostras mas com índices de contaminação abaixo de 50ppb. Aflatoxina G2 não foi detectada.

UNITERMOS: aflatoxinas, ração animal, levantamento.

SUMMARY

Seventy-four animal feed samples were analysed with the objective to determine the possible presence of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 produced by *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. The samples were analysed by thin layer chromatography during 1987 at the mycotoxins laboratory of the Federal University of Santa Maria. These samples were collected and sent by veterinarians from 27 different counties located in South Brazil. In 74.32% feed samples examined no aflatoxins were detected in 21.63% samples, B1 and B1 + B2 aflatoxins were detected. From these 21.63% samples 9.46% were contaminated above 50µg/kg.

* Prof. Assistente do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Santa Maria. 97.119-Santa Maria, RS.

** Prof. Adjunto do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal de Santa Maria.

*** Bolsista do CNPq.

The maximum contamination level was 0.35mg/kg for B1, below 50µg/kg for G1 in 4.05% of the samples. No G2 aflatoxins was detected.
KEY WORDS: aflatoxins, animal feed, survey.

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas são metabólitos fúngicos produzidos pelo *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, sendo altamente tóxicos e carcinogênicos para os animais e o homem que ingerirem grãos contaminados. (FULGUEIRA & BRACALENTI, 5; PREGNOLATTO & SABINO, 9; LINSELL, 7). Culturas de milho, sorgo, amendoim, trigo, arroz, feijão, etc. são contaminados pelos fungos durante a colheita, manuseio e estocagem (DALVI, 2; OMS, 8). O amendoim e o miho são, dentre os produtos agrícolas, os que têm maior contaminação por aflatoxinas (WYLLIE & MOREHOUSE, 13). Dentre os fatores que determinam a produção destes metabólitos secundários pelo *Aspergillus* são o grau de umidade, a temperatura ambiente e a composição química do grão (FAILLA et alii, 4; DALVI, 2; OMS, 8). Apesar de já terem sido isoladas 17 aflatoxinas (OMS, 8), somente 4 são bem conhecidas e estudadas sob o ponto de vista toxicológico. Por serem intensamente fluorescentes à luz ultravioleta são designadas de B1, B2, G1 e G2 representando fluorescência azul (blue) e verde (green) no espectro UV (ASAO et alii, 1).

Os métodos de análise para aflatoxinas tem disputado um papel chave no desenvolvimento de programas de pesquisa e levantamento de dados. Dentre estes a cromatografia em camada delgada (CCD) é o método mais usado pela sua praticidade e custo razoável. Por isso utilizou-se esta metodologia para análise qualitativa e quantitativa com o objetivo de determinar as aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em alimentos próprios para consumo animal.

MATERIAL E MÉTODO

1) 74 amostras de alimentos para consumo animal provenientes da Região Sul do Brasil foram colhidas durante o ano de 1987. As amostras eram constituídas de: milho, ração balanceada, sorgo, aveia, farelo de arroz, farelo de soja e amendoim oriundas de 27 diferentes municípios dos Estados do RS, SC e PR.

2) A extração das Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 bem como sua determinação, e quantificação pela CCD foram realizadas segundo técnica preconizada por PREGNOLATTO & SABINO (9).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distribuição das amostras e suas porcentagens nas diferentes localidades da região sul estão expressos na Tabela 1 e a Tabela 2 mostra os diferentes tipos de amostras analisadas.

TABELA 1. Localidades de onde provieram as amostras de ração para análise de aflatoxinas no Laboratório de Micotoxinas da UFSM - 1987.

| Localidades | Nº Amostras | % |
|--------------------------|-------------|---------------|
| Santa Maria - RS | 15 | 20,27 |
| Ijuí - RS | 11 | 14,86 |
| São Sepé - RS | 09 | 12,16 |
| Lageado - RS | 04 | 5,40 |
| Bagé - RS | 03 | 4,05 |
| São Borja - RS | 03 | 4,05 |
| Dom Pedrito - RS | 03 | 4,05 |
| Cerro Largo - RS | 02 | 2,70 |
| Concórdia - SC | 02 | 2,70 |
| Três de Maio - RS | 02 | 2,70 |
| Jóia - RS | 02 | 2,70 |
| Augusto Pestana - RS | 02 | 2,70 |
| Teutônia - RS | 02 | 2,70 |
| Júlio de Castilhos - RS | 01 | 1,35 |
| Ajuricaba - RS | 01 | 1,35 |
| Imaruí - SC | 01 | 1,35 |
| Porto Alegre - RS | 01 | 1,35 |
| São Valentim - RS | 01 | 1,35 |
| Chiapeta - RS | 01 | 1,35 |
| Camaquã - RS | 01 | 1,35 |
| Faxinal do Soturno - RS | 01 | 1,35 |
| São Lourenço do Sul - RS | 01 | 1,35 |
| Apucarana - PR | 01 | 1,35 |
| Alegrete - RS | 01 | 1,35 |
| Santo Augusto - RS | 01 | 1,35 |
| Boa Vista do Buricá - RS | 01 | 1,35 |
| Tenente Portela - RS | 01 | 1,35 |
| T O T A L | 74 | 100,00 |

Nas Tabelas 3, 4 e 5 são apresentados os resultados das análises de aflatoxinas, nos diferentes tipos de alimentos, através da CCD.

TABELA 2. Distribuição dos alimentos para consumo animal analisados no ano de 1987 no Laboratório de Micotoxinas.

| Alimento | Nº Amostras | % |
|------------------|-------------|---------------|
| Milho | 41 | 55,41 |
| Ração* | 16 | 21,62 |
| Sorgo | 06 | 8,11 |
| Aveia | 03 | 4,05 |
| Farelo de Arroz | 04 | 5,41 |
| Farelo de Soja | 02 | 2,70 |
| Amendoim | 02 | 2,70 |
| T O T A L | 74 | 100,00 |

* Mistura balanceada de vários componentes

TABELA 3. Distribuição das aflatoxinas B1, B1 + B2 e G1 em amostras de rações para consumo animal no ano de 1987, detectadas no Laboratório de Micotoxinas da UFSM.

| Aflatoxina | Nº Amostras | % |
|------------------|-------------|---------------|
| B1 | 12 | 16,22 |
| B1 + B2 | 04 | 5,41 |
| G1 | 03 | 4,05 |
| ND* | 55 | 74,32 |
| T O T A L | 74 | 100,00 |

*ND = Não Detectado

TABELA 4. Níveis de aflatoxina B1 detectados em rações para consumo animal detectados no Laboratório de Micotoxinas da UFSM em 1987.

| Aflatoxina B1 µg/kg (ppb) | Nº Amostras | % |
|------------------------------|-------------|---------------|
| < 49 | 09 | 56,25 |
| 50 - 99 | 05 | 31,25 |
| 100 - 299 | 01 | 6,25 |
| 300 - 399 | 01 | 6,25 |
| T O T A L | 16 | 100,00 |

TABELA 5. Níveis de aflatoxina B2 encontrados conjuntamente com B1 em rações para consumo animal detectados no Laboratório de Micotoxinas da UFSM em 1987.

| Aflatoxina B2 µg/kg (ppb) | Nº Amostras | % |
|------------------------------|-------------|--------|
| < 49 | 01 | 25,00 |
| 50 - 100 | 03 | 75,00 |
| T O T A L | 04 | 100,00 |

A amostragem é uma das partes mais importantes no procedimento analítico. Erros na amostragem e subamostragem afetam a precisão das análises quantitativas de Aflatoxinas (SABINO, 10; DICKENS, 3). Em vista disto procurou-se coletar amostragens significativas do lote suspeito usando-se subamostragens de acordo com padrões internacionais. Para cada tonelada de ração foram retiradas alíquotas de 10 pontos diferentes, posterior homogeneização e retirada uma sub-amostra para ser enviado ao laboratório, onde o material foi triturado, retirando-se uma alíquota para análise. Isto é necessário pois a distribuição das aflatoxinas nos grãos é desuniforme, havendo locais com altas concentrações destas toxinas e outros sem nenhuma contaminação.

Das 4 aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2), a que se detecta habitualmente em maiores concentrações é a B1 (OMS, 8). Confirmando os resultados observados nos Estados Unidos por SHOTWELL et alii (12) que analisaram mais de 1500 amostras de milho, detectando uma contaminação de 3% das amostras cujas concentrações oscilaram de 3 a 37ppb de aflatoxina B1 somada com G1. Pelos dados apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5, o grau de contaminação dos alimentos para animais por aflatoxinas B1, B2 e G1 totalizaram 25,68% das amostras, um índice muito superior ao verificado nos Estados Unidos. Mas este significativo percentual de amostras contaminadas por aflatoxinas é, em parte, explicado pelo fato destas amostras terem sido colhidas por veterinários de campo que suspeitavam da qualidade dos produtos, não sendo, portanto, amostragem aleatória. Em 5,41% das amostras analisadas foram encontradas, concomitantemente Aflatoxina B1 + B2, confirmando os resultados de LACEY (6) que afirmou ter detectado estas duas toxinas juntas, produzidas por 80% de 1626 cepas isoladas de *A. flavus*.

Quanto aos níveis de contaminação, a DIFISA, órgão do Ministério da Agricultura, através da Portaria 01/84 recomenda que os níveis máximos toleráveis de contaminação de produtos agrícolas por aflatoxinas no Brasil, sejam de 50ppb. Entretanto foram encontradas 7 amostras (9,46%) com níveis superiores ao tolerável, indicando que as mesmas estavam impróprias para o consumo dos animais.

CONCLUSÕES

- a) Do total de amostras analisadas 74,32% não apresentaram contaminação por aflatoxinas;
- b) Em 21,63% das amostras foram detectadas a presença de aflatoxina B1 e B1 + B2 na mesma amostra;
- c) Em 7 amostras (9,46%) ocorreu um nível de contaminação superior (50-350ppb) ao máximo tolerável no Brasil que é de 50ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Aflatoxina G1 foi encontrada em 3 amostras (4,05%) com níveis inferiores a 49ppb.

BIBLIOGRAFIA

1. ASAO, T.; BÜCHI, G; ABDEL-KADER, M.M.; CHANG, S.B.; WICK, E.L. & VOGAN, G.N. Aflatoxins B and G. *J.Am.Soc.*, 85:1706-7, 1963.
2. DALVI, R.R. An overview of aflatoxicosis of poultry: its characteristics, Prevention and reduction. *Vet.Res.Com.*, 10:429-43, 1986.
3. DICKENS, J.W. & WHITAKER, T.B. Sampling and sample preparation. In: *Environmental carcinogens. Selected Methods of Analysis*, Vol. 5-Some Mycotoxins. IARC, Lyon, France, 1982. p.17-32.
4. FAILLA, L.J.; LYNN, D. & NIEHAUS, W.G. Correlation of Zn^{2+} content with aflatoxin content of corn. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(1):73-4, 1986.
5. FULGUEIRA, C. & BRACALENTI, B.J.C. Detección simultânea de aflatoxina B1 y zearalenona en alimentos balanceados para cerdos. *Rev.Lat.Amer.Microbiol.*, 29:216-23, 1987.
6. LACEY, J. Factors affecting micotoxin Production. In: P.S.Steyn and R. Uleqqar (EDS.), *Mucotoxins and Phycotoxins*. A collection of Invited Papers Presented at the Sixth International, IUPAC, Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Pretoria, Republic of South Africa, 22-25 July 1985. 65-76, 1986.
7. LINSELL, A. Carcinogenicity of Mycotoxins. Chapter 1. In: *Environmental carcinogens. Selected Methods of Analysis*, vol. 5 - Some Mycotoxins, IARC, Lyon, France, p.3-14, 1982.
8. ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. *Crîtérios de Salud ambiental 11: Micotoxinas*, Ed. OPS/OMS, México, 1983. 131p.
9. PREGNOLATTO, W. & SABINO, M. Pesquisa e dosagem de aflatoxina em amendoim e derivados e outros cereais. *Rev.Inst.Adolfo Lutz*, 29/30:65-71, 1969/1970.

-
10. SABINO, M. *Aspectos toxicológicos e metodologia analítica de aflatoxinas em alimentos*. São Paulo. Instituto Adolfo Lutz. s.d. 10p. (Publicação Avulsa).
 11. SHOTWELL, O.L.; HESSELTINE, C.W.; BURMEISTER, H.R.; KWOLEK, W.F.; SHANNON, G.M. & HALL, H.H. Survey of cereal grains and soybeans for the presence of aflatoxin: II. Corn and Soybeans. *Cereal Chem.*, 46:454-63, 1969.
 12. SHOTWELL, O.L.; HESSELTINE, C.W.; GOULDEN, M.L. & VANDEGRAFT, E.E. Survey of corn for aflatoxin, zearalenone and achratoxin. *Cereal Chem.*, 47:700-7, 1970.
 13. WYLLIE, T.D. & MOREHOUSE, L.D. *Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicosis: An encyclopaedic handbook*. New York & Basel, Marcel Dekker, 1977. 278p.