

204

Circular Técnica

Sete Lagoas, MG
Dezembro, 2014

Autores

Priscíula Ferreira

Bolsista de Iniciação Científica CNPq/ Embrapa/ UNIFENAS, Belo Horizonte, MG - pris71@yahoo.com.br

Valéria Aparecida Vieira Queiroz

Nutricionista, D.Sc. em Produção Vegetal, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, valeria.vieira@embrapa.br

Renata Regina Pereira da Conceição

Mestranda Universidade Federal do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, renataponts@yahoo.com.br

Rafael de Araújo Miguel

Químico, Técnico da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, rafael.miguel@embrapa.br



Micotoxinas em Produtos Derivados de Milho Comercializados em Minas Gerais

Introdução

O Estado de Minas Gerais ocupa posição de destaque no consumo de milho e de seus derivados desde a época da colonização, sendo o cereal utilizado no preparo de diversos pratos, entre outros, a broa, o angu, a canjiquinha, o mingau de milho verde, a canjica doce, a pamonha e o corá (CAVALIERI, 2010).

As micotoxinas são substâncias produzidas por fungos, altamente tóxicas para o homem e os animais (SANTURIO, 2000). As de maior incidência em milho são, principalmente, as fumonisinas, as aflatoxinas, a zearalenona e a ocratoxina (KAWASHIMA; VALENTE SOARES, 2006). As fumonisinas são as micotoxinas com maior incidência em milho, são responsáveis por causar leucoencefalomalácia em equínos, edema pulmonar em suínos e têm sido, epidemiologicamente, associadas ao câncer de esôfago em humanos (OTTONI, 2008). As aflatoxinas são consideradas as micotoxinas causadoras dos danos mais severos à saúde de seres humanos e animais, possuindo propriedades carcinogênicas, mutagênicas, teratogênicas e imunossupressoras (LAZO; SIERRA, 2008).

O crescimento fúngico e a formação de micotoxinas são dependentes de uma série de fatores, como umidade, temperatura, presença de oxigênio, tempo para o crescimento fúngico, constituição do substrato, características genéticas, lesões nos grãos causadas por insetos ou dano mecânico/térmico, quantidade de inóculo fúngico, interação/ competição entre as espécies fúngicas, sistemas de secagem e armazenamento (SCUSSSEL, 1998). Segundo Jouany (2007), a forma mais segura e economicamente viável para obtenção de alimentos livres de micotoxinas é a prevenção da formação das mesmas por meio das boas práticas agrícolas, de transporte, de manufatura e de armazenagem.

A incidência de micotoxinas em milho e em produtos derivados tem sido relatada em estudos realizados em vários estados brasileiros (MACHINSKI; VALENTE SOARES, 2000; VAN DER WESTHUIZEN et al., 2003; BITTENCOURT et al., 2005; AMARAL et al., 2006; KAWASHIMA; VALENTE SOARES, 2006; CRUZ, 2010), porém, poucos foram os trabalhos realizados com os produtos mais consumidos e comercializados no Estado de Minas Gerais. Assim, devido aos potenciais prejuízos que essas substâncias podem causar para o agronegócio e para a saúde humana e ao elevado consumo de produtos à base de milho em Minas Gerais, o objetivo deste trabalho foi avaliar a incidência de aflatoxinas e de fumonisinas totais em canjiquinha, fubá e farinha de milho comercializados no município de Sete Lagoas, Estado de Minas Gerais.

Material e Métodos

Entre fevereiro e março de 2010 foram adquiridas, em quatro supermercados do município de Sete Lagoas, região central de Minas Gerais, cinco amostras de fubá, cinco de farinha de milho e seis de canjiquinha, de marcas variadas. As 16 amostras foram armazenadas a -18 °C no Laboratório de Segurança Alimentar da Embrapa Milho e Sorgo até o momento das análises. Os teores de aflatoxinas totais e de fumonisinas totais foram determinados em fluorímetro VICAN, Séries-4 com purificação prévia das amostras em colunas de imunoafinidade AflaTest e FumoniTest, respectivamente, de acordo com procedimentos preconizados nos manuais de análise de aflatoxinas e fumonisinas da VICAM. As análises foram realizadas em triplicata.

Como as amostras de fubá já se encontravam na granulometria adequada, apenas as amostras de farinha de milho e as de canjiquinha passaram por processo de moagem em moinho marca IKA - modelo A11 basic antes das análises.

O preparo das amostras para as análises foi realizado por meio de homogeneização em quarteador em Y. Uma fração de 20 g foi pesada em balança analítica (OHAUS, modelo AR3130) e transferida para Erlenmeyer de 250 mL onde foram adicionados 2 g de cloreto de sódio (NaCl) e 40 mL de solução metanol:água (80:20 v/v). Para as amostras de farinha de milho utilizou-se volume de 80 mL de metanol 80% e 20 g de amostra, pois este produto absorvia muito o solvente, dificultando a extração, e ao final da análise dobraram-se os valores obtidos. Após a etapa de extração, os frascos foram levados para agitação em mesa agitadora (Nova Ética, modelo 109) por 2 minutos a 200 rpm e, em seguida, seu conteúdo foi filtrado em papel qualitativo.

Para as análises de *aflatoxinas totais*, pipetaram-se 5 mL do filtrado para um Béquer, adicionaram-se 20 mL de água deionizada e, após homogeneização e filtração em filtro de microfibra de 11,0 cm / 1,5mm (#G31955), um volume de 10 mL da solução foi aplicado em coluna de imunoafinidade Aflatest ® (VICAN). Em seguida, o conteúdo da coluna foi lavado com 10 mL de água deionizada por duas vezes. As aflatoxinas foram eluídas com 1,0 mL de metanol, grau HPLC. Ao eluato adicionou-se 1,0 mL de solução reveladora para aflatoxinas (VICAN) e, após 4 minutos, a concentração de aflatoxinas totais foi obtida em fluorímetro VICAN Serie-4, previamente calibrado.

Para as análises de fumonisinas totais, pipetou-se 5 mL do filtrado para um Béquer, adicionaram-se 20 mL de tampão PBS/0,1% Tween 20 e após homogeneização e filtração em filtro de microfibra de 9,0 cm/1,0 µm (#G2005), um volume de 10 mL da solução foi aplicado em coluna de imunoafinidade Fumonitest® (VICAN). Em seguida, o conteúdo da coluna foi lavado com 10 mL de tampão PBS/0,1% Tween 20 por duas vezes. As fumonisinas foram eluídas com 1,0 mL de metanol, grau HPLC. Ao eluato adicionou-se 1,0 mL de solução reveladora para fumonisina (VICAN) e, após 4 minutos, a concentração de fumonisinas totais foi obtida em fluorímetro VICAN, Serie-4, previamente calibrado.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos mostraram contaminação por aflatoxinas em 10 amostras e por fumonisinas em 8 amostras das 16 analisadas, ou seja, 62,5% e 50% das amostras, respectivamente (Tabelas 1, 2 e 3). Embora a maioria dos produtos tenha apresentado contaminação, os níveis se encontravam abaixo dos limites máximos

tolerados (LMT) para esses produtos no Brasil (BRASIL, 2011) tanto para aflatoxinas totais (limite de 20 µg kg⁻¹) quanto para fumonisinas totais (limite de 2500 µg kg⁻¹).

Tabela 1. Teores de aflatoxinas totais e fumonisinas totais (µg kg⁻¹) em amostras de fubá de milho de seis marcas comerciais, coletadas em supermercados de Sete Lagoas, MG .

| Marca | Aflatoxinas | Fumonisinas |
|---------|-------------------|-------------------|
| Marca 1 | 1,60 ^a | 605 ^b |
| Marca 2 | 0,04 ^b | 985 ^a |
| Marca 3 | 0,39 ^b | 585 ^b |
| Marca 4 | 0,26 ^b | 370 ^{bc} |
| Marca 5 | nd | 55 ^c |
| Média | 0,57 | 520 |

*Nd = não detectado

Médias seguidas pela mesma letra na coluna são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Teores de aflatoxinas totais e fumonisinas totais (µg kg⁻¹) em amostras de canjiquinha de milho (quirera) de seis marcas comerciais, coletadas em supermercados de Sete Lagoas, MG .

| Marca | Aflatoxinas | Fumonisinas |
|---------|-------------------|-------------|
| Marca 1 | nd | nd |
| Marca 2 | nd | nd |
| Marca 3 | nd | nd |
| Marca 4 | 1,11 ^a | nd |
| Marca 5 | 0,21 ^b | nd |
| Marca 6 | 0,01 ^b | 60 |
| Média | 0,44 | 60 |

*Nd = não detectado

Médias seguidas pela mesma letra na coluna são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Teores de aflatoxinas totais e fumonisinas totais (µg kg⁻¹) em amostras de farinha de milho de seis marcas comerciais, coletadas em supermercados de Sete Lagoas, MG.

| Marca | Aflatoxinas | Fumonisinas |
|---------|-------------|-------------|
| Marca 1 | 0,36 | nd |
| Marca 2 | 0,05 | 20 |
| Marca 3 | nd | 37 |
| Marca 4 | 0,18 | nd |
| Marca 5 | nd | nd |
| Média | 0,20 | 28,5 |

*Nd = não detectado

Médias seguidas pela mesma letra na coluna são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Conforme Tabelas 1, 2 e 3, entre os três produtos analisados, fubá, canjiquinha e farinha de milho, o que apresentou os maiores índices de contaminação foi o fubá de milho, cujas cinco marcas analisadas estavam contaminadas com fumonisinas com teores entre 55 e 985 µg kg⁻¹ e quatro com aflatoxinas com concentrações entre 0,04 µg kg⁻¹ e 1,6 µg kg⁻¹. Apesar de terem sido observadas diferenças estatísticas entre as marcas de fubá analisadas, os teores de ambas micotoxinas estavam abaixo dos limites máximos tolerados pela legislação vigente (BRASIL, 2011).

Por outro lado, o produto canjiquinha de milho apresentou os menores índices de contaminação com essas micotoxinas (Tabela 2). Das seis marcas analisadas, foi detectada presença de fumonisinas em apenas uma (marca 6, teor de 60 µg kg⁻¹) e de aflatoxinas em três, embora diferentes estatisticamente, os níveis foram baixos (entre 0,01 e 1,11 µg kg⁻¹).

No caso da farinha de milho, as marcas 2 e 3 apresentaram contaminação com fumonisinas ($20 \mu\text{g kg}^{-1}$ e de $37 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente) e 1, 2 e 4 com aflatoxinas (entre $0,05$ e $0,36 \mu\text{g kg}^{-1}$) sem diferença estatística entre elas.

Corroborando esses resultados, Machinsky & Valente Soares (2000) avaliaram 81 alimentos à base de milho comercializados na cidade de Campinas, SP, e detectaram contaminação com as fumonisinas B1 em 40 e B2 em 44 amostras. Por outro lado, Scuff e Scussel (2004) analisaram a incidência de fumonisinas B1 e B2 em farinha de milho, milho de pipoca e canjica, comercializados em Santa Catarina, e verificaram que 92,68% das amostras encontravam-se com teores detectáveis de fumonisia, sendo que a farinha de milho foi o produto que obteve o maior índice de contaminação, diferente dos resultados obtidos no presente trabalho, o qual apresenta o fubá com maior incidência dessa micotoxina.

No que tange à presença de aflatoxinas, Marques (2007) também encontrou resultados semelhantes ao presente trabalho em amostras comerciais de quirera, às quais se encontravam com teores abaixo de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$. Da mesma forma, Amaral et al. (2006) observaram baixa ocorrência de aflatoxinas nos produtos à base de milho analisados em Maringá e Marialva, PR. Entretanto, os autores concluíram que a Ingestão Diária Provável Média (IDPM) de aflatoxina B1 estava acima da Ingestão Diária Tolerável (IDT), indicando risco para a população brasileira da região Sul do Brasil, devido ao maior consumo de produtos à base de milho naquela região.

De acordo com Scussel (1998), diversos fatores favorecem o desenvolvimento de fungos e a produção de toxinas nos grãos como: umidade relativa, temperatura, luz, composição química e danos mecânicos nos grãos. Além desses, as condições de secagem e estocagem e o tipo de embalagem

utilizado são fatores chave envolvidos no desenvolvimento de fungos. Para que os grãos tenham estocagem segura deve-se realizar secagem homogênea, abaixo da umidade crítica, manter os grãos em ambiente sem roedores e evitar quebra de grãos durante a colheita, secagem e estocagem. Assim sendo, é provável, que os produtos analisados, tenham recebido boas práticas tanto agrícolas quanto de armazenamento, o que pode ter proporcionado qualidade adequada para consumo. Outros fatores relativos às condições climáticas durante a época de cultivo do milho e à resistência das cultivares utilizadas no plantio não puderam ser identificados visto terem sido os produtos adquiridos em supermercados.

Além disso, os produtos farinha, canjiquinha e fubá de milho são obtidos a partir do processo de moagem do milho a seco, onde por meio mecanizado, o endosperma, o pericarpo e o gérmen do milho são separados e utilizados para diferentes finalidades (MORAES, 2009). Por possuir estrutura mais rígida, o pericarpo constitui barreira física contra a entrada de fungos no endosperma dos grãos e sua retirada no processamento, pode contribuir para redução nos teores de micotoxinas nos produtos processados em relação aos grãos inteiros. Assim, os baixos teores de micotoxinas detectados nos produtos analisados no presente trabalho e em outros (CRUZ, 2010; MARQUES, 2007) podem ser em virtude desse fato. Corroborando esse argumento, Scudamore e Patel (2000) observaram que uma limpeza inicial das amostras de milho realizada após moagem dos grãos permitiu redução de 40% na concentração de aflatoxinas e de 32% na de fumonisinas em relação aos teores iniciais detectados nessas mesmas amostras.

Conclusões

Os teores de aflatoxinas e de fumonisinas detectados nos produtos fubá, farinha e

canjiquinha de milho amostrados em Minas Gerais encontravam-se abaixo dos limites máximos tolerados para ambas micotoxinas no Brasil. Assim, esses produtos, referentes aos lotes analisados, não ofereciam risco à saúde humana.

Apesar dos níveis dessas toxinas se apresentarem baixos no presente trabalho, deve haver um monitoramento constante, visto ser a contaminação de produtos à base de milho por micotoxinas dependente de um conjunto de fatores.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq, pela bolsa de iniciação científica. À Embrapa Milho e Sorgo pela oportunidade de estágio. À Solcampo pela doação das colunas de imunoafinidade FumoniTestÒ e AflaTestÒ utilizadas nas análises de fumonisinas.

Referências

- AMARAL, K. A. S.; NASCIMENTO, G. B.; SEKIYAMA, L.; JANEIRO, V.; MACHINSKI JR., M. Aflatoxinas em produtos a base de milho comercializados no Brasil e riscos para a saúde humana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 336-342, 2006.
- BITTENCOURT, A. B. F.; OLIVEIRA C. A. F.; DILKIN, P.; CORRÊA, B. Mycotoxin occurrence in corn meal and flour traded in São Paulo, Brazil. **Food Control**, Oxford, v. 16, n. 2, p. 117-120, 2005.
- BRASIL. Resolução nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 22 fev. 2011. Seção 1, p. 72.
- CAVALIERI, R. B. **Culinária mineira: as raízes históricas da sua diversidade**. 2010. Disponível em: <<http://mgculinariamineira.blogspot.com/2010/05/culinaria-mineira-as-raizes-historicas.html>>. Acesso em: 03 ago. 2011. Blog.
- CRUZ, J. V. da S. **Ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em produtos à base de milho e milho utilizado como ingrediente de ração para animais de companhia comercializados na região de Pirassununga, Estado de São Paulo**. 2010. 73 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- IBGE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA**: tabela 839 - Área plantada, área colhida, quantidade produzida e rendimento médio de milho, 1ª e 2ª safras: ano 2010. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&c=839>>. Acesso em: 7 ago. 2012.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene**. Lyon: IARC Press, 2002. (IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, v. 82).
- JOUANY, J. P. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 137, p. 342-362, 2007.
- KAWASHIMA, L. M.; VALENTE SOARES, L. M. Incidência de fumonisina B₁, aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 516-521, 2006.
- LAZO, R. F.; SIERRA, G. Investigación del efecto de las micotoxinas en el ser humano.

Revista Iberoamericana de Micologia, Madri, v. 25, p. 7-11, 2008.

MACHINSKI JR., M.; VALENTE SOARES, L. M. Fumonisins B₁ and B₂ in Brazilian corn-based food products. **Food Additives and Contaminants**, Hants, v. 17, n. 10, p. 875-879, 2000.

MARQUES, P. J. N. **Avaliação de aflatoxina e zearalenona em quirera (canjiquinha de milho) na região dos Campos Gerais**. 2007. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.

MORAES, V. B. **Efeito do resíduo da moagem à seco de milho, micropulverizado no metabolismo lipídico, na glicemia e na composição corporal em ratos alimentados com dieta da cafeteria**. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OTTONI, J. R. **Análise da incidência de *Fusarium* spp. toxigênico e de níveis de fumonisina em grãos ardidos de milho híbrido**. 2008. 55 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

ROCHA, M. D.; MAIA, P. P.; RODRIGUES, M. A. C.; MARTINS, I. Incidência de aflatoxinas em amostras de amendoim e paçoca comercializadas na cidade de Alfenas-MG,

Brasil. **Revista Brasileira de Toxicologia**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 15-19, 2008.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2000.

SCAFF, R. M. C.; SCUSSEL, V. M. Fumonisins B1 and B2 in Corn-Based Products Commercialized in the State of Santa Catarina - Southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 6, p. 911-919, 2004.

SCUDAMORE, K. A.; PATEL, S. Survey for aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and fumonisins in maize imported into the United Kingdom. **Food Additives and Contaminants**, Hants, v. 17, n. 5, p. 407-416, 2000.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Insular, 1998.

VAN DER WESTHUIZEN, L.; SHEPHARD, G. S.; SCUSSEL, V. M.; COSTA, L. L. F.; VISMER, H. F.; RHEEDER, J. P.; MARASAS, W. F. O. Fumonisin contamination and Fusarium incidence in corn from Santa Catarina, Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 18, p. 5574-5578, 2003.

Circular Técnica, 204

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Rod. MG 424 km 45 Caixa Postal 151
 CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027 1100
Fax: (31) 3027 1188
E-mail: cnpms.sac@embrapa.br
1ª edição
 1ª impressão (2014): on line

Ministério da
 Agricultura, Pecuária
 e Abastecimento



Comitê de publicações

Presidente: Presidente: Sidney Netto Parentoni.
Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau.
Membros: Dagma Dionísia da Silva, Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro, Monica Matoso Campanha, Maria Marta Pastina, Rosângela Lacerda de Castro e Antonio Claudio da Silva Barros.

Expediente

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros.
Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro.
Tratamento das ilustrações: Tânia Mara A. Barbosa.
Editoração eletrônica: Tânia Mara A. Barbosa.