

ANA CRISTINA BARNI

**INCIDÊNCIA DE AFLATOXINAS EM ALIMENTOS  
QUE COMPÕEM CESTA BÁSICA COMERCIALIZADA  
NA CIDADE DE CURITIBA/PR**

Dissertação apresentada como requisito  
parcial à obtenção do grau de Mestre em  
Tecnologia de Alimentos, Programa de  
Pós-Graduação em Tecnologia de  
Alimentos, Setor de Tecnologia Química,  
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Renato João  
Sossela de Freitas

CURITIBA

2001

**Bami, Ana Cristina**

**Incidência de aflatoxinas em alimentos que compõem cesta básica  
comercializada na cidade de Curitiba/PR / Ana Cristina Bami. —  
Curitiba, 2001.**

**ix, 78 f. : il.; grafos.; tabs.**

**Orientador: Renato João Sossela de Freitas  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor  
de Tecnologia.**

**1. Aflatoxina. 2. Alimentos – Consumo – Curitiba (PR). I. Freitas,  
Renato João Sossela de. II. Título.**

**CDD 20. 615.952**

**ANA CRISTINA BARNI**

**INCIDÊNCIA DE AFLATOXINAS EM ALIMENTOS QUE  
COMPÕEM CESTA BÁSICA COMERCIALIZADA NA CIDADE DE  
CURITIBA/PR**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientador: **Prof. Dr. RENATO JOÃO SOSSELA DE FREITAS**  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. VILDESTES MARIA SCUSSEL**  
Centro de Ciências Agrárias, UFSC  
**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. IDA CHAPAVAL PIMENTEL**  
Setor de Ciências Biológicas, UFPR

Curitiba, 20 de Dezembro de 2001

**Dedico este trabalho aos meus pais,  
Osmar e Marilene;  
Ao meu marido,  
Marcelo;  
E ao meu filho,  
João Guilherme.**

## **AGRADECIMENTOS**

**Aos meus pais, ao meu marido e ao meu filho, por estarem sempre ao meu lado, me apoiando incondicionalmente em todas as minhas decisões.**

**Ao Prof. Dr. Renato João Sossela de Freitas, pela orientação, acompanhamento e revisão do estudo, sendo o equilíbrio em todos os momentos.**

**Aos membros da Banca Examinadora, pelas contribuições sugeridas e comentários positivos.**

**À Profª. Drª. Nina Waszczynskyj, Sônia Cachoeira Stertz, Paulo Krainski e Lídice Metzker Oro, pelo apoio e dedicação ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná.**

**À CAPES, pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.**

**À SMAB, especialmente ao Secretário Municipal de Abastecimento de Curitiba, Sr. Delmo de Almeida Filho, e às nutricionistas Jussara e Ana Maria, pelo fornecimento das amostras e atenção dispensada.**

**Ao CEPPA, especialmente ao Prof. Gabriel Adolfo Ribeiro Guimarães, pela confiança em mim depositada.**

**À todos os colegas do Programa, com os quais compartilhei experiências e incentivo, e descobri verdadeiros amigos.**

**À todos que aqui eu omiti que, direta ou indiretamente, fizeram sua contribuição para a realização deste trabalho.**

**À DEUS...**

**Há duas formas para viver sua vida.  
Uma é acreditar que não existe milagre,  
A outra é acreditar que todas as coisas são um milagre.**

**Albert Einstein**

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>	<b>vii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ix</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 OBJETIVO.....</b>	<b>3</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 CESTA BÁSICA DE ALIMENTOS.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.1 Secretaria Municipal de Abastecimento e Agricultura (Curitiba/PR).....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.1.1 Mercadão Popular.....</b>	<b>7</b>
<b>2.1.1.2 Armazém da Família.....</b>	<b>7</b>
<b>2.2 SEGURANÇA ALIMENTAR.....</b>	<b>7</b>
<b>2.3 CONTAMINAÇÃO POR FUNGOS.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.1 Micotoxinas.....</b>	<b>15</b>
<b>2.4 AFLATOXINAS.....</b>	<b>19</b>
<b>2.4.1 Prevenção e controle.....</b>	<b>28</b>
<b>2.4.2 Tolerância.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4.3 Metodologia.....</b>	<b>34</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1 MATERIAL.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1.1 Amostras de Alimentos.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1.2 Equipamentos e Reagentes.....</b>	<b>43</b>
<b>3.2 MÉTODOS.....</b>	<b>44</b>
<b>3.2.1 Amostragem.....</b>	<b>44</b>
<b>3.2.2 Determinação de Umidade.....</b>	<b>44</b>
<b>3.2.3 Determinação de Aflatoxinas por Cromatografia em Camada Delgada.....</b>	<b>45</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>48</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>54</b>
<b>6 SUGESTÕES.....</b>	<b>56</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>63</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – DESENHO ESQUEMÁTICO DE <i>Aspergillus</i> VISTO AO MICROSCÓPIO.....	11
FIGURA 2 – DESENHO ESQUEMÁTICO DE <i>Penicillium</i> VISTO AO MICROSCÓPIO.....	11
FIGURA 3 – DESENHO ESQUEMÁTICO DE <i>Fusarium</i> VISTO AO MICROSCÓPIO.....	12
FIGURA 4 – ESTRUTURA QUÍMICA DAS AFLATOXINAS.....	21
FIGURA 5 – CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA, SOB LUZ ULTRAVIOLETA, COM AMOSTRAS DE RAÇÕES POSITIVAS PARA AFLATOXINA B1.....	39
FIGURA 6 – FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA ANALÍTICA UTILIZADA PARA DETERMINAÇÃO DE AFLATOXINAS (AOAC, 2000).....	45
QUADRO 1 – DESCRIÇÃO DOS ALIMENTOS ANALISADOS NO PRESENTE ESTUDO.....	42
TABELA 1 – PROVISÕES MÍNIMAS MENSAIS ESTIPULADAS PELO DECRETO-LEI n. 399 PARA CESTAS BÁSICAS.....	5
TABELA 2 – UMIDADE (%) DE GRÃOS E SEMENTES DURANTE ESTOCAGEM À UMIDADE RELATIVA MÍNIMA E MÁXIMA.....	14
TABELA 3 – TEMPERATURAS PARA O CRESCIMENTO DE <i>Aspergillus flavus</i> . ....	14
TABELA 4 – NÍVEIS MÁXIMOS PERMITIDOS PARA AFLATOXINAS EM ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO.....	33
TABELA 5 – NÚMERO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS COLETADOS PARA ANÁLISE DE AFLATOXINAS (SMAB E SUPERMERCADOS) NO PERÍODO DE JULHO A OUTUBRO DE 2001.....	42
TABELA 6 – NÚMERO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS RECEBIDOS PARA ANÁLISE DE AFLATOXINAS (UFPR) NO PERÍODO DE JULHO A OUTUBRO DE 2001.....	43
TABELA 7 – TEOR DE UMIDADE NOS PRODUTOS ANALISADOS NO PERÍODO DE JULHO A NOVEMBRO DE 2001.....	48
TABELA 8 – INCIDÊNCIA DE AFLATOXINAS (B1, B2, G1, G2) NOS PRODUTOS ANALISADOS, NO PERÍODO DE JULHO A NOVEMBRO DE 2001.....	50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>AOAC</b>	Association of Official Analytical Chemists
<b>CAPES</b>	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
<b>CCD</b>	Cromatografia em camada delgada
<b>CEPPA</b>	Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta resolução
<b>CLASPAR</b>	Empresa Paranaense de Classificação de Produtos
<b>CREA/PR</b>	Conselho Regional de Engenharia, Arquitetura e Agronomia do Estado do Paraná
<b>DIEESE</b>	Departamento Intersindical de Estatística e Estudos Sócio-Econômicos
<b>DNA</b>	deoxyribonucleic acid (ácido desoxirribonucléico)
<b>g</b>	grama
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	ácido sulfúrico
<b>kg</b>	quilograma
<b>MA</b>	Ministério da Agricultura
<b>MAARA</b>	Ministério da Agricultura e Abastecimento do Brasil
<b>MERC</b>	supermercados
<b>MERCOSUL</b>	Mercado Comum do Sul
<b>mL</b>	mililitro
<b>N<sub>2</sub></b>	nitrogênio
<b>ND</b>	não detectado
<b>ppb</b>	partes por bilhão
<b>PN</b>	padrão nacional
<b>RNA</b>	ribonucleic acid (ácido ribonucléico)
<b>SMAB</b>	Secretaria Municipal de Abastecimento e Agricultura
<b>UK</b>	United Kingdom (Reino Unido)
<b>UR</b>	umidade relativa
<b>USA</b>	United State of America (Estados Unidos da América)
<b>UV</b>	ultravioleta
<b>µg/kg</b>	micrograma por quilograma
<b>µL</b>	microlitro

## RESUMO

As micotoxinas são produtos metabólicos produzidos por fungos e quando ingeridos causam alterações biológicas prejudiciais aos seres humanos e animais. Necessitam de determinadas condições para o seu desenvolvimento, dentre elas, umidade relativa entre 80 e 90% e temperatura superior a 20° C. Considerando que o Brasil está localizado entre as zonas tropical e temperada, sendo a maior parte na zona subtropical, apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento das micotoxinas. Sabendo da importância das aflatoxinas como risco à saúde humana e animal, este trabalho tem por objetivo verificar a incidência de aflatoxinas em alimentos que compõem cesta básica comercializada na cidade de Curitiba/PR, no período de julho a outubro de 2001. As amostras analisadas foram amendoim, arroz parboilizado e arroz polido, café, cereal, erva-mate, farinha de mandioca, farinha de milho, farinha de trigo, feijão cores e feijão preto, fubá, macarrão espaguete, milho para pipoca e nozes. De um total de 148 amostras, 58 (39,19%) foram coletadas no Depósito Central da SMAB de Curitiba, o qual atende os programas Mercadão Popular e Armazém da Família, e 55 (37,16%) nos supermercados da cidade. Trinta e cinco amostras (23,65%) foram recebidas pela Universidade Federal do Paraná para análise. O método empregado foi o Método de Romer para produtos em geral (AOAC), o qual fundamenta-se na extração das aflatoxinas com solução acetona:água (85:15), utilização de agente filtrante (celite), partição líquido-líquido utilizando solvente orgânico clorofórmio (extração), separação dos componentes do extrato purificado por cromatografia em camada delgada, detecção e quantificação das aflatoxinas por análise visual. Ácido diluído foi utilizado para confirmação. Verificou-se que em 99,32% das amostras não foram detectadas aflatoxinas, e seis amostras de feijão (4,05% do total das amostras) apresentaram resultado falso-positivo. Coincidemente, cinco dessas amostras de feijão apresentaram teor de umidade acima de 14%, considerada faixa ótima de umidade para o desenvolvimento dos fungos. Uma amostra de doce prensado de amendoim (0,68% do total) apresentou níveis para o somatório de aflatoxinas de 318,7 µg/kg, sendo correspondente a 158,2 µg/kg de aflatoxina B1 e 160,5 µg/kg de aflatoxina B2. A legislação do Ministério da Saúde em vigor permite um limite máximo de aflatoxinas de 30 µg/kg (ppb), havendo, portanto, a necessidade de um monitoramento adequado, eficaz e permanente sobre os níveis de aflatoxinas em alimentos, pois mesmo encontrando-se resultado positivo para incidência de aflatoxinas em somente uma das 148 amostras analisadas, não é possível assegurar o grau satisfatório de qualidade dos alimentos sem uma vigilância constante da contaminação.

**Palavras-chave:** aflatoxinas; micotoxinas; fungos toxigênicos; cromatografia em camada delgada.

## ABSTRACT

Mycotoxins are metabolites products developed by fungi and when ingested they cause harmful biological alterations to on the human and animals. They need certain conditions for their development, among them; relative humidity between 80 and 90% and temperature higher than 20°. Brazil is located between the tropical and temperate zones, most in the sub-tropical zone, it presents favorable conditions for the development of mycotoxins. Due the danger of aflatoxins to the human and animal health, this work aims to verify the aflatoxins incidence in food that composes the food basket marketed in city of Curitiba, Paraná, during july to october of 2001. Peanuts, rice, coffee, cereals, mate (*Ilex paraguariensis*), cassava flour, corn flour, wheat flour, beans, pasta, popcorn and nuts were analyzed. From 148 samples, 58 (39.19%) were collected at the Agriculture Central Warehouse of Curitiba, which assists Popular Market and Family Stock programs, and 55 (37.16%) were collected at the supermarkets located in Curitiba. Thirty-five (23.35%) samples were sent to the Federal University of Paraná for analysis. Romer method for general products was applied (AOAC), which is based on the extraction of aflatoxins by using a chemical mixture of acetone:water (85:15), cleaned with celite, liquid-liquid partition with organic solvent chloroform (extraction), components separation of the extract purified by thin-layer chromatography, detection and quantification of aflatoxins by visual analysis. Diluted acid was used for confirmation. Aflatoxins were not detected in 99.32% of the samples, and six samples of beans (4.05% of the total samples) presented false-positive result. Coincidentally, five samples of beans presented moisture above 14% considered a great strip moisture for the development of fungis. One sample of peanut (0.68% of the total) presented levels to total aflatoxins of 318.7 – 158.2 µg/kg aflatoxin B1 and 160.5 µg/kg aflatoxin B2. The brasilian Health Office allows a maximum limit of 30 µg/kg (ppb) aflatoxins, therefore, an effective and permanent monitoring is needed over the aflatoxins levels over foods; although only one positive result came up in 148 samples, it is not possible to assure the food quality without a constant surveilhance over the contamination.

**Keywords:** aflatoxins; mycotoxins; toxigenic fungi; thin-layer chromatography.

## 1 INTRODUÇÃO

Alguns fungos são capazes de produzir metabólitos secundários que são tóxicos e, algumas vezes, cancerígenos tanto para o homem como para os animais. Esses fungos são chamados toxigênicos e os metabólitos são denominados micotoxinas (SABINO et al., 1982).

As micotoxinas compreendem um conjunto complexo de substâncias tóxicas, produzidas por fungos, que causam graves problemas à saúde humana e animal.

Os alimentos podem apresentar níveis de micotoxinas a partir da contaminação e do desenvolvimento dos fungos que as produzem, e isso pode ocorrer antes da própria colheita, após a mesma e, principalmente, durante a estocagem desde que evidentemente ocorram condições propícias ao crescimento do contaminante (BORDIN, 1995).

Dentre as micotoxinas encontradas em alimentos, as que causam maior dano aos animais e ao homem são as aflatoxinas. A família das aflatoxinas compreende substâncias químicas tóxicas produzidas principalmente por duas espécies de fungos - *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, que se reproduzem em diversos cereais e grãos.

As aflatoxinas são micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*. Merecem especial atenção por parte da indústria dos alimentos e do público em geral porque apresentam uma alta toxicidade para o homem e para os animais, constituindo uma preocupação mundial. Podem permanecer no alimento mesmo após a morte do fungo, e apresentam-se em alimentos onde não são verificadas alterações visíveis (AMADO, 2001).

A aflatoxina B1 é considerada o mais potente hepatocarcinogênico conhecido (SCUSSSEL, 1984; FREITAS e BADOLATO, 1992). Junto com outros compostos do grupo, possui propriedades tóxicas incluindo mutagênese, teratogênese e toxicidade celular aguda (SCUSSSEL, 1984).

Essas substâncias têm sido freqüentemente encontradas em milho, amendoim, trigo, arroz, feijão, sementes de algodão, sorgo, especiarias, rações e frutas (CORRÊA, 2000).

O desenvolvimento de fungos toxigênicos e a produção de micotoxinas são dependentes de vários fatores, dos quais, temperatura, umidade e tipo de substrato são os mais importantes.

As condições ambientais favoráveis de umidade e temperatura são amplamente encontradas nas regiões tropicais e subtropicais. Inúmeros trabalhos alegam que os alimentos produzidos nos países localizados nestas regiões são os mais atingidos pela invasão do fungo e, consequentemente, altamente contaminados por aflatoxinas. A contaminação de alimentos por aflatoxinas ocorre com maior freqüência em países de clima quente e úmido, onde a umidade relativa do ar acima de 85% e a temperatura em torno de 27º C favorecem o crescimento e a produção de aflatoxinas por fungos toxigênicos (PRADO et al., 1989).

O Brasil é um país de clima predominantemente tropical com todas as condições que levam à contaminação dos alimentos por aflatoxinas (FREITAS e BADOLATO, 1992). De fato, foi o país que historicamente deu início à toda a preocupação sobre essas toxinas por ter fornecido farelo de amendoim contaminado que provocou a morte de centenas de perus na Inglaterra, em 1960 (SCUSSEL, 1984).

As micotoxinas têm chamado a atenção como responsáveis de surtos de moléstias animais e, em algumas oportunidades, como causadoras de moléstias humanas (SABINO, 2000). Podem ser fatais para recém-nascidos e crianças por essas serem mais suscetíveis que os adultos (SCUSSEL, 1984).

É comprovada a vinculação da ação das micotoxinas com inúmeros problemas de saúde, tanto no homem como nos animais. O efeito agudo mais freqüente é o colapso das funções hepáticas e renais. Entretanto, algumas micotoxinas são tóxicas para o sistema nervoso, produzem lesões necróticas na pele e câncer. Segundo AMADO (2001), embora o órgão mais afetado seja o fígado, no qual produzem alterações tumorais e tecidulares, podem também ser afetados outros órgãos. Em muitas espécies animais, as aflatoxinas são cancerígenos hepáticos ativos e a administração de quantidades mínimas pode produzir tumores.

A correlação positiva entre a ocorrência de aflatoxinas em alimentos e a incidência de câncer hepático em áreas tropicais demonstram a importância da realização de levantamentos que verifiquem o grau de contaminação de alimentos. Adicionalmente, as aflatoxinas têm representado uma preocupação crescente para

órgãos de saúde internacionais diante de dados que vêm associando aflatoxicose e outras doenças, como Kwashiorkor, Síndrome de Reye e Hepatite virótica tipo B (PRADO et al., 1989).

São poucos os levantamentos realizados no Brasil até agora, o que não permite uma avaliação do nível de contaminação dos alimentos consumidos.

## 1.1 OBJETIVO

Diante de todas essas evidências, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os teores de aflatoxinas nos alimentos que compõem cesta básica comercializada na cidade de Curitiba/PR, no período de julho a outubro de 2001, oferecendo subsídios às autoridades governamentais para o conhecimento do problema das micotoxinas nessa região.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CESTA BÁSICA DE ALIMENTOS

No governo de Getúlio Vargas foi realizado um estudo para a implantação do Salário Mínimo, visando trazer algum benefício à população de baixa renda. O primeiro passo foi um inquérito sobre a rotina e os hábitos alimentares da população, tendo como resultado a relação dos alimentos mais consumidos pelos brasileiros, de acordo com a região em que viviam.

Em abril de 1938 foi regulamentada a Lei n. 185 que instituiu as Comissões de Salário Mínimo. Essas comissões foram encarregadas de pesquisar sobre os gastos mensais das famílias. De posse dos resultados e depois da análise dos mesmos, foi assinado o Decreto-lei n. 399 que estipulou a importância que seria necessária para adquirir a lista de alimentos comuns nas mesas dos brasileiros. Esta importância foi denominada Salário Mínimo e a lista de alimentos de Ração Essencial Mínima (AUGUSTO e PINTO, 2000).

O Salário Mínimo ficou estabelecido como sendo "a remuneração devida ao trabalhador adulto, por dia normal de serviço, capaz de satisfazer, em determinada época e região do país, às suas necessidades normais de alimentação, habitação, vestuário, higiene e transporte". E a Ração Essencial Mínima correspondia "à quantidade de alimentos que um trabalhador, em idade adulta, deveria receber diariamente, para lhe garantir o sustento e o bem-estar" (Decreto-lei n. 399, art. 2º). Esta ração deveria conter quantidades balanceadas de proteínas, calorias, ferro, cálcio e fósforo.

Conforme o texto legal do Decreto-lei n. 399, citado por NUNEZ (1986), os alimentos poderão ser substituídos pelos equivalentes de cada grupo, ..., quando as condições da região, zona ou subzona os aconselharem, respeitados os valores nutritivos determinados.

Foram definidas três listas de provisões denominadas ração-tipo essencial, para três macro-regiões do país, e uma lista de provisões chamada ração normal média, para todo o território. Esta ração diária tinha como propósito atender às necessidades dos trabalhadores quanto à alimentação segundo os padrões vigentes (NUNEZ, 1986). As listas de provisões são exemplos de cestas básicas, que contêm

a relação de produtos e suas respectivas quantidades diferenciadas por região, e estão apresentadas na Tabela 1.

**TABELA 1 - PROVISÕES MÍNIMAS MENSAIS ESTIPULADAS PELO DECRETO-LEI n. 399 PARA CESTAS BÁSICAS**

ALIMENTOS	REGIÃO 1	REGIÃO 2	REGIÃO 3	NACIONAL
Carne	6,0 kg	4,5 kg	6,6 kg	6,0 kg
Leite	7,5 L	6,0 L	7,5 L	15,0 L
Feijão	4,5 kg	4,5 kg	4,5 kg	4,5 kg
Arroz	3,0 kg	3,6 kg	3,0 kg	3,0 kg
Farinha	1,5 kg	3,0 kg	1,5 kg	1,5 kg
Batata	6,0 kg	-	6,0 kg	6,0 kg
Legumes (tomate)	9,0 kg	12,0 kg	9,0 kg	9,0 kg
Pão francês	6,0 kg	6,0 kg	6,0 kg	6,0 kg
Café em pó	600 g	300 g	600 g	600 g
Frutas (banana)	90 un	90 un	90 un	90 un
Açúcar	3,0 kg	3,0 kg	3,0 kg	3,0 kg
Banha/óleo	750 g	750 g	900 g	1,5 kg
Manteiga	750 g	750 g	750 g	900 g

FONTE: DIEESE, 2001.

NOTA: Região 1 - Estados de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Goiás e Distrito Federal;  
 Região 2 - Estados de Pernambuco, Bahia, Ceará, Rio Grande do Norte, Alagoas, Sergipe, Amazonas, Pará, Piauí, Tocantins, Acre, Paraíba, Rondônia, Amapá, Roraima e Maranhão;  
 Região 3 - Estados do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul;  
 Nacional - Cesta normal média para a massa trabalhadora em atividades diversas é para todo o território nacional.

De acordo com SANTOS e SHIBATA (1988), evidenciou-se por esses dados que os produtos e quantidades estabelecidos variaram de região para região numa tentativa de refletir os padrões de consumo e hábitos alimentares regionais. No entanto, o Decreto-lei que a instituiu data de 30 de abril de 1938, ou seja, há uma defasagem de cinqüenta anos entre o estabelecimento dos produtos e quantidades que a Ração Essencial deveria contemplar e o presente momento.

Evidentemente, existem diferenças regionais entre as cestas básicas e, nesse sentido, o Departamento Intersindical de Estatística e Estudos Sócio-Econômicos (DIEESE) reconhece que não se pode estabelecer uma igualdade entre regiões desiguais nos hábitos de consumo, nas necessidades de nutrientes na composição alimentar.

Com a promulgação da nova Constituição Federativa do Brasil, em abril de 1988, o salário mínimo ficou definido como aquele "fixado em lei, nacionalmente unificado, capaz de atender às necessidades vitais básicas do trabalhador e às de sua família com moradia, alimentação, educação, saúde, lazer, vestuário, higiene, transporte e previdência social, com ajustes periódicos que lhe preservem o poder aquisitivo..." (PIOVEZANE<sup>1</sup>, citado por AUGUSTO e PINTO, 2000, p. 4).

Desde a instituição da Ração Essencial, acoplada à lei do Salário-Mínimo de 1938, inúmeras "cestas de alimentos" têm sido constituídas no Brasil. Algumas derivam da direta observação da demanda dos domicílios. A partir desses levantamentos de dados populacionais podem ser determinados os principais componentes da dieta praticada pela média das famílias em um certo tempo, lugar e circunstância; é importante verificar que as escolhas de consumo dos indivíduos são embasadas na racionalidade econômica de se buscar a maximização do bem-estar, diante da renda disponível e dos preços vigentes (BARRETO et al., 1998).

### 2.1.1 Secretaria Municipal de Abastecimento e Agricultura (Curitiba/PR)

A Secretaria Municipal de Abastecimento e Agricultura desenvolve ações para melhorar a distribuição de alimentos na cidade, ofertando ao consumidor produtos de qualidade em parceria com permissionários de feiras e produtores rurais da cidade e da Região Metropolitana. A sua atuação prioritária, no entanto, beneficia a população de baixa renda com uma série de programas que levam todo o tipo de alimentos à periferia a preços, em média, 30% mais baratos. A idéia é fazer uma ponte entre o produtor e o consumidor, evitando a excessiva intermediação. Isso garante preços baixos além de beneficiar os produtores, facilitando o escoamento das safras. E incentivando o espírito de associativismo, de parceria, de preservação ambiental, de expansão das áreas produtivas e apoio aos pequenos agricultores (PMC, 2001).

---

<sup>1</sup> PIOVEZANE, P. M. **Constituição da República Federativa do Brasil.** 4. ed. São Paulo: Riedel, 1999.

### 2.1.1.1 Mercadão Popular

Desde 1986, comunidades com renda familiar de até três salários mínimos são atendidos pelo programa que utiliza ônibus para transportar 66 itens, entre alimentos e produtos de higiene e limpeza.

Este programa é financiado por intermédio do Fundo de Abastecimento Alimentar de Curitiba (FAAC). Ao todo, 84 pontos, todos na região periférica da cidade, são servidos pelas unidades volantes. Para participar do programa, as comunidades devem estar inscritas nas respectivas associações de moradores, com direito a uma carteira que dá direito às compras nos ônibus.

Cada pessoa pode comprar até três vezes no Mercadão, durante o mês, e outras duas vezes, no mesmo período, nos Armazéns da Família.

O Mercadão funciona pela manhã e à tarde, de terça-feira a sábado (aos sábados, somente pela manhã), retornando quinzenalmente aos mesmos pontos. A Secretaria Municipal de Abastecimento e Agricultura (SMAB) comunica antecipadamente as datas e locais válidas para o mês, seguindo o estipulado pelos calendários.

Todos os meses, cerca de 4,5 mil pessoas são atendidas nas unidades móveis, onde a venda de alimentos industrializados e produtos de higiene e de limpeza é de 125 toneladas, em média.

### 2.1.1.2 Armazém da Família

São unidades fixas instaladas em pontos estratégicos de bairros em Curitiba, onde as compras mensais podem ser feitas por famílias com renda de até três salários mínimos cadastradas nas associações de moradores. A pauta é composta por 44 produtos alimentícios e 19 de higiene e limpeza.

Os Armazéns da Família funcionam de segunda a sexta-feira, em horários diferenciados, de acordo com o local, e aos sábados todas as unidades atendem das 9 às 14 horas.

## 2.2 SEGURANÇA ALIMENTAR

A segurança alimentar e nutricional significa garantir a todos, condições de acesso a alimentos básicos de qualidade, em quantidade suficiente, de modo

permanente e sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, com base em práticas alimentares saudáveis, contribuindo, assim, para uma existência digna em um contexto de desenvolvimento integral da pessoa humana (MENEZES, 2001). Representa um conceito bastante abrangente, comportando as noções do alimentar e do nutricional; enfatizando os aspectos do acesso e da disponibilidade em termos de suficiência, continuidade e preços estáveis e compatíveis com o poder aquisitivo da população; ressaltando a importância de qualidade; valorizando os hábitos alimentares adequados e colocando a segurança alimentar e nutricional como uma prerrogativa básica para a condição de cidadania.

Os sistemas de controle dos alimentos de uma nação são para proteger a saúde e o bem-estar do consumidor, promover o desenvolvimento do comércio dos alimentos e matérias-primas, e proteger os interesses do produtor e do fabricante contra a concorrência desleal e desonesta. Além disso, prevenir os riscos químicos e biológicos resultantes da contaminação, adulteração ou simples manipulação inapropriada dos alimentos (SABINO, 2000).

Uma das causas preocupantes no mundo todo é o desenvolvimento fúngico nos grãos. Com o desenvolvimento dos fungos, podem ocorrer perdas nutricionais devido à transformação ou degradação de nutrientes, consumo de energia bruta e consumo de matéria seca. O principal fator a considerar é a possibilidade de espécies toxigênicas de fungos se desenvolverem e produzirem metabólitos tóxicos (micotoxinas) ao homem e aos animais (LACEY, 1989).

Os alimentos de origem animal e vegetal, frescos ou processados, incluindo a água, podem veicular diversos organismos patógenos, causadores de diversas perturbações fisiológicas nas pessoas que os consomem. Os alimentos que, eventualmente, estejam contaminados por microrganismos causadores de doenças, ao serem ingeridos, permitem que os patógenos ou os seus metabólitos invadam os fluídos ou os tecidos do hospedeiro causando algumas doenças graves (PINTO, 2001).

De acordo com a REVISTA CREA/PR (1999), "o grande espírito do mal está entrando pela boca do homem através das bebidas e alimentos. Ingerimos todo tipo de aditivos químicos, toxinas e impurezas que podem provocar danos cumulativos ao corpo humano. Os produtos que consumimos estão cada vez mais pobres em princípios vitais e cada vez mais ricos em elementos nocivos à saúde".

Os alimentos não são apenas uma fonte de protídeos, lipídios, glicídios, sais minerais e água. Devem também trazer vitaminas e oligoelementos, indispensáveis para as reações bioquímicas do organismo. Mas esses nutrientes são alterados pelos estilos de cultura e de confinamentos intensivos, e são eliminados ou reduzidos consideravelmente pelos tratamentos posteriores, sobretudo pelo refinamento.

A contaminação de alimentos com substâncias tóxicas produzidas por fungos e outros microrganismos constitui um grave problema por suas implicações na saúde humana e na disponibilidade de alimentos de origem animal e vegetal (FREITAS e BADOLATO, 1992).

## 2.3 CONTAMINAÇÃO POR FUNGOS

Os fungos são organismos uni ou pluricelulares complexos e heterogêneos. Caracterizam-se pela ausência de clorofila, de celulose na parede celular e por não armazenar amido como substância de reserva, qualidades essas exibidas pelos representantes do Reino Vegetal. Assemelham-se às células animais devido à sua capacidade de armazenar glicogênio e por apresentar substâncias quitinosas em sua parede celular. Os fungos, também chamados de mofos ou bolores, são organismos inferiores e, dada as suas características, importância e abundância, constituem um reino a parte, o Reino Fungi.

Esses organismos são eucarióticos (micélio com membrana nuclear), heterotróficos, nutrem-se de matéria orgânica morta (fungos saprófitas) ou viva (fungos parasitas). São ubíquos, encontram-se no solo, na água, em alimentos, nos vegetais, detritos em geral, em animais e no homem, sendo o vento o principal veículo de disseminação de seus esporos, esclerócios, clamidósporos e micélio. Os fungos saprófitas podem causar a deterioração dos mais variados produtos e subprodutos agrícolas, como sementes, grãos, rações, fibras e alimentos embalados ou não (LAZZARI, 1997).

Os fungos podem ser incluídos em dois grandes grupos: os pluricelulares ou filamentosos (bolores) e os unicelulares (leveduras). Nos bolores, a unidade fundamental é a hifa e o conjunto desses elementos é denominado micélio, que

exerce função de assimilação, nutrição e fixação, podendo diferenciar-se em estruturas de frutificação, que servem à sua propagação (CORRÊA, 1995).

As hifas crescem rapidamente à temperatura ambiente e se ramificam. O conjunto de hifas ramificadas é denominado micélio, que executa as funções vegetativa e reprodutiva. Os esporos realizam a função reprodutiva. Em condições favoráveis de umidade e de temperatura, os esporos germinam produzindo hifas, as quais invadem sementes, grãos, rações e outros substratos. Os esporos suportam grandes variações de temperatura e umidade, podendo infectar produtos e subprodutos armazenados sob as mais diversas condições. Quando o substrato proporciona a umidade necessária, os esporos germinam e o desenvolvimento do fungo ocorre (LAZZARI, 1997).

Os fungos filamentosos são seres vivos cuja estrutura é melhor observada ao microscópio, sendo, por isso, designados de microfungos, ao contrário dos cogumelos que são macrofungos.

Os microfungos podem produzir três tipos gerais de manifestações clínicas no homem e nos animais (CORRÊA, 2000):

- a) infecções ou doenças decorrentes da invasão de um tecido vivo;
- b) alergias ou reações de hipersensibilidade;
- c) toxicoses - intoxicações resultantes da ingestão de alimentos ou rações contendo metabólitos tóxicos. Assim, a denominação de micotoxicoses englobaria as manifestações clínicas produzidas por metabólitos fúngicos.

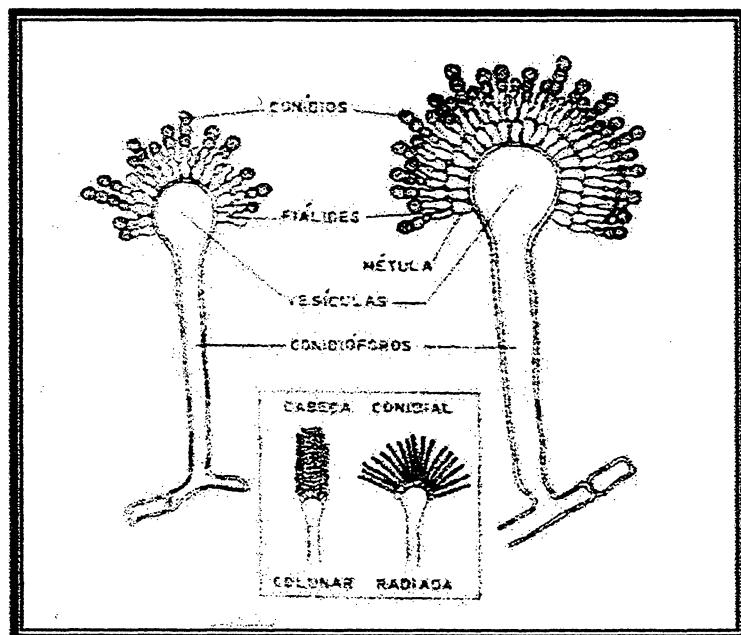
Alguns fungos até são comestíveis ou mesmo úteis na elaboração de certos alimentos, notadamente na dos queijos (Camembert e Roquefort). O problema é que também há fungos que produzem as micotoxinas, substâncias invisíveis e potencialmente prejudiciais à saúde.

Segundo FONSECA (1999a), os fungos, bolores ou mofos podem diminuir o valor nutritivo das proteínas, na maioria dos produtos, óleos e gorduras, por hidrólise das mesmas, no amendoim e na soja, além de prejudicar seriamente o aspecto externo dos alimentos. Podem produzir toxinas, como no amendoim, arroz e muitos outros produtos, além de abrir caminho para outros agentes de deterioração, como as leveduras e bactérias, bem como aos insetos.

Dentre as várias espécies fúngicas há aquelas que têm a capacidade de produzir toxinas (cepas toxigênicas) e aquelas que não possuem tal capacidade (cepas não toxigênicas).

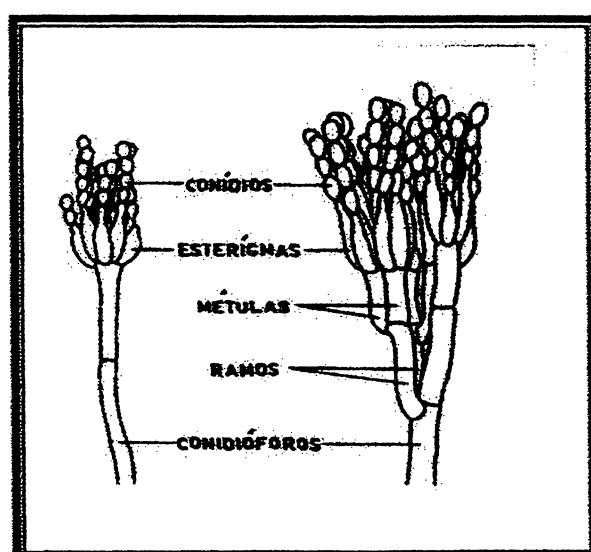
As principais espécies de fungos toxigênicos, isto é, com a capacidade de produzir micotoxinas, são dos gêneros *Aspergillus* (Figura 1), *Penicillium* (Figura 2) e *Fusarium* (Figura 3); estão largamente distribuídos na natureza e, portanto, muitas vezes, contaminam alimentos frescos e processados.

FIGURA 1 - DESENHO ESQUEMÁTICO DE *Aspergillus* VISTO AO MICROSCÓPIO



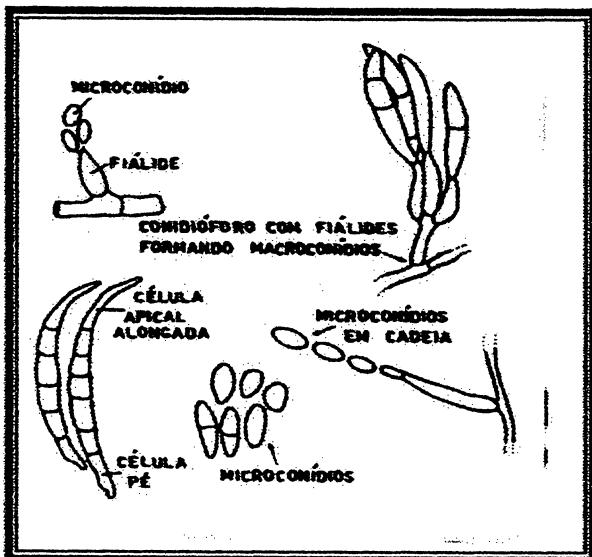
FONTE: MALLOZZI e CORRÉA, 1998.

FIGURA 2 - DESENHO ESQUEMÁTICO DE *Penicillium* VISTO AO MICROSCÓPIO



FONTE: MALLOZZI e CORRÉA, 1998.

FIGURA 3 - DESENHO ESQUEMÁTICO DE *Fusarium* VISTO AO MICROSCÓPIO



FONTE: MALLOZZI e CORRÊA, 1998.

Os fungos produtores de micotoxinas são saprófitos habituais do solo, ar e quando o meio ambiente é propício, colonizam em diversos substratos (FREITAS e BADOLATO, 1992). Dando-se as condições necessárias para o crescimento fúngico e a produção de micotoxinas, os produtos agrícolas podem ser contaminados no campo, após a colheita, no transporte e no armazenamento (CORRÊA, 2000).

Os alimentos em geral, mas principalmente os de origem vegetal, são muito sensíveis à contaminação e à proliferação de fungos do próprio vegetal e do solo, de onde são veiculados pelo ar atmosférico. Tanto os ingredientes, isoladamente, como as rações já formuladas, estão sujeitos a apresentar contaminação por fungos. Esses fungos são potencialmente capazes de produzir, principalmente durante a armazenagem, metabólitos secundários (micotoxinas) que são tóxicos aos animais e ao homem (FRISVAD e SAMSON<sup>2</sup>, citado por CORRÊA, 1995, p. 16).

Os produtos que geralmente podem veicular micotoxinas para o homem ou o animal são os seguintes: 1) produtos agrícolas: cereais, sementes oleaginosas, frutos, vegetais; 2) rações industrializadas; 3) produtos de origem animal: leite e derivados, carne, embutidos; 4) queijos curados por fungos; 5) alimentos orientais

<sup>2</sup> FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Filamentous fungi and feeds: ecology, spoilage and mycotoxins productions. In: HANDBOOK OF APPLIED MYCOLOGY, v. 3: Foods and feeds. New York: Marcel Dekker, Inc., 1991, p. 31-68.

fermentados; 6) produtos obtidos por fermentação: cerveja, aditivos alimentares e vitaminas.

Amplamente distribuídos no ecossistema brasileiro, os três gêneros fúngicos mais importantes do ponto de vista toxigênico têm sido isolados de diversos tipos de substratos, principalmente do milho, amendoim, trigo, arroz, feijão, sementes de algodão, sorgo, especiarias, rações e frutas (especialmente maçã). Em relação aos cereais, a freqüência de isolamento das espécies *A. flavus* deixa clara a importância que se reveste a pesquisa de aflatoxinas nesses alimentos (CORRÊA, 2000).

Os fungos encontram-se espalhados na natureza, no solo, no ar, em ambientes que ofereçam condições para seu desenvolvimento como nos alimentos. Para o seu crescimento, há necessidade de condições propícias de umidade, temperatura, composição do substrato, inclusive condições físicas favoráveis, como danos mecânicos ocorridos durante a colheita, o transporte, o armazenamento e o processamento de alimentos (SCUSSEL, 1984).

De maneira geral, todos os grãos possuem elementos fúngicos (conídeos) em sua superfície, os quais permanecerão em estado de latência se as condições ambientais (temperatura, umidade relativa e atividade de água) permanecerem impróprias ao seu desenvolvimento (CRUZ, 1995).

Segundo BOEING (1999), os fungos, para se desenvolverem e produzirem as micotoxinas, necessitam de condições favoráveis, sendo os fatores mais importantes umidade, pH, composição química do alimento, temperatura e interação microbiana.

Danos mecânicos em grãos, sementes e plantas favorecem a absorção de umidade e facilitam a invasão e a penetração de fungos no interior altamente nutritivo desses substratos. Isso leva ao desenvolvimento rápido dos fungos e consequente acúmulo de suas toxinas (SCUSSEL, 1984).

Dependendo da umidade presente no alimento e no ambiente, haverá ganho ou perda de umidade do produto favorecendo ou impedindo a proliferação de fungos. A umidade relativa mínima onde fungos crescem é de 70%, e a umidade relativa ótima é de 80-85%, contudo eles também podem crescer a umidade relativa entre 90-100%. A umidade de grãos e sementes necessária para a produção de aflatoxinas é mostrada na Tabela 2.

**TABELA 2 – UMIDADE (%) DE GRÃOS E SEMENTES DURANTE ESTOCAGEM À UMIDADE RELATIVA MÍNIMA E MÁXIMA**

GRÃOS E SEMENTES	UR MÍNIMA (80-85%)	UR MÁXIMA (95-99%)
<b>Amiláceos (milho, sorgo)</b>	18,0-18,5	22,0
Oleaginosas (amendoim, nozes, girassol, algodão)	9,0-10,0	15,0-18,0
<b>Leguminosas (feijão, soja, ervilha, lentilha)</b>	18,0-19,5	22,0-23,0

FONTE: SCUSSEL, 1998.

Para várias espécies de fungos, a temperatura de 30º C é a temperatura ambiente em regiões tropicais, e na qual ocorre o crescimento fúngico e a produção de toxina. A Tabela 3 mostra o limite de temperatura para o crescimento de *Aspergillus flavus*.

**TABELA 3 – TEMPERATURAS PARA O CRESCIMENTO DE *Aspergillus flavus***

FUNGO	TEMPERATURA (º C)		
	MÍNIMA	MÁXIMA	ÓTIMA
<b><i>Aspergillus flavus</i></b>	6 - 8	44 - 45	20 - 30

FONTE: SCUSSEL, 1998.

É de conhecimento secular que a atividade de fungos ocasiona alterações na qualidade dos alimentos, produzindo sabores e odores desagradáveis devido a diferentes graus de deterioração.

O crescimento de fungos é indesejável pois à medida que o organismo cresce, consome os nutrientes valiosos, reduzindo os teores de energia, gordura, proteína e vitaminas do alimento.

Em muitos casos, os fungos podem causar transformações indesejáveis aos alimentos, produzindo sabores e odores desagradáveis, além da decomposição em graus variáveis. A decomposição que ocorre nos alimentos *in natura* e produtos alimentícios nem sempre se caracteriza apenas no nível organoléptico, mas pode, eventualmente, acarretar consequências danosas e prejudiciais à saúde do homem e dos animais.

Anualmente, cerca de 18% da colheita mundial é destruída por algum fator, sendo a maioria causada por infecções fúngicas. Contaminação por micotoxinas preenche uma parte dessa porcentagem, apresentando-se como um problema ocasionando perdas consideráveis, tanto do ponto de vista econômico quanto da saúde.

A ingestão de alimentos contaminados pelo homem apresenta o perigo maior, embora as perdas possam somente ser medidas em termos de perda da saúde e às vezes da vida.

A perda econômica total é o somatório de vários fatores e compreende:

- perdas diretas de produtos agrícolas;
- perdas de animais acompanhada de diversas taxas de mortalidade;
- diminuição da produtividade;
- animais com redução na velocidade de crescimento e produtividade;
- custos indiretos de sistemas de controle;
- custos de remoção da toxina para recuperar produtos rejeitados; e
- rejeição de produtos pelo mercado importador.

O fungo potencialmente tóxico possui tanto ação interna, através da deficiência mineralógica do solo, estresse da água, estágio de virulência da planta e aspectos climatológicos, sendo encontrados com maior freqüência no solo fungos dos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*; e os de ação externa que se desenvolvem em armazéns, silos e depósitos subterrâneos devido ao desequilíbrio provocado pela umidade. Nestes, os de maior freqüência são *Aspergillus* e *Fusarium* (LAZZARI, 1997).

Deve ser considerada tanto a atividade tóxica que os fungos podem ter sobre o organismo do homem através de sua ingestão junto com alimentos vegetais contaminados como através de produtos (carnes, ovos, patês, etc.) originados de animal alimentado com ração tóxica (CRUZ, 1995).

### 2.3.1 Micotoxinas

O termo micotoxinas deriva da palavra grega *Mikes*, que significa fungo, e da palavra latina *Toxicum*, que significa veneno. Portanto, micotoxina é a toxina produzida por fungos (SCUSSEL, 1998).

Algumas cepas de fungos que crescem em alimentos ou matérias-primas são capazes de elaborar metabólitos tóxicos denominados micotoxinas (SALLE e LORENZINI, 1995).

Micotoxina é o termo usado para descrever substâncias tóxicas formadas durante o crescimento de fungos (mofo, bolor), o que está associado à mudanças na natureza física do alimento no sabor, odor e aparência (BOEING, 1999).

Os fungos podem contaminar os alimentos em qualquer momento da produção, transporte, estocagem ou industrialização, havendo necessidade de uma interação entre o fungo, o substrato e as condições ambientais. Dessa maneira, as micotoxinas podem ser produzidas quando o produto ainda se encontra no campo, antes mesmo de sua colheita e até mesmo antes de sua formação, quando o fungo pode penetrar através da flor (CRUZ, 1995).

O *Aspergillus* e o *Penicillium* são fungos de estocagem, aqueles que, sob condições ideais, são capazes de crescer rapidamente durante o cultivo, a colheita, a secagem, o transporte e a estocagem.

Numerosas espécies fúngicas são hoje reconhecidas como produtoras de uma ou mais micotoxinas, e um grande número desses metabólitos tóxicos já foi identificado e caracterizado como substâncias produzidas em contaminações naturais de grãos e outros alimentos. Conhecer as micotoxinas e seus efeitos tornou-se indispensável a todos os profissionais ligados à saúde humana e animal (CRUZ, 1995).

As principais condições que favorecem o desenvolvimento de fungos no armazenamento são: temperatura, umidade (atividade de água e teor de umidade), pH, taxa de oxigenação, período de armazenamento, grau de contaminação, condições físicas dos grãos ou sementes, artrópodes e interações microbianas. Entretanto, a temperatura e a umidade são os fatores primordiais no desenvolvimento fúngico (WETZEL<sup>3</sup>; FRISVAD e SAMSON<sup>4</sup>, citado por CORRÊA, 1995, p. 16).

<sup>3</sup> WETZEL, M. M. V. S. Fungos do armazenamento. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987, p. 260-75.

<sup>4</sup> FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Filamentous fungi and feeds: ecology, spoilage and mycotoxins productions. In: HANDBOOK OF APPLIED MYCOLOGY, v. 3: Foods and feeds. New York: Marcel Dekker, Inc., 1991, p. 31-68.

O desenvolvimento de fungos toxigênicos e a produção de micotoxinas são dependentes de um complexo conjunto de fatores: (1) susceptibilidade do substrato (alimento) à colonização do fungo produtor; (2) fatores físicos: temperatura, umidade do substrato, umidade relativa do ar durante o armazenamento; (3) fatores biológicos: capacidade genética do fungo produzir micotoxinas, presença de insetos (CORRÊA, 2000).

As condições climáticas de um lugar determinam, em grande parte, as classes de fungos que irão crescer e os tipos de micotoxinas que podem produzir. A região da América Latina e Caribe estende-se aproximadamente 32° N a 55° S, e tem grandes altitudes sobre o nível do mar. Isso significa que por diferença de latitude, existem climas muito variados que vão desde climas tropicais até climas muito frios. Além disso, por mudanças na altitude sobre o nível do mar, podem haver variações climáticas muito acentuadas dentro do mesmo país, como no Brasil. Existem, portanto, condições propícias para o crescimento de todos os tipos de fungos produtores de micotoxinas (SABINO, 1995).

Certas condições climáticas (calor e umidade) favorecem o aparecimento de fungos nos alimentos. Trata-se de um fenômeno natural, que se pode agravar devido à falta de cuidados durante a plantação, a colheita, o transporte e o armazenamento dos produtos.

A temperatura é o fator ambiental que mais afeta o crescimento dos fungos. Em temperaturas abaixo de 10° C, a maioria dos fungos perde sua capacidade de desenvolvimento. O intervalo ótimo de temperatura para o crescimento está entre 20 e 30° C.

A necessidade de água para o desenvolvimento dos fungos varia entre suas espécies. A água existente nos alimentos nem sempre encontra-se disponível para o fungo. Alguns substratos retêm fortemente a água, dificultando a sua absorção pelo fungo. Em outros, a água existente pode estar quase inteiramente disponível e essa pode ser medida para cada substrato. A medida tomada é chamada de atividade de água do substrato. O maior valor de atividade de água é 1, ou seja, toda a água do substrato está disponível, e é o valor dado para a água pura. Em geral, a atividade de água mínima para o desenvolvimento dos fungos toxigênicos é de 0,76 (MALLOZZI e CORRÊA, 1998).

Os fungos desenvolvem-se em produtos cuja atividade de água varia de 0,65 a 0,90, faixa que os grãos podem possuir teor de umidade de 14 a 22%. Por isso, na conservação dos grãos é empregado o processo de secagem, o qual visa reduzir o teor de umidade dos produtos em níveis que a atividade de água não propicie a proliferação de fungos (SILVA, 2001).

Tem se estimado também que mais de 300 micotoxinas já foram identificadas, produzidas por pelo menos 350 espécies de fungos. O número exato dificilmente será determinado. A suspeita é de que quase todos os fungos, se testados, mostrariam alguma espécie de toxicidade e que todos os alimentos e rações susceptíveis à produção de fungos podem ser potencialmente contaminados sob condições ambientais apropriadas (SABINO, 1995).

As micotoxinas são muito resistentes, suportando até 200° C. Sua atividade tóxica persiste por um longo tempo nos alimentos, mesmo após o desaparecimento dos fungos que as originaram.

As micotoxinas podem ser divididas em três grandes grupos: (1) Aflatoxinas, produzidas por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*; (2) Fusariotoxinas, produzidas por fungos do gênero *Fusarium*, representadas pela zearalenona, tricotecenos e fumonisinas; (3) Ocratoxinas, produzidas pelo *Aspergillus alutaceus* (*A. ochraceus*) e algumas espécies do gênero *Penicillium* (CORRÊA, 2000).

Sob condições favoráveis de temperatura e umidade, os esporos dos fungos germinam, formam hifas e, ao desenvolverem seu micélio sobre a superfície dos grãos, produzem pelo menos três situações desfavoráveis (CRUZ, 1995):

- redução do valor nutritivo do alimento porque utiliza parte dos nutrientes para o seu próprio crescimento;
- aumento dos riscos de ocorrência de infecções pulmonares nas aves por fungos patogênicos;
- sendo toxígeno, como é o caso de *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium citrinum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium moniliforme*, diversas micotoxinas podem surgir como contaminantes provocando graves problemas de intoxicação aguda ou crônica.

A intoxicação por micotoxinas é chamada de micotoxicose. A micotoxicose pode causar ao organismo do animal e/ou do ser humano danos no crescimento, afetando funções do organismo, desenvolvendo tumores podendo, inclusive, ser

letal. Os órgãos mais freqüentemente afetados são fígado, rins, cérebro, músculos e sistema nervoso. Os sintomas vão desde náuseas e vômitos até a falta de coordenação dos movimentos (ataxia) e morte.

O conhecimento sobre a contaminação por micotoxinas no Brasil ainda está direcionado para as aflatoxinas e as culturas mais estudadas são amendoim e milho (SABINO, 1995). Como grande produtor de grãos, o Brasil tem na agricultura uma das bases mais potentes da economia nacional, representados pela soja, milho, feijão, trigo, entre outros.

Dentre as muitas micotoxinas conhecidas, algumas são consideradas mais importantes para a produção animal e alimentação humana devido sua ampla distribuição e grau de toxicidade aos animais e aos homens (VIEIRA, 1995).

## 2.4 AFLATOXINAS

Sem dúvida, as toxinas de origem fúngica mais estudadas até hoje pertencem ao grupo das aflatoxinas. Sua importância data da década de 60 quando farelo de amendoim exportado pelo Brasil causou grande mortalidade de perus na Inglaterra. Naquela época, o agente causador da mortalidade dos animais era desconhecido, não apresentava causa aparente, e o mal foi denominado de "Doença X dos Perus" (Turkey X Disease), cujo desaparecimento dos sintomas ocorria com a mudança de rações (SCUSSEL, 1998; VIEIRA, 1995).

As primeiras descrições da natureza química das aflatoxinas foram publicadas em 1960 e 1962, e têm sido uma significante preocupação na saúde e no comércio desde aquele tempo.

Segundo SCUSSEL (1998), por algum tempo julgou-se que o *Aspergillus flavus* fosse o único fungo que produzia a aflatoxina; no entanto, é do conhecimento que existem outras espécies de *Aspergillus*, e mesmo outros gêneros produtores dessas toxinas, como o *Aspergillus parasiticus*, que predomina nos países tropicais, e é considerado um dos mais ativos.

O gênero *Aspergillus* é responsável pela produção da aflatoxina, a micotoxina mais importante e estudada. A sua produção se dá principalmente em alimentos como amendoim e milho, e é favorecida por temperaturas entre 23-26º C e umidade relativa acima de 75%. A contaminação de alimentos por aflatoxinas ocorre

com maior freqüência em países de clima quente e úmido, onde a umidade relativa do ar acima de 85% e temperatura em torno de 27° C favorece o crescimento e a produção de aflatoxinas por fungos toxigênicos (PRADO et al., 1989).

Aflatoxina é a denominação dada a um grupo de substâncias muito semelhantes e que são tóxicas ao homem e aos animais (FONSECA, 1999b). São produtos metabólitos do grupo bisfurano-isocumarina produzidos principalmente por dois fungos (bolores) denominados *A. flavus* e *A. parasiticus*, que se desenvolvem sobre muitos produtos agrícolas e alimentos, em condições favoráveis, e para os quais não há nenhuma função conhecida dentro do processo fundamental da vida do organismo (PRADO et al., 1989; SCUSSEL, 1984).

Segundo MILLER (1999), as aflatoxinas são solúveis em água e em solventes como o metanol e o etanol, mas insolúveis em gorduras e óleos. Estas toxinas fúngicas são, geralmente, termoestáveis e não se degradam naturalmente, a não ser que sejam metabolizadas por enzimas hepáticas ou enzimas produzidas por microrganismos; além disso, as aflatoxinas são incolores e inodoras.

As aflatoxinas tem ponto de fusão elevado. São bastante solúveis em solventes orgânicos polares como clorofórmio e acetona, moderadamente solúveis em éter de petróleo e podem ser recristalizadas facilmente. São estáveis ao calor sendo decompostas à temperatura de cerca de 220°C (SCUSSEL, 1984).

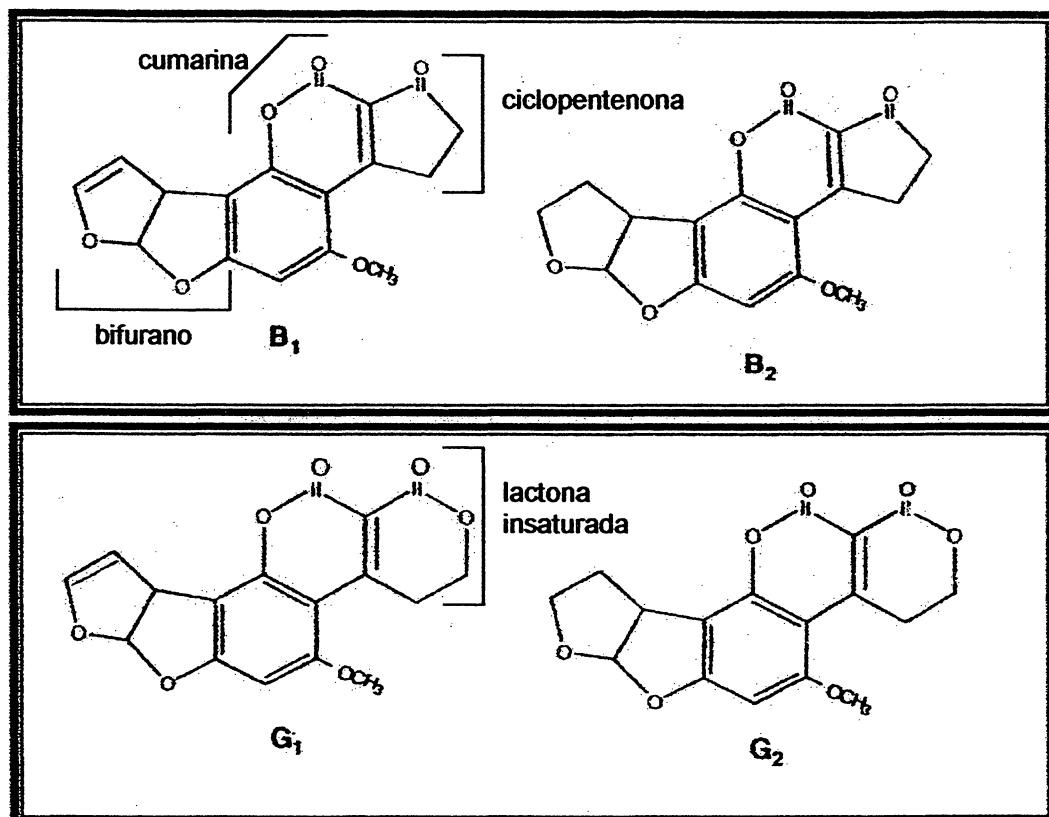
São conhecidos 17 compostos químicos, todos designados aflatoxinas. O termo se refere, normalmente, aos quatro principais compostos do grupo de metabólitos bisfuranocumarinas, identificados como B1, B2, G1 e G2 (Figura 4), que se distinguem por sua fluorescência quando observados sob luz ultravioleta (365 nm); assim, B corresponde à cor azul ("blue") e G à cor verde ("green"), e os índices correspondem à mobilidade cromatográfica relativa (CALORI-DOMINGUES, 1993).

Segundo SCUSSEL (1984), as aflatoxinas podem absorver nos comprimentos de onda de 223, 265 e 363 nm, na região do ultravioleta. Para o Organizacion Panamericana de la Salud (1983), em 265 e 360 a 362 nm. Portanto, as aflatoxinas podem ser observadas sob luz ultravioleta em três comprimentos de onda distintos: 223, 265 e na faixa de 360 a 365 nm.

A série G das aflatoxinas difere quimicamente da série B pela presença de um anel 3-lactona, em vez de um anel ciclopentenona. Também, uma dupla ligação 8,9 é encontrada na forma de um éter de vinil no anel terminal furano nas aflatoxinas

B1 e G1, mas não em B2 e G2. As pequenas variações estruturais que distinguem as aflatoxinas têm uma influência drástica nas propriedades de fluorescência citadas: os derivados B2 e G2 são mais fluorescentes que os seus homólogos insaturados, B1 e G1 (JAIMEZ et al., 2000).

FIGURA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS AFLATOXINAS



FONTE: JAIMEZ et al.; 2000.

A diferença na estrutura é associada com uma mudança muito significante na atividade, sendo que as aflatoxinas B1 e G1 são carcinogênicas e consideravelmente mais tóxicas que B2 e G2 (JAIMEZ et al., 2000). A toxicidade das aflatoxinas decresce de B1 para G2, sendo B1>G1>B2>G2. A G1 possui metade da toxicidade da B1 (SCUSSEL, 1998).

Desde sua descoberta em 1960, a relação entre as toxinas e doenças de animais e humanos tem sido de interesse considerável. A ocorrência de aflatoxinas em rações e alimentos é inevitável, e é influenciada por certos fatores ambientais; consequentemente, a extensão da contaminação de aflatoxina é impossível de

predizer e varia com a localização geográfica, práticas agrícolas e suscetibilidade do produto à invasão fúngica durante pré-colheita, armazenamento, ou processamento (TRUCKSESS e WOOD, 1994).

As aflatoxinas, consideradas um produto do metabolismo secundário de *Aspergillus*, elaborado somente em produtos agrícolas estocados, pode ser também produzido antes da colheita dos grãos porque o fungo pode atingí-los, penetrando através da flor. Inegavelmente, entretanto, a contaminação ocorre com mais freqüência no período pós-colheita (CRUZ, 1995):

- quando a secagem dos grãos é retardada ou não é feita adequadamente;
- durante o seu transporte sob condições inadequadas, em caminhões ou trens que ao permanecerem expostos ao sol, tem a carga aquecida, provocando a formação de correntes de convexão e o consequente deslocamento de vapor d'água das áreas mais quentes da carga para regiões mais frias, ocorrendo sua condensação, com aumento da umidade local, criando as condições para o desenvolvimento de fungos e a produção de micotoxinas. A solução para esse problema é a adoção de um sistema de aeração adaptável à carroceria do caminhão ou trem;
- durante a armazenagem do produto agrícola que necessita ser feito com sistemas eficientes de aeração, controle de temperatura e da contaminação por insetos;
- no processamento industrial, quando o produto pode ser contaminado por sobras contaminadas de outros produtos anteriormente processados;
- durante a estocagem na fazenda do produto industrializado (rações, por exemplo).

A presença de fungo toxigênico em um produto agrícola pode resultar na produção de aflatoxinas e a toxina formada poderá ser ingerida diretamente pelo homem ou transferida para o material que será utilizado na elaboração de rações animais. Vacas, aves e suínos podem ingerir essas rações, converter a toxina em seus metabólitos tóxicos que irão entrar na cadeia alimentar do homem através do consumo de leite, ovos ou carne (SCUSSEL, 1998).

As aflatoxinas existem no solo mas se desenvolvem nos nutrientes contidos nos grãos, podendo ser encontradas, sob condições naturais, em um grande número de alimentos vegetais *in natura* e processados, como sementes oleaginosas

(amendoim, semente de algodão) e leguminosas (soja), cereais (milho, arroz, trigo, centeio, sorgo e aveia), nozes, algumas frutas bem como nos alimentos processados. Esses são considerados bons substratos, favorecendo em maior ou menor grau o crescimento de fungos aflatoxigênicos (SCUSSEL, 1984). Os principais produtos agrícolas nos quais as aflatoxinas são produzidas são milho, soja, algodão, sorgo, amendoim e diversos tipos de nozes.

Verificou-se uma presença significativa das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em uma grande variedade de produtos: milho e em outros cereais, amendoim, nozes, sementes de algodão, sementes oleaginosas e farinhas de cereais. A incidência de aflatoxinas em alguns produtos, por exemplo, aveia, cevada, trigo, arroz e soja estavam limitadas a alguns casos isolados e em concentrações reduzidas (SABINO, 1995).

Os perigos referentes às aflatoxinas não são apenas aqueles relacionados ao consumo direto de amendoim ou outros produtos. Testes sensíveis e seguros demonstraram que as aflatoxinas estão presentes em tecidos comestíveis e no leite de animais alimentados com produtos contaminados com as toxinas (CALORI-DOMINGUES, 1993).

A aflatoxina B1 é a substância carcinogênica, de ocorrência natural, mais potente que se conhece, causando danos à saúde humana e animal (CALORI-DOMINGUES, 1993), e após sua conversão em outras formas ativas, pode se ligar covalentemente ao DNA, RNA, proteínas e outras moléculas.

Segundo UENO<sup>5</sup>, citado por VIEIRA (1995, p. 67), a aflatoxina B1 tem profundos efeitos bioquímicos em animais, através da inibição da fosforilação oxidativa, desagregação do perfil polissômico e perda de integridade de lisossomas. Dessa forma, pode ser esperado efeito da aflatoxina B1 no metabolismo energético, protéico, além de efeitos sobre a imunidade dos animais. Além disso, a rápida absorção desta toxina pelo trato gastrointestinal e sua ligação reversível com a albumina e outras proteínas hepáticas leva a potenciação de sua toxicidade (WYATT<sup>6</sup>, citado por VIEIRA, 1995, p. 67). Apesar de altamente tóxica, a aflatoxina B1 apresenta rápida metabolização e eliminação do organismo, principalmente

---

<sup>5</sup> UENO, Y. **Biochemical mode of action of mycotoxins.** In: MYCOTOXINS AND ANIMAL FOODS. CRC Press, 1991.

<sup>6</sup> WYATT, R. D. **Poultry.** In: MYCOTOXINS AND ANIMAL FOODS. CRC Press, 1991a.

através de secreções biliares e intestinais (BUSBY e WOGAN<sup>7</sup>, citados por VIEIRA, 1995, p. 67).

De acordo com MILLER (1999), cada vez mais há uma conscientização da importância das perdas econômicas causadas pelas aflatoxinas. A aflatoxina B1 é a micotoxina mais importante deste grupo pois é a mais tóxica, mais mutagênica e a mais carcinogênica. Quando metabolizada no fígado ou em outras células, a estrutura de B1 pode ser alterada através da adição ou retirada de grupos hidrogênio (H), oxigênio (O) ou hidroxila (OH). Essas pequenas alterações levam a reduções importantes na toxicidade.

O risco para humanos pode ser por exposição direta, através do consumo de produto contaminado com aflatoxina, ou indiretamente através do consumo de alimentos como leite, ovos e fígado, de animais alimentados com ração contaminada.

A principal fonte de exposição humana à aflatoxina é apresentada através de alimentos contaminados. Em áreas tropicais, onde o alimento principal é freqüentemente contaminado com a micotoxina e a população é exposta a dietas monótonas baseadas em tais alimentos, o risco à saúde é particularmente alto. Porém, a aflatoxina foi ocasionalmente encontrada em vários gêneros alimentícios na Europa e nos Estados Unidos e indica que sua produção não é limitada a uma única área geográfica, mas pode estar no mundo inteiro gerando um real e potencial problema (DVORÁCKOVÁ, 1990).

Não é possível quantificar a dose exata a partir da qual os riscos citados se tornam uma realidade. Mas uma coisa é certa: quanto menos se ingerir, melhor!

O efeito tóxico causado pelas aflatoxinas pode ser de curta duração, denominada aflatoxicose aguda, ou de longa duração, a aflatoxicose crônica.

As aflatoxinas podem ter atividade tóxica aguda em diversos animais, e pequenas quantidades são suficientes para causar danos hepáticos e hemorragias no trato gastrointestinal e na cavidade peritoneal.

A síntese hepática de gordura bem como o transporte desta para outras áreas do organismo são seriamente afetados pela ação da aflatoxina B1 (MERKLEY

<sup>7</sup> BUSBY, W. F.; WOGAN, G. N. Aflatoxins. In: MYCOTOXINS AND N-NITROSO COMPOUNDS: Environmental risks. CRC Press, 1981.

et al.<sup>8</sup>; TUNG et al.<sup>9</sup>, citados por VIEIRA, 1995, p. 67), explicando as principais características observadas em animais com aflatoxicose: coloração amarelada e estrutura friável do fígado devido à infiltração de gordura nesse órgão. Como consequência, a deposição de gordura em outras áreas é reduzida.

MERKLEY et al.<sup>10</sup>, citado por VIEIRA (1995, p. 67), verificaram que a síntese de lipídios no fígado é afetada pela ação da aflatoxina B1 devido à inibição da produção das enzimas responsáveis pela síntese e elongação de ácidos graxos nesse órgão.

Na forma aguda da aflatoxicose, o primeiro sintoma da intoxicação por aflatoxina é a inapetência. O fígado do animal que está ingerindo alimento contaminado é afetado pela toxina, que provoca alterações em diversas funções orgânicas. A coagulação sanguínea é retardada ou interrompida, o que provoca hemorragias; as lesões renais levam à icterícia, o que pode provocar morte súbita.

Os efeitos crônicos da aflatoxicose são, geralmente, fraqueza, retardo de crescimento e inapetência. Eventuais infecções, normalmente sem maiores efeitos, tornam-se mais graves pois o organismo apresenta imunossupressão. Internamente, o fígado apresenta aumento de volume seguido por fibrose hepática e carcinomas.

CLIFORD e REES<sup>11</sup>, citados por SALLE e LORENZINI (1995, p. 49), demonstraram que após uma hora da ingestão de aflatoxina já há inibição da síntese protéica *in vitro* devido a uma marcante inibição na RNA-polimerase. Esses autores sugerem a seguinte seqüência de eventos no curso das aflatoxicoses:

- a toxina entra no núcleo da célula hepática;
- une-se ao DNA e desse modo inibe a RNA-polimerase;
- reduz a síntese de RNA envolvendo a síntese de RNA-mensageiro;
- a inibição do RNA-mensageiro reflete-se 15 minutos após na redução da síntese protéica.

Segundo BOEING (1999), "a aflatoxina B1 inibe a síntese do DNA e interfere na síntese do RNA, inibe a mitose e pode produzir alterações nos cromossomos,

<sup>8</sup> MERKLEY, J. W. et al. Hepatic fatty acid profiles in aflatoxin-exposed broiler chickens. *Poultry Science*, v. 66, p. 59-67, 1987.

<sup>9</sup> TUNG, H. T. et al. Altered lipid transport during aflatoxicosis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v.22, p. 97-104, 1972.

<sup>10</sup> op. cit.

<sup>11</sup> CLIFORD, J. I.; REES, K. R. Aflatoxin: a site of action in the rat liver cell. *Nature*, v. 209, p. 312-313, 1966.

tendo, assim também, efeitos mutagênicos". Talvez o efeito mais grave das aflatoxinas seja a sua capacidade de alteração do estado imunológico do organismo.

Quanto aos seus efeitos tóxicos no ser humano, experiências diretas não podem ser feitas e as evidências que aparecem estão em dados indiretos, por experiências realizadas em animais, por possíveis casos de aflatoxicose aguda no homem e por meio de estudos epidemiológicos.

O principal envenenamento ocorreu na Índia, onde 74 pessoas morreram, e no Quênia, com 12 mortes (PARK e STOLOFF, 1989), o que demonstra que os humanos não estão imunes aos efeitos tóxicos da aflatoxina. Esses eventos também mostram que envenenamentos podem ocorrer através da exposição a altos níveis de toxinas em períodos de tempo relativamente pequenos.

Em duas vilas de Taiwan, 26 pessoas ficaram doentes, com sintomas que pareciam intoxicação, após comerem arroz elaborado contendo 200 µg/kg de aflatoxina B1. Desse total, sete adultos sofreram somente desconforto geral, 19 crianças desenvolveram edema nas pernas, dor abdominal, vômito, fígado palpável, porém sem febre e três das crianças morreram.

Segundo DVORÁCKOVÁ (1990), um ano após os casos em Taiwan, membros de uma família no Canadá desenvolveram uma doença aguda no fígado associada com a ingestão de espaguete altamente contaminado com aflatoxina.

Novamente na Índia, em dois estados adjacentes (Guparat e Rapstran), 397 pacientes foram afetados por hepatite acompanhada de icterícia, vômitos, breve período de febre e anorexia. O incidente foi associado ao consumo de milho contaminado com *A. flavus*. A análise do milho coletado nas casas dos parentes apresentou teores de 6.000 a 16.000 µg/kg de aflatoxina B1. No total, 106 pessoas morreram com morte súbita, precedida de forte hemorragia gastrointestinal.

Em Uganda, um menino desenvolveu dor abdominal e inchaço. Após quatro dias, foi levado ao hospital com edema de pernas, fígado macio, sem febre. Morreu dois dias após com edema pulmonar, necrose do fígado e coração frrouxo e macio. Os irmãos do menino também apresentaram dor abdominal e desconforto geral, ambos recuperaram-se. A dieta dos adolescentes constituía-se de mandioca, feijão, peixe e carne. A mandioca apresentou-se contaminada com 1.700 µg/kg de aflatoxina B1.

Uma outra evidência direta, embora circunstancial, ligando aflatoxina e aflatoxicose aguda no homem é a Síndrome de Reye, limitada à infância e à adolescência. É epidêmica no nordeste da Tailândia. A doença é caracterizada por um período de várias horas onde os primeiros sintomas da doença são observados, seguindo-se por vômitos, níveis baixos de glicose sanguínea, convulsões e presença de amônia ou seus compostos no sangue, além de coma, usualmente terminando em morte um a dois dias após o início dos sintomas. O quadro histopatológico apresenta acúmulo de líquido no cérebro e acúmulo extensivo de gordura no fígado e outros órgãos.

A Síndrome de Reye, ou encefalopatia com degeneração gordurosa do encéfalo, tem sido associada a infecções virais, mas há a suspeita de que as aflatoxinas exercem um importante papel na etiologia da síndrome (NELSON et al.<sup>12</sup>, citado por SALLE e LORENZINI, 1995, p. 54).

Autópsias de 23 crianças tailandesas, que morreram com a Síndrome de Reye, e de 15 crianças que morreram de causa não relacionada, foram quimicamente analisadas para aflatoxinas. Aflatoxinas B1 e B2 foram encontradas em 22 dos 23 casos com Síndrome de Reye, em níveis de 1 a 4 µg/kg. Traços de B1 também foram detectados em 11 dos 15 controles.

As aflatoxinas podem estar associadas ao câncer humano. CARBAJAL<sup>13</sup>, citado por SALLE e LORENZINI (1995, p. 54), relatou que as pessoas que padeciam dessa enfermidade apresentavam níveis mais altos de ligações aflatoxina-DNA do que os indivíduos saudáveis. Para a autora, esses fatos indicam que as aflatoxinas podem significar um risco de câncer para uma variedade de órgãos, seja pela possibilidade de fontes desconhecidas de aflatoxinas na dieta ou que os níveis de tolerância permitidos nos alimentos estejam muito altos.

Segundo SCUSSEL (1998), vários cientistas sugeriram que a dieta com aflatoxina poderia ser a causa do câncer de fígado primário. Estudos epidemiológicos têm sido feitos em vários países para provar essa hipótese. Os resultados dos estudos mostram uma correlação positiva altamente significativa entre o nível de aflatoxina na dieta e a incidência de câncer de fígado. Esses

<sup>12</sup> NELSON, D. B. et al. Aflatoxin and Reye's syndrome: a case control study. *Pediatrics*, v. 66, p. 865-869, 1980.

<sup>13</sup> CARBAJAL, L. M. Las aflatoxinas como factor de riesgo de cancer en humanos. I Congresso Latino Americano de Micotoxicología. Rio de Janeiro, Brasil, 1994.

estudos foram feitos por coleta e análise de amostras dos alimentos preparados em casa e estocados nas casas e nos supermercados.

Os efeitos das aflatoxinas são acentuados quando administrados junto com dieta carente em proteínas.

Segundo uma teoria clássica, o Kwashiorkor, uma afecção orgânica que mata milhões de crianças nos países tropicais subdesenvolvidos, pode ser causado por uma inadequação protéico-calórica da dieta. Todavia, pesquisadores têm apresentado a hipótese de que o Kwashiorkor pode resultar da intoxicação aguda por aflatoxina (SCUSSEL, 1998).

Provavelmente, a aflatoxina não seja a responsável primária pelo desenvolvimento do Kwashiorkor; contudo, evidências indicam que a toxina exerce um papel importante na etiologia da doença.

Embora os humanos e os animais são expostos principalmente à aflatoxina pela dieta, evidências consideráveis sugerem a possibilidade da aflatoxina que pode estar presente em partículas respiráveis apresentar um perigo potencial pela rota respiratória, particularmente em trabalhadores nos ambientes agrícolas. Um recente estudo mostrou que a exposição dérmica à aflatoxina também poderia apresentar um risco potencial, particularmente para trabalhadores em pesquisas laboratoriais (DVORÁCKOVÁ, 1990).

É importante encarar o problema com seriedade. Por um lado, é necessário que os produtores e as indústrias transformadoras estejam conscientes desse problema. Por outro lado, as autoridades devem fazer um controle mais rigoroso e regular.

O consumidor não tem condições de saber se os alimentos estão ou não contaminados pelas micotoxinas pois, além de invisíveis, elas não têm cheiro nem sabor (TESTE SAÚDE, 1999).

A aflatoxina continua causando entraves e, inclusive, desentendimentos entre exportadores brasileiros de amendoim e subprodutos.

#### 2.4.1 Prevenção e controle

Primeiramente, há necessidade de que haja um reconhecimento e conscientização de que existe uma ameaça. Deve existir motivação das pessoas não treinadas para os cuidados que devem ter em todos os estágios da cultura,

desde a colheita até o processamento e a distribuição dos alimentos (SCUSSEL, 1998).

A viabilidade de produtos alimentícios "isentos" de micotoxinas depende de programas bem sucedidos de prevenção e controle (SABINO, 2000).

Dada a pressão dos países desenvolvidos, por meio dos serviços de detecção da presença de micotoxinas, os países fornecedores são compelidos a adotarem medidas de prevenção e controle, com expectativas de grande intensificação futura no comércio desses produtos.

O controle ou prevenção das aflatoxinas em alimentos, como em qualquer outro país, é um problema de controle de qualidade (SABINO et al., 1989). Baseia-se no controle do desenvolvimento dos fungos produtores de toxinas através de medidas preventivas quanto às condições que limitam seu crescimento através do desenvolvimento de variedades de grãos resistentes; técnicas agrícolas adequadas (cultivo, manuseio durante a colheita e a secagem); e métodos eficientes de armazenagem e transporte (SCUSSEL, 1998).

Os fungos produtores de substâncias tóxicas podem ser encontrados em produtos agrícolas durante cultivo, colheita, transporte e armazenamento. A eventual presença de micotoxinas em alimentos, rações e outros produtos exportáveis como café, castanha-do-pará, castanha-de-cajú, ou de importação como o trigo, constitui problema de ordem sanitária de alta prioridade nos países participantes do comércio exterior.

Na prática, o desenvolvimento fúngico pode ser controlado pela secagem dos produtos em níveis seguros de umidade (atividade de água e teor de umidade). Entretanto, tal prática não oferece garantias quando as condições de armazenamento dos grãos e rações não foram adequadas havendo, com isso, o risco de se reumedecerem (CORRÊA, 1995).

Um método de prevenção da contaminação com aflatoxinas nos alimentos é através da inibição do crescimento de fungos produtores das toxinas. Os danos causados por fungos em grãos e sementes oleaginosas são controlados pela secagem até um nível de umidade seguro.

Assim, a pesquisa de fungos, efetuada através da contagem de colônias em meio de cultura (nº de unidades formadoras de colônias por grama de alimento) é de muita utilidade para assegurar a qualidade da secagem. Como alternativa, existem

métodos que utilizam substâncias químicas (fungicidas) no tratamento de grãos e rações que, apesar de não destruírem as micotoxinas, inibem o desenvolvimento fúngico.

A presença de fungos produtores de aflatoxinas nas plantas durante o desenvolvimento dos frutos, na colheita e estocagem, pode ser prevenida ou controlada pelo uso de fungicidas. Os fungicidas para serem usados na estocagem têm sérias limitações, tais como toxicidade para animais, excessivo custo, dificuldade de aplicação, efeitos indesejáveis na qualidade do grão e pouca toxidez para os fungos de estocagem. Freqüentemente, são efetivos em combinação com conteúdo de umidade, temperatura, tempo e concentração (SCUSSEL, 1984).

O emprego de fungicidas, pós-colheita, pode ser uma opção no controle do crescimento de fungos capazes de produzir aflatoxinas (*Aspergillus flavus/A. parasiticus*) quando as condições climáticas não favorecem uma secagem rápida e eficiente do alimento que será armazenado (CALORI-DOMINGUES, 1993).

Infelizmente, a contaminação com micotoxinas pode ocorrer não obstante os esforços em relação à sua prevenção. Assim, outros meios devem ser considerados, reconhecendo-se que devem ser aplicados apenas se as medidas preventivas falharem e não como alternativa à prática de armazenagem.

Métodos para detoxificação têm sido sugeridos em diversos momentos como os processos de amoniação e, mais recentemente, os tratamentos com silicatos. Ao lado desses procedimentos baseados na modificação da molécula da micotoxina (amoniação) ou no seu sequestramento (silicatos), propostas têm sido feitas para um controle das intoxicações (CRUZ, 1995).

Na prática, as técnicas utilizadas na prevenção da contaminação, às vezes, são de difícil execução e de resultado incerto pois são dependentes das condições climáticas e realizadas por produtores e cerealistas. Assim sendo, quando as medidas preventivas não forem eficientes, deve-se utilizar técnicas de detoxificação. Tais técnicas, criadas e aplicadas para o controle das aflatoxinas, baseiam-se na utilização de propriedades físicas e químicas de solubilidade, sensibilidade à luz ultravioleta e degradação química, transformando-as em produtos não tóxicos.

Dentre as técnicas utilizadas na detoxificação de produtos, podem ser mencionadas (MALLOZZI e CORRÊA, 1998):

- a) Extração por solventes: em sementes inteiras não é eficiente. Em farelos, o processo é eficiente, apesar de dispendioso, e com o inconveniente do solvente residual alterar o aroma e o sabor. Os mais eficientes são: isopropanol aquoso, etanol aquoso e acetona aquosa.
- b) Degradação química: a substância mais eficiente para essa finalidade é a amônia gasosa, utilizada sob elevada temperatura e pressão para detoxificar farelos e grãos.
- c) Degradação biológica: pode ser efetuada utilizando-se a bactéria *Flavobacterium aurantiacum* que age removendo totalmente as aflatoxinas do leite, milho, óleo de milho e creme de amendoim.
- d) Irradiação: parece que a degradação das aflatoxinas por esse método é dependente do comprimento de onda, da presença de solventes e da concentração de toxina no material. Não há indicações de que o tratamento com luz ultravioleta tenha valor prático.
- e) Tratamento térmico: as aflatoxinas podem ser degradadas em certa porcentagem pelo calor. A degradação é maior em ambiente úmido.
- f) Remoção seletiva: seleção eletrônica ou manual pode separar grãos cujas características estão relacionadas à maior contaminação com aflatoxinas, como os grãos descoloridos do amendoim. Mesas gravitacionais também são utilizadas com a mesma finalidade, separando os grãos mais leves.
- g) Absorção: alguns autores têm pesquisado a viabilidade da utilização de argilas de origem vulcânica naturais ou sintéticas, especialmente bentonitas e aluminosilicatos de sódio e cálcio. Alguns desses compostos são eficientes como agente adsorvente, outros apresentam reduzida capacidade de adsorção.

O controle das micotoxinas através das técnicas de detoxificação vem sendo efetuado, com relativo sucesso, em algumas partes do mundo principalmente em relação às aflatoxinas. Entretanto, a prevenção por meio de práticas agrícolas adequadas ainda é a melhor maneira de se combater a problemática das micotoxinas e micotoxicoses.

Métodos genéticos têm sido desenvolvidos com o objetivo de desenvolver variedades de sementes mais resistentes aos fungos toxigênicos ou que sejam capazes de inibir a produção de micotoxinas (CORRÊA, 1995).

Grandes esforços e recursos vêm sendo aplicados em todo o mundo na procura de métodos e procedimentos para minimizar ou mesmo eliminar esse problema. O sucesso dependerá entre outras coisas (CRUZ, 1995):

- do entendimento dos mecanismos de contaminação pré e pós-colheita;
- da manutenção de um constante monitoramento das micotoxinas nos alimentos;
- dos conhecimentos sobre os efeitos das micotoxinas nos animais;
- da disponibilidade no país de métodos simples e baratos para detecção de micotoxinas.

#### 2.4.2 Tolerância

A busca de um limite máximo aceitável em grãos tem sido a maior preocupação dos fabricantes de ração, no que concerne a presença de micotoxinas.

Face ao perigo que constitui a presença de aflatoxinas nos alimentos, quer do homem quer dos animais, julga-se necessário estabelecer os limites máximos de resíduos que deveriam ser regulamentados e coincidentes em nível mundial (AMADO, 2001).

Os produtores de aves e suínos, em conjunto com os produtores de rações comerciais vêm demonstrando preocupação constante e esforço crescente na busca de soluções técnicas para reduzir o problema gerado pela micotoxina em nível industrial (VIEIRA, 1995). Entretanto, nessa questão, nenhuma ação tem sido observada por parte do governo, no que diz respeito ao desencadeamento de ações que venham a preservar o bem estar da população, desde que a Resolução n. 34 de 1976, do Ministério da Saúde, estabeleceu o limite de 30 ppb para aflatoxinas, considerando a soma das aflatoxinas B1 e G1 (BRASIL, 1977), e em 1996 o Ministério da Agricultura, através da Portaria MAARA n. 183, estabeleceu em 20 ppb o limite para o somatório das aflatoxinas (B1 + B2 + G1 + G2) (FONSECA, 2001).

As tolerâncias em países europeus e nos Estados Unidos da América são mais rígidas e possuem um nível de detalhamento maior. Os limites máximos para aflatoxinas e outras micotoxinas permitidas em alimentos para consumo humano, em vários países, estão relacionados na Tabela 4.

A determinação de limites legais para a presença de micotoxinas na comercialização de grãos não resolve, por si só, a questão das micotoxinas no Brasil. Entretanto, precisa-se nortear as ações técnicas desde o cultivo até o

armazenamento dos grãos. A legislação deve ser baseada em estudos sérios da realidade nacional, evitando simplesmente a cópia de normas estrangeiras (VIEIRA, 1995).

**TABELA 4 – NÍVEIS MÁXIMOS PERMITIDOS PARA AFLATOXINAS EM ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO**

PAÍS	NÍVEL MÁXIMO ( $\mu\text{g/kg}$ )	ALIMENTO
Austrália	15 (B1)	Amendoim e derivados
Brasil	30 (B1 + G1)	Amendoim e derivados
Canadá	5 (B1)	Outros alimentos
Dinamarca	15 (total aflatoxinas) 10 (total aflatoxinas)	Nozes comestíveis e derivados Amendoim
India	30 (B1)	Todos os alimentos
Itália	50	Amendoim e derivados
Japão	10	Todos os alimentos
Holanda	5	Amendoim e derivados
Polônia	0	Todos os alimentos
Singapura	0	Todos os alimentos
Africa do Sul	10 (total aflatoxinas) 5 (B1)	Todos os alimentos
Suécia	5 (total aflatoxinas) 0,5 (M1)	Todos os alimentos Leite, derivados
UK	10 (total aflatoxinas)	Nozes e derivadas
USA	20 (total aflatoxinas)	Todos os alimentos
Alemanha	10 (total aflatoxinas) 5 (B1)	Todos os alimentos

FONTE: SCUSSEL, 1998.

Pelos dados apresentados, pode-se verificar a não coincidência no valor dos limites máximos de resíduos em nível mundial. Esse fato vem criar problemas à comercialização de determinados produtos, uma vez que produtos que não são aceitos num determinado país podem sê-lo noutro (AMADO, 2001).

É provável que mudanças ocorram com essas tolerâncias no futuro. Existe uma tendência geral de tornar as tolerâncias mais rígidas, principalmente no que se refere a produtos e subprodutos agrícolas, carnes e seus derivados para exportação (LAZZARI, 1997).

Pode-se dizer que tem havido grande evolução no que concerne aos teores de aflatoxina admissíveis em produtos para alimentação humana e animal. Os teores

têm baixado na razão direta do aumento da sensibilidade dos métodos de análise e do conhecimento dos efeitos das aflatoxinas no organismo. O estabelecimento desses limites é da maior importância, na medida em que vai criar dificuldades de comercialização de produtos contaminados acima de certo limite (AMADO, 2001).

Muitos países tentaram limitar exposição a aflatoxinas impondo limites de regulamentação em rações e alimentos em canais comerciais. Indústrias de rações e de alimentos deveriam monitorar seus produtos habitualmente para assegurar que os níveis de aflatoxinas estão abaixo dos limites de regulamentação. Métodos de análise sensíveis, exatos e precisos são necessários para que qualquer programa de monitoramento seja efetivo (TRUCKSESS e WOOD, 1994).

Resultados positivos pouco dizem com relação às concentrações máximas de micotoxinas aceitáveis nos alimentos, ou níveis de segurança. Esses níveis podem ser estabelecidos com base em vários pontos de vista. Sob o ponto de vista do produtor de frangos, o nível de segurança é aquele que permite produzir sem prejuízo econômico; mas sob o ponto de vista da saúde pública, esse nível pode ser aquele a partir do qual são evidenciadas alterações hepáticas em seres humanos, por exemplo.

Felizmente, a literatura indica que os danos econômicos ocorrem com níveis bastante baixos das principais micotoxinas e, portanto, como regra geral, o consumidor está protegido. Ainda assim, a legislação se torna necessária para limitar as possibilidades de ocorrência de resíduos estrogênicos em alimentos de origem animal, como no caso da zearalenona, bem como para evitar que o consumo freqüente de órgãos, como fígados de aves e suínos, possa gerar algum grau de contaminação humana por outras micotoxinas, como as aflatoxinas e as ocratoxinas (VIEIRA, 1995).

#### 2.4.3 Metodologia

As técnicas analíticas para a detecção de micotoxinas estão sendo continuamente aprimoradas. Embora os custos analíticos possam constituir uma restrição à realização dos testes, esses custos passam a ser insignificantes se comparados às consequências econômicas causadas por quebras de produção e doenças associadas à contaminação por micotoxinas.

A disponibilidade de métodos de análise tem disputado um papel chave nos levantamentos da incidência de micotoxinas que estão usualmente presentes em produtos agrícolas e seus derivados como menores constituintes, em concentrações que variam de ng a mg/g, suas análises portanto exigem técnicas analíticas de traços, ou seja, métodos com alta sensibilidade. Esses métodos devem ser rápidos, simples e de baixo custo para que possam ser usados em análises rotineiras de inspeção e nas condições de laboratórios brasileiros (SABINO, 1995).

Vários métodos podem ser utilizados para a detecção e quantificação de micotoxinas em alimentos e, quando possível, em tecido muscular, leite, urina, soro, fezes e sangue. Os métodos existentes para determinação de micotoxinas baseiam-se em alguma medida física ou característica química das mesmas, como absorção na região do ultravioleta, fluorescência ou mudança de cor quando ocorre alguma reação química (SABINO, 1995). Dentre eles, destacam-se os métodos cromatográficos: cromatografia em camada delgada, cromatografia líquida de alta resolução e cromatografia gasosa; além dos métodos de imunoensaios (ELISA e radioimunoensaio).

A vantagem e a utilidade do método analítico é diferenciada pelas características práticas como a aplicabilidade, o custo, a eficiência, o tempo requerido, o equipamento e o nível de treinamento necessário. A confiança é determinada pelas características científicas, como precisão, exatidão, detectabilidade, sensibilidade e especificidade (SABINO, 1995).

Um método ideal – eficiente e adequado – para análise de micotoxinas deve ser simples, rápido, preciso, barato, automatizado, sensível e seletivo. Contudo, nenhum método satisfaz a todos esses requisitos. Conseqüentemente, o método adequado deve ser escolhido pelo objetivo da análise que se quer realizar o trabalho, de rotina ou em pesquisa. A cromatografia em camada delgada (CCD) é um método simples, pois requer equipamento não complicado e fácil de ser realizado e operado pelo técnico, e rápido, pois é capaz de realizar várias amostras ao mesmo tempo.

Métodos químicos têm sido desenvolvidos para detecção e determinação de micotoxinas. São geralmente rápidos, baratos, específicos, reprodutíveis e sensíveis, além de muito úteis em rotina de laboratório, no controle de qualidade e levantamento de dados.

A seqüência analítica básica para a maioria dos métodos químicos usados em análise de micotoxina é: (a) preparo das amostras; (b) extração; (c) limpeza; (d) detecção e quantificação e (e) confirmação.

#### (a) Preparo das amostras

Todos os métodos analíticos contêm etapas básicas: a primeira é a amostragem, que é a parte mais importante do procedimento analítico.

A coleta da amostra e seu preparo é o passo mais importante no procedimento de análise das micotoxinas. Ela deve ser representativa do lote a ser analisado. Se a amostra retirada para a análise não for representativa do lote, o resultado não terá significado algum.

Uma vez que as micotoxinas não se encontram uniformemente distribuídas em grãos ou rações, é sempre difícil obter uma amostra que seja representativa e que forneça resultados confiáveis quanto à contaminação por micotoxinas.

Algumas instruções básicas a serem observadas na coleta de amostras para a detecção da presença de micotoxinas devem ser seguidas, segundo orientações publicadas pela AOAC - Association of Official Analytical Chemists, citadas por MILLER (1999): a população a ser analisada deve ser definida, assim como a amostragem; e as amostras devem ser acondicionadas de modo que se evite a produção de toxinas após a coleta.

O conhecimento ou estabelecimento prévio dos riscos envolvidos na amostragem é a etapa determinante na variância ou confiabilidade dos resultados. Para a análise, a sub-amostra é removida da amostra triturada, e a aflatoxina é extraída e quantificada.

#### (b) Extração

A extração depende em grande parte das propriedades físico-químicas dos produtos contaminados com aflatoxinas (JAIMEZ et al., 2000), e baseia-se na separação das micotoxinas presentes na amostra através de sua afinidade (solubilidade) com determinados solventes. Os solventes comumente usados são clorofórmio, acetona, metanol, acetonitrila, benzeno, acetato de etila, hexano e água.

A eficiência na extração da micotoxina depende do bom contato interno entre o solvente e a amostra. Muitas micotoxinas são facilmente solúveis em vários

solventes orgânicos, mas pouco solúveis em água. A extração é freqüentemente aumentada pela água, que no caso de cereais, por exemplo, "dilata e amolece" as células, facilitando a penetração e a extração pelos solventes orgânicos (SABINO, 1995). O uso de pequenas quantidades de água em combinação com os solventes citados umedece o substrato, aumentando a penetração do solvente orgânico na amostra e aumentando a extração da aflatoxina (JAIMEZ et al., 2000). Amostras ricas em lipídios exigem normalmente a retirada dos mesmos. Isso pode ser feito antes, durante ou após a extração. Hidrocarbonetos alifáticos, como o hexano, é um solvente adequado para tal (SABINO, 1995).

São empregadas técnicas físicas para a extração da micotoxina da amostra, como a agitação em alta velocidade durante alguns minutos ou agitação mecânica vigorosa por não menos que 30 minutos. O primeiro tem a vantagem de que o tamanho das partículas da amostra é reduzido durante o processo permitindo uma melhor extração. O tamanho da partícula da amostra é importante e pode afetar na quantidade total de micotoxina extraída, bem como na reprodutibilidade dos resultados.

Após a extração, a filtração é necessária para remover a parte sólida da amostra. Entretanto, em certos tipos de amostra, o filtrado não fica límpido. Quando se utiliza na extração solvente hidrófilo, uma prática comum é adicionar terra diatomácea no filtro para ajudar a filtração, tendo a certeza de que não absorverá o analito (micotoxina). A centrifugação é uma alternativa quando há dificuldade na filtração.

### (c) Limpeza

O extrato bruto obtido contém normalmente considerável quantidade de matérias estranhas que interferem na análise da micotoxina. Conseqüentemente, deve ser limpo e muitos métodos foram desenvolvidos para esse objetivo.

A limpeza dos extratos de micotoxinas freqüentemente é necessária para remover os interferentes. As técnicas mais comuns de limpeza são extração de gordura, cromatografia de coluna, precipitação e partição líquido-líquido. A seleção do procedimento de limpeza pode depender do método analítico usado para a detecção e a determinação, do limite de detecção e/ou quantificação, da velocidade de análise e da recuperação.

A técnica de precipitação ocorre quando certos compostos químicos, na fase coloidal, são adicionados ao extrato cru e adsorvem pigmentos, proteínas e outros interferentes sobre as suas superfícies. Os complexos assim formados precipitam e podem ser separados por filtração, deixando uma solução limpa. Os agentes precipitantes utilizados são carbonato de cobre, sulfato de amônia, acetato de chumbo e gel férrico.

A limpeza por partição líquido-líquido é comumente usada em conjunto com um dos outros procedimentos de limpeza e também transfere toxinas de um solvente para outro. É normalmente realizada em funil de separação contendo dois solventes imiscíveis. Os solventes são selecionados de tal maneira que as micotoxinas sejam, preferencialmente, particionadas em um dos solventes.

Após a limpeza dos extratos é necessário concentrá-los pois as micotoxinas estão presentes no extrato em baixas concentrações em um volume grande de solvente. Isso é feito através de um banho de água, sob pressão reduzida em um evaporador rotatório. Uma outra alternativa seria utilizar um banho de água sob nitrogênio e muito cuidado deve ser tomado nesse estágio pois pode haver degradação da toxina. Deve-se evaporar o solvente à temperatura inferior a 50º C juntamente com corrente de N<sub>2</sub> (atmosfera inerte), usando concentrador de amostras ou banho-maria. O extrato agora está pronto para a detecção e a quantificação.

#### (d) Detecção e quantificação

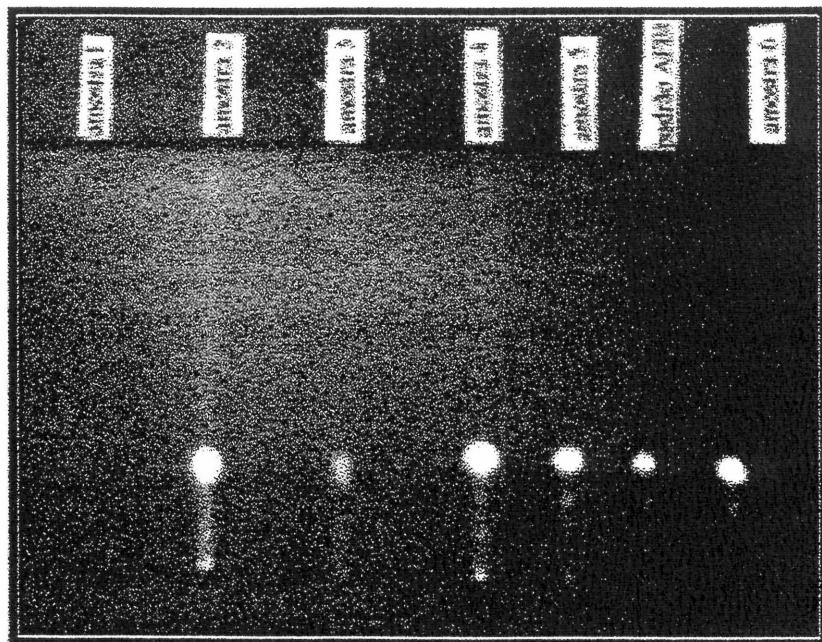
A maioria das toxinas é altamente fluorescente sob luz ultravioleta, e isso facilita sua detecção em níveis muito baixos (ppb).

A detecção inclui testes de triagem e procedimentos por cromatografia em camada delgada (CCD) unidimensional.

A maioria dos métodos analíticos utiliza a técnica de CCD na quantificação, entretanto, a cromatografia líquida de alta resolução (CLAE) vem substituindo nos últimos anos todas as técnicas, em especial a CCD. A CCD é a técnica mais comum e popular, principalmente nos países em desenvolvimento, sensível, de baixo custo e permite o processamento de várias amostras simultaneamente. A CLAE, apesar de ser mais sensível e rápida, tem um aspecto negativo que é o custo do equipamento. A quantificação na CCD (Figura 5) é feita através de comparação visual da intensidade de fluorescência da amostra com a do padrão. Um analista

com prática e experiência consegue excelentes resultados por esse método de comparação.

**FIGURA 5 - CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA, SOB LUZ ULTRAVIOLETA, COM AMOSTRAS DE RAÇÕES POSITIVAS PARA AFLATOXINA B1**



FONTE: MALLOZZI e CORRÊA, 1998.

#### (e) Confirmação

A detecção de aflatoxinas e de outras micotoxinas, baseada nas propriedades fluorescentes, não é específica desde que muitas substâncias fluorescentes podem ter o mesmo Rf (coeficiente de partição) e tempo de retenção semelhante às das toxinas. Portanto, há a necessidade de testes confirmatórios para identificar as micotoxinas.

As técnicas confirmatórias são qualitativas, mas seu principal propósito é assegurar identificação positiva das micotoxinas ou confirmar sua identidade.

O tratamento da cromatoplaca com vários reagentes é largamente usado para identificação de micotoxinas, por exemplo: ao vaporizar a cromatoplaca com  $H_2SO_4$  50%, para as amostras positivas, as manchas apresentando cores características para aflatoxinas mudam para amarelo. Se negativo, as cores não mudam de cor.

A metodologia mais utilizada para análise de micotoxinas é a cromatografia em camada delgada – CCD. Dá bons resultados, é semiquantitativa, de fácil realização e baixo custo. Contudo, os outros métodos podem ser utilizados, sendo mais precisos e rápidos, porém mais caros.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

O material constituiu-se das amostras de alimentos analisadas, dos equipamentos e dos reagentes utilizados no decorrer nas análises.

##### 3.1.1 Amostras de Alimentos

Amostras de alimentos, de diversas marcas, que fazem parte da cesta básica comercializada na região de Curitiba/PR, foram coletadas para análise no período de julho a outubro de 2001. Dentre todos os alimentos que fazem parte da cesta básica, foram escolhidos e coletados somente aqueles que foram designados como possíveis substratos sujeitos ao desenvolvimento dos fungos toxigênicos e, consequentemente, à contaminação por aflatoxinas, como arroz, café, erva-mate, farinhas de mandioca, milho e trigo, feijão, fubá e macarrão espaguete.

As amostras foram coletadas no Depósito Central da Secretaria Municipal de Abastecimento e Agricultura (SMAB) de Curitiba, o qual atende os programas Mercadão Popular e Armazém da Família, e nos supermercados da cidade.

Outras amostras, além das relacionadas, foram remetidas à Universidade Federal do Paraná para análise e complementam o presente trabalho. A descrição desses alimentos está apresentada no Quadro 1.

De um total de 148 amostras analisadas, 58 foram coletadas no Depósito Central da SMAB de Curitiba, 55 nos supermercados da cidade e 35 foram recebidas pela UFPR para análise. O número total de cada amostra coletada está relacionado nas Tabelas 5 e 6.

**QUADRO 1 – DESCRIÇÃO DOS ALIMENTOS ANALISADOS NO PRESENTE ESTUDO**

ALIMENTOS	DESCRIÇÃO	PESO (g)
Amendoim	Doce prensado	1100
	Torrado salgado Japonês	200
	Torrado salgado natural	200
Arroz	Parboilizado	1000
	Polido	
Café	Extra forte	500
	Tradicional	
Cereal	Matinal integral com mel e fibras	100
Erva-mate	Chimarrão, tipo PN-1 (70% folhas, 30% outras partes)	
	Chimarrão, tipo PN-2 (60% folhas, 40% outras partes)	500
	Chimarrão, tipo PN-3 (50% folhas, 50% outras partes)	
Farinha de mandioca	Branca	1000
Farinha de milho	Amarela, tipo biju	500
Farinha de trigo	Especial	1000
Feijão	Cores, tipo carioca	
	Preto	1000
Fubá	Mimoso	1000
Macarrão	Espaguete	500
Milho para pipoca nacional	Sabor doce	
	Sabor manteiga	100
	Sabor manteiga light	
Nozes	Sem casca tipo A	100

**TABELA 5 – NÚMERO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS COLETADOS PARA ANÁLISE DE AFLATOXINAS (SMAB E SUPERMERCADOS) NO PERÍODO DE JULHO A OUTUBRO DE 2001**

ALIMENTOS	1ª COLETA		2ª COLETA		3ª COLETA		4ª COLETA		TOTAL
	SMAB	MERC	SMAB	MERC	SMAB	MERC	SMAB	MERC	
Arroz parboilizado	2	-	2	1	2	1	2	1	11
Arroz polido	-	1	2	1	-	3	-	2	9
Café	2	1	2	1	2	1	2	1	12
Farinha de mandioca	3	-	1	2	2	1	2	-	11
Farinha de milho	1	2	1	2	1	2	2	1	12
Farinha de trigo	2	1	2	1	1	2	1	2	12
Feijão cores	-	-	1	1	-	1	1	2	6
Feijão preto	2	2	3	1	2	2	-	3	15
Fubá	2	1	1	2	1	3	1	2	13
Macarrão espaguete	2	1	1	2	2	1	2	1	12
Total/local	16	9	16	14	13	17	13	15	58 + 55
Tota/coleta	25		30		30		28		113

**TABELA 6 – NÚMERO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS RECEBIDOS PARA ANÁLISE DE AFLATOXINAS (UFPR) NO PERÍODO DE JULHO A OUTUBRO DE 2001**

ALIMENTOS	1º MÊS	2º MÊS	3º MÊS	4º MÊS	TOTAL
<b>Amendoim e derivados</b>	<b>3</b>	-	<b>2</b>	-	<b>5</b>
Arroz parboilizado	-	-	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>3</b>
<b>Arroz polido</b>		<b>1</b>	-	-	<b>1</b>
Cereal	<b>1</b>	-	-	-	<b>1</b>
<b>Erva-mate</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>8</b>	<b>17</b>
Feijão cores	<b>1</b>	-	-	-	<b>1</b>
<b>Feijão preto</b>	-	-	-	<b>2</b>	<b>2</b>
Milho para pipoca	<b>2</b>	-	<b>2</b>	-	<b>4</b>
<b>Nozes</b>	-	-	<b>1</b>	-	<b>1</b>
Total/mês	<b>10</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>35</b>

### 3.1.2 Equipamentos e Reagentes

- Agitador magnético, modelo 752 A, marca Fisatom, 230 V;
- Banho-maria, modelo Q.334.28, marca Quimis;
- Bomba de pressão e vácuo, modelo TE058, marca Tecnal, 220 V;
- Cromatofolhas de alumínio TLC 20 x 20 cm, Silicagel 60, marca Merck;
- Cuba cromatográfica em aço inox, com suporte para fase móvel em vidro, marca Prodicil;
- Estufa, marca Fabbe, 110 V;
- Estufa, modelo Q.317.B.242, marca Quimis, 220 V;
- Gabinete com lâmpada ultravioleta de 265 nm para visualização das manchas das toxinas, marca Prodicil, 110 V;
- Liquidificador e processador Magiclean Duetto, marca Arno, 110 V;
- Refrigerador série luxo, 340 L, marca Prosdócimo;
- Clarificantes: celite e carbonato básico de cobre;
- Fase móvel: tolueno, acetato de etila e ácido fórmico;
- Microseringa de 10 µL, marca Hamilton;
- Solução padrão de aflatoxinas, em tolueno:acetonitrila (1:9): B1 (5,98 µg/mL), B2 (6,068 µg/mL), G1 (6,247 µg/mL) e G2 (5,9 µg/mL);
- Solventes P.A.: acetona, clorofórmio, benzeno, acetonitrila;
- Soluções: cloreto férlico, hidróxido de sódio a 0,2 N, ácido sulfúrico a 0,03%, ácido sulfúrico a 25%;

- Papel filtro qualitativo pregueado e espátula em aço inox;
- Vídrarias em geral: borrifador, bêquer, proveta, funil de separação, funil para filtração, balão volumétrico, bastão de vidro, pipetas graduada e volumétrica, erlenmeyer.

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Amostragem

A amostragem foi feita ao acaso, sendo o peso inicial para todos os produtos analisados discriminado no Quadro 1.

Cada amostra foi finamente moída em liqüidificador, passada por peneira doméstica e armazenada em pote plástico com capacidade para 1 kg. Dessa amostra final homogeneizada foram retirados 50 g para análise.

O monitoramento foi executado por meio de quatro amostragens, em espaços de 30 dias. A coleta das amostras dos alimentos foi realizada da seguinte forma:

A1: identificação dada à 1<sup>a</sup> coleta (dia 1).

A2: identificação dada à 2<sup>a</sup> coleta (30 dias após a 1<sup>a</sup> coleta – 1 mês).

A3: identificação dada à 3<sup>a</sup> coleta (60 dias após a 1<sup>a</sup> coleta – 2 meses).

A4: identificação dada à 4<sup>a</sup> coleta (90 dias após a 1<sup>a</sup> coleta – 3 meses).

Para identificação de cada produto coletado, preencheu-se uma ficha (Anexo 1) onde constam dados como tipo de amostra, marca, lote, quantidade aproximada, tipo de acondicionamento, amostrador e data de amostragem.

### 3.2.2 Determinação de Umidade

A determinação da umidade foi realizada pelo método gravimétrico (IAL, 1985), com algumas modificações conforme descrição a seguir. Dois gramas da amostra foram pesados em cápsula de alumínio, previamente aquecida por uma hora em estufa a 105° C e resfriada em dessecador. A cápsula de alumínio com a amostra foi aquecida em estufa a 105° C por três horas, resfriada em dessecador e pesada. Estas operações de aquecimento e resfriamento foram repetidas até peso constante.

O cálculo da umidade foi feito a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Umidade a } 105^\circ \text{C (p/p, \%)} = (\text{P} \times 100)/\text{A}$$

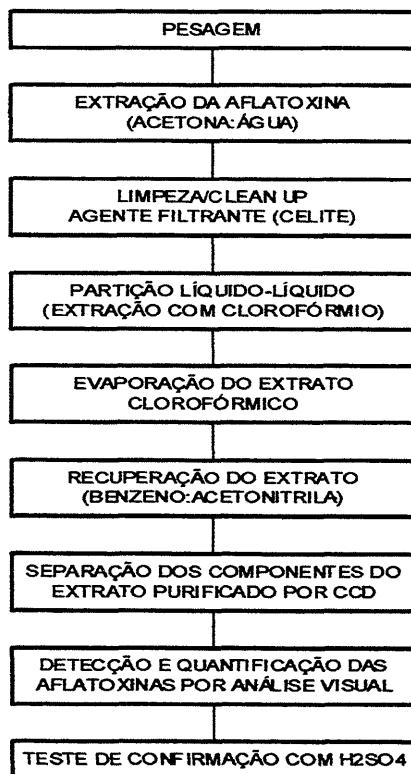
P = perda de peso (perda de umidade), em g

A = peso da amostra, em g

### 3.2.3 Determinação de Aflatoxinas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A determinação de aflatoxinas foi realizada segundo o Método de Romer para produtos em geral “Official First Action” (AOAC, 2000), de acordo com o fluxograma abaixo (Figura 6).

**FIGURA 6 – FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA ANALÍTICA UTILIZADA PARA DETERMINAÇÃO DE AFLATOXINAS (AOAC, 2000)**



Segundo BRASIL (2000), este método fundamenta-se na extração das aflatoxinas com solução acetona:água (85:15), utilização de agente filtrante (celite), partição líquido-líquido empregando solvente orgânico clorofórmio (extração), separação dos componentes do extrato purificado por cromatografia em camada delgada, detecção e quantificação das aflatoxinas por análise visual.

O extrato clorofórmico final obtido foi utilizado para identificação e quantificação das aflatoxinas por cromatografia em camada delgada. O método de quantificação em cromatoplacas utilizado foi por comparação visual das intensidades de fluorescência entre os padrões das aflatoxinas e o extrato da amostra, sendo essa comparação feita sempre na mesma cromatoplaca (SABINO et al., 1989). A confirmação foi feita por vaporização da cromatoplaca com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%.

O procedimento analítico inicia-se com a pesagem de 50 g de amostra. As toxinas são extraídas da amostra com 250 mL de acetona:água (85:15) e agitação por no mínimo 30 minutos. A solução foi filtrada através de papel de filtro qualitativo. A limpeza do extrato após filtração foi realizada através de reagentes precipitantes, cerca de 3 g de carbonato básico de cobre, 170 mL de hidróxido de sódio 0,2N e 30 mL de cloreto férrico (2 g de cloreto férrico/30 mL de água).

Uma segunda filtração foi feita com auxílio de celite. Transferiu-se 150 mL do filtrado para funil de separação e adicionou-se 150 mL de ácido sulfúrico 0,03%. As aflatoxinas foram extraídas com duas porções de 10 mL de clorofórmio. Os extratos foram homogeneizados e duas porções de 10 mL foram transferidos para dois novos bêqueres e evaporados em banho-maria. A primeira porção do extrato seco foi recuperada com 1 mL de benzeno:acetonitrila (98:2) e alíquotas de 2,0; 5,0 e duas de 10,0 µL foram aplicadas imediatamente em cromatoplaca de sílica. Solução padrão de aflatoxinas foi aplicada separadamente em quantidades de 2,0; 5,0 e 10,0 µL e 5,0 µL sobre uma das manchas de 10 µL do extrato da amostra. A cromatografia foi desenvolvida com tolueno:acetato de etila:ácido fórmico (90:45:15) em cuba cromatográfica saturada. As amostras positivas apresentaram manchas fluorescentes com mesmo deslocamento (R<sub>f</sub>) das manchas apresentadas pelo padrão sob iluminação ultravioleta.

Nos casos positivos, a segunda porção do extrato seco foi recuperada com 1 mL de benzeno:acetonitrila (98:2) e alíquotas de 2,0; 5,0 e duas de 10,0 µL foram aplicadas imediatamente em cromatoplaca de sílica. Solução padrão de aflatoxinas foi aplicada separadamente em quantidades de 2,0; 5,0 e 10,0 µL e 5,0 µL sobre uma das manchas de 10 µL do extrato da amostra. A cromatografia foi desenvolvida com o mesmo sistema de solventes citado acima em cuba cromatográfica saturada.

A intensidade das manchas fluorescentes da amostra foi comparada com a dos padrões sob iluminação ultravioleta a 265 nm.

A confirmação foi feita pelo uso de solução aquosa a 25% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Segundo Schuller et al.<sup>14</sup>, citados por SCUSSEL (1984, p. 57), depois do cromatograma desenvolvido, a placa deve ser pulverizada com solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 25%. As manchas fluorescentes azul e verde das aflatoxinas mudam para fluorescência amarela.

O cálculo para quantificação das aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2) foi feito a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Aflatoxina } (\mu\text{g/kg}) = (\text{S} \times \text{Y} \times \text{V}) / (\text{X} \times \text{W})$$

S = μL da aflatoxina padrão igual ao desconhecido

Y = concentração da aflatoxina padrão (μg/mL)

V = μL da diluição final do extrato da amostra

X = μL do extrato da amostra aplicada com intensidade de fluorescência igual a S

W = peso da amostra aplicada à placa (kg)

---

<sup>14</sup> SCHULLER, P.L. et al. **Aflatoxin B1 and histamin in wine**. Arzneim. Forsch., 17: 888, 1967.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram realizadas duas determinações nas amostras coletadas e recebidas para análise, sendo uma de teor de umidade e outra do teor de aflatoxinas (B1, B2, G1, G2).

Na Tabela 7 são mostrados os teores de umidade encontrados para os produtos analisados, cujas médias foram obtidas utilizando-se o programa estatístico MSTATC, de acordo com KOEHLER (1996). O memorial dos cálculos (listagens do arquivo MSTATC criado e dos resultados obtidos pelo programa) é apresentado nos anexos 2 a 14.

**TABELA 7 – TEOR DE UMIDADE NOS PRODUTOS ANALISADOS NO PERÍODO DE JULHO A OUTUBRO DE 2001**

PRODUTO	TIPO	n	TEOR DE UMIDADE (%)			UMIDADE PERMITIDA (max., %)*	s	CV (%)
			x	MIN.	MAX.			
Amendoim e derivados	Doce prensado	01	5,39	5,39	5,39	12 <sup>(2)</sup>	-	-
	Tor salg Japonês	02	8,64	8,41	8,88	12 <sup>(2)</sup>	0,329	3,80
	Tor salg natural	02	6,44	6,25	6,64	12 <sup>(2)</sup>	0,276	4,28
Arroz	Parboilizado	14	13,78	12,08	14,93	14 <sup>(2)</sup>	0,713	5,17
	Polido	10	14,49	12,79	15,48	14 <sup>(2)</sup>	0,709	4,89
Café	Torrado e moído	12	4,36	2,16	6,94	5 <sup>(1)</sup>	1,417	32,48
Cereal	Matinal	01	7,20	7,20	7,20	15 <sup>(1)</sup>	-	-
Ervá-mate	Chimarrão	17	9,50	7,34	11,88	10 <sup>(1)</sup>	1,470	15,47
Farinhas	Mandioca	11	11,10	8,88	13,13	14 <sup>(1)</sup>	1,411	12,72
	Milho	12	7,61	4,55	10,73	14 <sup>(1)</sup>	2,045	26,86
	Trigo	12	13,89	13,39	15,00	15 <sup>(1)</sup>	0,474	3,41
Feijão	Cores	07	15,40	12,84	20,14	15 <sup>(2)</sup>	2,749	17,85
	Preto	17	14,84	12,02	20,07	15 <sup>(2)</sup>	2,079	14,01
Fubá	Mimoso	13	13,77	11,69	15,04	15 <sup>(1)</sup>	0,871	6,33
Macarrão	Espaguete	12	12,02	10,83	13,55	13 <sup>(1)</sup>	0,864	7,19
Milho	Pipoca	04	14,01	12,56	15,36	**	1,159	8,27
Nozes	Sem casca A	01	10,72	10,72	10,72	**	-	-

Nota: n = número de amostras analisadas; x = média encontrada para o teor de umidade; s = desvio padrão; CV = coeficiente de variação.

\*Valores de umidade máxima permitida de acordo com a legislação vigente:

<sup>(1)</sup> ANVISA (2001)

<sup>(2)</sup> CLASPAR (2001)

(\*\*) não encontrado valor de referência

A umidade é um fator importante quando se fala em crescimento fúngico e desenvolvimento de aflatoxinas. A contaminação por aflatoxinas ocorre

principalmente em alimentos com alto grau de umidade, o que favorece o desenvolvimento do fungo que a produz. Isto acontece porque o agricultor, na pressa de comercializar o produto, não dá o tempo de secagem necessário para que o fungo não se desenvolva, resultando no elevado índice de contaminação encontrado no Brasil. Para o desenvolvimento dos fungos, a faixa ótima de umidade do alimento é de 14 a 22% (SILVA, 2001).

A umidade dos alimentos é muitas vezes afetada pelas condições climáticas (umidade relativa do ar entre 80 e 85% e temperatura de até 30º C), tanto na época da colheita e armazenagem quanto no decorrer das análises. A coleta das amostras e as análises foram realizadas de julho a outubro de 2001, meses considerados de seca, com baixas umidade relativa do ar e temperatura; e essas condições climáticas podem ter influenciado na umidade presente no alimento, de acordo com os resultados mostrados na Tabela 7.

Dentre os produtos analisados, o arroz polido, o feijão cores, o feijão preto e o milho para pipoca apresentaram, respectivamente, teor médio de umidade de 14,49, 15,40, 14,84 e 14,01%, todos acima de 14%. Coincidentemente, das seis amostras de feijão que apresentaram suspeita de contaminação por aflatoxinas, a qual não se confirmou após o teste de confirmação, cinco tinham umidade acima de 14%, ou seja, dentro da faixa ótima de umidade para o desenvolvimento dos fungos.

A umidade média encontrada neste trabalho para as amostras de arroz polido (14,49%) e feijão cores (15,40%) ficou acima da umidade permitida pela legislação brasileira vigente (ANVISA, 2001; CLASPAR, 2001). Para os demais produtos, a umidade média obtida está de acordo com a legislação pesquisada (Tabela 7). A observação desses limites normalmente assegura a conservação da qualidade destes alimentos durante a estocagem comercial.

A avaliação da qualidade em termos de contaminação dos produtos por aflatoxinas destaca-se como um fator de grande importância em saúde pública pelo risco que realmente apresenta o consumo dos alimentos por elas contaminados.

A distribuição das aflatoxinas em um lote de alimentos (grãos, sementes, nozes) não é homogênea. Há necessidade, portanto, de uma amostragem e preparo adequado para obter amostras verdadeiramente representativas para a análise. De acordo com a Tabela 6, observou-se que foram analisadas somente uma amostra de cereal e outra de nozes, e estas não são consideradas representativas. Isto ocorreu

porque estes alimentos não fazem parte da cesta básica, não foram coletadas no comércio de Curitiba mas foram encaminhadas à Universidade Federal do Paraná para análise.

A Tabela 8 apresenta os resultados da incidência de aflatoxinas (B1, B2, G1, G2) nos produtos analisados.

**TABELA 8 – INCIDÊNCIA DE AFLATOXINAS (B1, B2, G1, G2) NOS PRODUTOS ANALISADOS NO PERÍODO DE JULHO A OUTUBRO DE 2001**

PRODUTO	n	n'	TEOR DE AFLATOXINAS (µg/kg)				AMOSTRAS CONFIRMADAS* (µg/kg)			
			B1	B2	G1	G2	B1	B2	G1	G2
<b>Amendoim doce prensado e japonês derivados natural</b>	01	01	158,2	160,5	ND	ND	158,2	160,5	ND	ND
	02	-			ND				ND	
	02	-			ND				ND	
Arroz parboilizado polido	14	-			ND				ND	
	10	-			ND				ND	
<b>Café torrado e moído</b>	12	-			ND				ND	
<b>Cereal matinal</b>	01	-			ND				ND	
<b>Erva-mate chimarrão</b>	17	-			ND				ND	
Farinhas mandioca milho trigo	11	-			ND				ND	
	12	-			ND				ND	
	12	-			ND				ND	
<b>Feijão cores pretas</b>	07	02	ND	158,2	ND	161,0			ND	
	17	04	158,2	160,5	165,3	153,4			ND	
<b>Fubá mimoso</b>	13	-			ND				ND	
<b>Macarrão espaguete</b>	12	-			ND				ND	
<b>Milho para pipoca</b>	04	-			ND				ND	
<b>Nozes sem casca tipo A</b>	01	-			ND				ND	

Nota: n = número de amostras analisadas; n' = número de amostras suspeitas.

\*O teste de confirmação foi realizado somente com os produtos suspeitos de contaminação com aflatoxinas.

ND = não detectado (limite de detecção de 5,0 µg/kg).

Os teores de aflatoxinas foram expressos em µg/kg (ppb) e o não aparecimento de fluorescência no cromatograma foi representado pela abreviatura ND (não detectada).

O método de análise utilizado (AOAC, 2000) mostrou ser de custo não muito alto e rápido, principalmente quando usado em rotina para um elevado número de amostras. Utiliza pequenas quantidades de solventes e reagentes e o volume do extrato a ser concentrado é pequeno. Para a maioria das amostras, a limpeza resultou em um extrato final claro e límpido, levando a um cromatograma com

manchas simétricas, sem interferências. A quantificação por cromatografia em camada delgada foi feita pelo extrato obtido, sem necessidade de nova extração e limpeza.

Na extração das aflatoxinas, substâncias interferentes são extraídas conjuntamente, requerendo, assim, uma limpeza eficiente e testes de confirmação. Uma vez que a presença de aflatoxinas pode ser verificada pela fluorescência sob luz ultravioleta a 223, 265 e 360 a 365 nm (CALORI-DOMINGUES, 1993; SCUSSEL, 1984; OPS, 1983), qualquer outro composto fluorescente pode ser confundido com as toxinas. Isso leva a um resultado chamado “falso positivo”. Do total de 148 amostras analisadas durante quatro meses, de julho a outubro de 2001, seis amostras de feijão (4,05% do total das amostras analisadas) apresentaram este resultado para aflatoxina B1. Isto indica que a etapa de limpeza neste processo não foi eficiente para as respectivas amostras.

Das amostras suspeitas de contaminação com aflatoxinas (uma de amendoim, duas de feijão cores e quatro de feijão preto), somente a amostra de doce prensado de amendoim confirmou contaminação com aflatoxinas B1 e B2. Esta equivale a 20% do total de amostras de amendoim analisadas, tornando a situação alarmante ao se considerar o teor de contaminação encontrado no doce prensado de amendoim, o qual apresentou níveis para o somatório de B1 e B2 de 318,7 µg/kg (Tabela 8), sendo correspondente a 158,2 µg/kg de aflatoxina B1 e 160,5 µg/kg de aflatoxina B2, o que pode provavelmente indicar a má qualidade do amendoim utilizado no processamento. Este resultado vai de acordo com os de SABINO et al. (1982) os quais identificaram a variação dos níveis de aflatoxina B1 em pasta de amendoim e paçoca consumidas no estado de São Paulo, detectando limites de 10 a 278 µg/kg. PRADO et al. (1989) encontraram contaminação por aflatoxinas em 61,5% das amostras de amendoim cru consumidos em Belo Horizonte, em níveis de 4 a 1032 µg/kg de aflatoxina B1. Em outro trabalho, SABINO et al. (1989) mostraram a incidência de aflatoxinas em amostras de amendoim e derivados consumidos na cidade de São Paulo, no período de 1980 a 1987. Os níveis de contaminação variaram de ano para ano, onde foram observados que 68,75% das amostras apresentaram níveis superiores a 30 µg/kg, limite máximo tolerado pela legislação brasileira. FREITAS e BADOLATO (1992) encontraram teores de aflatoxinas na faixa de 4 a 195 µg/kg em 64,95% das amostras de paçocas de amendoim consumidas

na cidade de Campinas, estado de São Paulo. COELHO et al. (2001) mostraram a ocorrência de aflatoxina em 29,40% das amostras de amendoim comercializados em Maceió/AL, com concentração de 29,85 a 138,65 µg/kg para B1 e de 12,80 a 98,10 µg/kg para B2. PINTO et al. (2001) encontraram resultados semelhantes ao deste trabalho ao determinarem contaminação em apenas uma amostra de amendoim a qual apresentou teor de 592,72 µg/kg para o somatório das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2. OLIVEIRA et al. (2001) analisaram 31 amostras de amendoim e milho, de janeiro a março de 2001, coletadas nos estados da Bahia, Sergipe, Alagoas e Pernambuco, encontrando contaminação por aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em 25% das amostras, em nível de 6,05 a 127 µg/kg.

De sete amostras de feijão cores analisadas, duas apresentaram suspeita de contaminação, sendo uma por aflatoxina B1 em nível de 158,2 e outra por aflatoxinas B2 e G2 em nível de 158,2 e 161,0 µg/kg, respectivamente. O mesmo ocorreu com quatro amostras de feijão preto, de 17 analisadas, as quais apresentaram níveis de contaminação por aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 de 158,2, 160,5, 165,3 e 153,4 µg/kg, respectivamente. As suspeitas não foram confirmadas após o teste de confirmação com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%. PRADO et al. (1989) encontraram contaminação por aflatoxina B1 em 8,96% das amostras de feijão, numa faixa de 3 a 333 µg/kg. COSTA et al. (2001) encontraram níveis para aflatoxina B1 de 256,4 µg/kg em grãos de feijão, milho e amendoim comercializados no estado de Santa Catarina em 2000 e 2001.

Não foram encontradas aflatoxinas nas 24 amostras de arroz analisadas, igualmente como ocorreu nos trabalhos realizados por PRADO et al. (1989) e por COELHO et al. (2001).

As amostras de farinhas de mandioca e de trigo não apresentaram contaminação por aflatoxinas. VIEIRA et al. (1999) também não encontraram contaminação por aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 nas amostras analisadas de farinhas comerciais (farinhas de trigo especial, comum e integral, e farinhas de centeio), e COELHO et al. (2001) não identificaram aflatoxinas em amostras de farinha de mandioca.

Amostras de farinha de milho, fubá e milho para pipoca foram analisadas, não havendo a ocorrência de aflatoxinas nestas amostras. COELHO et al. (2001), ao analisarem amostras de milho para pipoca comercializadas em Maceió/AL,

encontraram contaminação em 81,20% das amostras, com concentração variando entre 12,80 a 29,85 µg/kg para G1 e de 12,80 a 64,00 µg/kg para G2. Para as amostras de fubá de milho, COELHO et al. (2001) apresentaram resultados semelhantes a este trabalho não encontrando contaminação por aflatoxinas.

A única amostra de noz foi analisada, não sendo encontrada incidência de aflatoxinas. No estudo de MORAES et al. (2001), apenas uma amostra de noz apresentou contaminação por aflatoxinas com teor abaixo de 1 µg/kg.

Na maioria dos estudos, os níveis detectados encontravam-se superiores aos limites de tolerância estipulados pelo Ministério da Saúde, de 30 µg/kg para o somatório de B1 e G1, e pelo Ministério da Agricultura, de 20 µg/kg para o somatório das quatro principais aflatoxinas (B1, B2, G1, G2) (BRASIL, 1977; FONSECA, 2001).

Vale aqui ressaltar que a portaria do MAARA/MA internalizou a Resolução n. 56/94 do MERCOSUL (ABIA, 1995), importante ação governamental tomada pois conseguiu reduzir o limite máximo permitido para aflatoxinas em alimentos, estabelecendo um nível aceitável que deverá ser obedecido por todos os países que fazem parte desse mercado.

Os demais alimentos (café, erva-mate e macarrão espaguete) não apresentaram contaminação por aflatoxinas.

Diante de todas as pesquisas realizadas e relatadas, o controle fiscal permanente dos alimentos torna-se uma necessidade.

## 5 CONCLUSÕES

Como pôde ser observado, analisou-se um número expressivo de amostras no decorrer de quatro meses, de julho a outubro de 2001.

Os resultados obtidos para umidade indicam que, se forem tomadas precauções para se evitar teores acima de 14%, a contaminação por aflatoxinas não deverá ocorrer.

Do total de 148 amostras analisadas durante quatro meses, de julho a outubro de 2001, seis amostras de feijão (4,05% do total das amostras analisadas) apresentaram resultado falso positivo para aflatoxina B1. Isto indica que a etapa de limpeza neste processo não foi eficiente para as respectivas amostras. Das amostras suspeitas de contaminação com aflatoxinas (uma de amendoim, duas de feijão cores e quatro de feijão preto), somente a amostra de doce prensado de amendoim (0,68% do total das amostras) confirmou contaminação com aflatoxinas B1 e B2.

A incidência de aflatoxinas em apenas 0,68% do total das amostras analisadas neste trabalho pode ser justificada pela época em que as análises foram realizadas, no período de seca (meses de julho a outubro), caracterizado por baixas umidade relativa e temperatura e assim impedindo o crescimento dos fungos toxigênicos. Em período de chuva (meses de janeiro a março), a umidade relativa alta e a temperatura elevada são fatores que favorecem a proliferação dos fungos produtores de aflatoxinas.

Pode-se considerar que os alimentos comercializados na cidade de Curitiba/PR e analisados no presente trabalho apresentaram grau satisfatório de qualidade quando relacionados à contaminação por aflatoxinas, o qual só poderá ser assegurado com uma vigilância constante da contaminação.

A presença de aflatoxinas nos alimentos destinados ao consumo humano supõe um risco óbvio potencial para a saúde pública e, em função disso, é necessário que os alimentos sejam controlados de maneira apropriada para que o consumidor receba de fato um alimento seguro, que satisfaça a todas aquelas exigências necessárias para que ele esteja apto para o consumo.

Nesse caminho, seria sem dúvida importante a regulamentação e o estabelecimento de limites residuais máximos concordantes em nível internacional, o

que supõe um rigoroso controle ao longo da cadeia alimentar, controle esse incluído num programa de “garantia de qualidade”, pois não é possível assegurar o grau satisfatório de sanidade dos alimentos sem uma vigilância constante de contaminantes.

Enquanto não seja possível a produção de alimentos completamente livres de micotoxinas, melhorias no armazenamento e no manuseio de grãos e outros gêneros alimentícios podem minimizar o crescimento dos fungos, e assim reduzir o risco de contaminação por micotoxinas em alimentos.

O controle dos níveis de aflatoxinas nos alimentos torna-se uma necessidade, não só para a proteção da saúde pública, como para orientar as ações governamentais. Considerando a extensão do país e as diferenças regionais, um programa nacional de análise de vigilância é um projeto que deve ser muito bem planejado para ser perfeitamente executado. Só o levantamento contínuo dos dados poderá prevenir problemas que, por não serem imediatos, podem se tornar irreparáveis.

Um programa contínuo e sistemático de controle de alimentos, com a participação dos Ministérios da Saúde e da Agricultura e das indústrias alimentícias, pode modificar essa realidade e trazer uma solução definitiva para o problema das micotoxinas.

Entende-se que o monitoramento da qualidade dos alimentos seja de grande importância, principalmente para que os órgãos governamentais possam tomar decisões que visam a promoção, a proteção e a prevenção à saúde da população.

## 6 SUGESTÕES

- ☞ Dar continuidade ao estudo iniciado com a realização deste trabalho, ampliando as amostras a serem analisadas, incluindo produtos de época como os comercializados por ocasião das festas juninas (pé de moleque e paçoca) e do Natal (nozes, amêndoas e castanhas); e os locais de coleta e, principalmente, monitorando outras micotoxinas – ocratoxina A, zearalenona, fumonisina – além das aflatoxinas;
- ☞ Criar Grupos de Pesquisa na área específica - Micotoxinas, e estabelecer contatos com outras entidades conceituadas na referida área, para que ocorra uma troca de informações a fim de qualificar em nível de excelência os pesquisadores interessados;
- ☞ Estabelecer convênios com órgãos governamentais, como Ministério da Saúde, Ministério da Agricultura, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Secretarias Municipais da Saúde, de Abastecimento e Agricultura, para que haja uma fiscalização intensiva visando a obtenção de produtos de consumo humano e animal isentos dessas toxinas nocivas à saúde.

## REFERÊNCIAS

- ABIA. Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação. **Compêndio MERCOSUL: legislação de alimentos e bebidas.** v.1. São Paulo: ABIA, 1995. p.84-86.
- AMADO, M.A. **Aflatoxinas:** um problema mundial. Disponível em: <[http://www.ipv.pt/millenium/16\\_spec6.htm](http://www.ipv.pt/millenium/16_spec6.htm)> Acesso em: 15 set. 2001.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Legislação específica de alimentos:** regulamentos técnicos por assunto. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 20 nov. 2001.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC International.** 17. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000.
- AUGUSTO, J.C.; PINTO, S.S. **Estudo de cestas básicas pesquisadas em Curitiba.** Curitiba: Prefeitura Municipal de Curitiba/Secretaria Municipal de Agricultura e Abastecimento, 2000. 24 p.
- BARRETO, S.A.J.; CYRILLO, D.C.; COZZOLINO, S.M.F. Análise nutricional e complementação alimentar de cesta básica derivada do consumo. **Rev. Saúde Pública**, v. 32, n. 1, p. 29-35, 1998.
- BOEING, C.R. **Micotoxinas:** causa de envenenamento alimentar. Disponível em: <<http://www.crq.org.br/solucao/numero18/noticia1.htm>> Acesso em: 15 out. 1999.
- BORDIN, E.L. Aspectos patológicos das micotoxicoses em aves: diagnóstico diferencial. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES, 1995, Curitiba. **Características gerais das micotoxinas e micotoxicoses.** Campinas: FACTA, 1995. p. 109-114.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Leis, decretos, etc. - Resolução n. 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.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Métodos analíticos de referência para análise de micotoxinas em produtos, subprodutos e derivados de origem vegetal. Instrução Normativa n. 9, de 24 de março de 2000. **Diário Oficial**. n. 62. 30 mar. 2000. p. 35-41.

CALORI-DOMINGUES, M.A. Avaliação em laboratório do controle químico da produção de aflatoxinas no amendoim (*Arachis hipogaea* L.) em casca. Piracicaba: ESALQ, 1993. 57 p. (Dissertação de mestrado)

CLASPAR. Empresa Paranaense de Classificação de Produtos. **Produtos padronizados.** Disponível em: <<http://www.pr.gov.br/claspar>> Acesso em: 14 nov. 2001.

COELHO, R.L.M.; LEÃO, J.S.; SILVA, M.J.G.; GALDINO, M.L.; SOUZA, M.M.P. Ocorrência de aflatoxina em amendoim, milho, farinha de mandioca e arroz comercializados em Maceió – AL. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 12., 2001, Maceió. **O analista e a gestão da qualidade.** Maceió: LACEN/AL, 2001. p. 276.

CORRÊA, B. Fungos toxigênicos em grãos e rações: biologia, ocorrência e controle. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES, 1995, Curitiba. **Características gerais das micotoxinas e micotoxicoses.** Campinas: FACTA, 1995. p. 15-20.

CORRÊA, B. Fungos toxigênicos: panorama nacional. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS E SIMPÓSIO EM ARMAZENAMENTO QUALITATIVA DE GRÃOS DO MERCOSUL, 9., 1998, Florianópolis. **Atualidades em micotoxinas e armazenagem de grãos.** Florianópolis: Ed. de Vildes M<sup>a</sup>. Scussel, 2000. p. 162-168.

COSTA, L.L.F.; OLIVEIRA, A.M.C.; SCUSSEL, V.M. Ocorrência de micotoxinas em grãos comercializados no estado de Santa Catarina em 2000 e 2001. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 12., 2001, Maceió. **O analista e a gestão da qualidade.** Maceió: LACEN/AL, 2001. p. 265.

CRUZ, L.C.H. Reflexos na indústria avícola. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES, 1995, Curitiba. **Características gerais das micotoxinas e micotoxicoses.** Campinas: FACTA, 1995. p. 1-13.

DIEESE. Departamento Intersindical de Estatística e Estudos Sócio-Econômicos. **Cesta básica nacional:** metodologia. Disponível em: <<http://www.dieese.org.br>> Acesso em: 05 ago. 2001.

DVORÁCKOVÁ, I. Mycotoxins and human diseases. In: **Aflatoxins and human health.** Boca Raton: CRC Press, 1990. p.1-13.

FONSECA, H. **Os fungos e a deterioração dos alimentos:** Boletim Técnico n.4. Disponível em: <<http://www.micotoxinas.com.br/boletim4.htm>> Acesso em: 29 out. 1999a.

FONSECA, H. **Aflatoxina e outras micotoxinas:** aflatoxinas. Disponível em: <<http://www.micotoxinas.com.br/aflatoxina.html>> Acesso em: 29 out. 1999b.

FONSECA, H. **Legislação sobre micotoxinas.** Disponível em: <<http://www.micotoxinas.com.br/legisla/html>> Acesso em: 21 nov. 2001.

FREITAS, V.P.S.; BADOLATO, M.I.C. Incidência de aflatoxinas em paçocas de amendoim consumidas na cidade de Campinas, estado de São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 52, n. 1/2, p. 83-87, jan./jun. 1992.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** São Paulo: IAL, 1985. 523p.

JAIMEZ, J.; FENTE, C.A.; VAZQUEZ, B.I.; FRANCO, C.M.; CEPEDA, A.; MAHUIZIER, G.; PROGNON, P. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. **Journal of Chromatography A**, 882, p.1-10. 2000.

KOEHLER, H.S. **Manual de uso do programa MSTAT.** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1996.

KRABBE, E.L. **Micotoxinas: como reduzir perdas.** Disponível em: <<http://www.elogica.com.br/users/rjr/micotoxinas/html>> Acesso em: 15 out. 1999.

LACEY, J. Prevention of mould growth and mycotoxin production through control of environmental factors. In: INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS AND PHYCOTOXINS, 7., 1988, Tokyo. **Mycotoxins and phycotoxins'88.** Amsterdam: Elsevier Science, 1989. p.161-169.

LAZZARI, F.A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações.** 2. ed. Curitiba: Ed. do autor, 1997. 148 p.

MALLOZZI, M. A. B.; CORRÊA, B. Fungos toxigênicos e micotoxinas. **Bol. Técn. Inst. Biol.**, São Paulo, n. 12, p. 5-26, jul. 1998.

MENEZES, F. **Segurança alimentar e nutricional: panorama atual da segurança alimentar no Brasil.** Disponível em: <<http://www.ibase.org.br/paginas/san.html>> Acesso em: 20 jun. 2001.

MICROTON. **Seriedade a respeito de micotoxinas.** Disponível em: <<http://www.temps.com.br/microton/portug/seriedade.htm>> Acesso em: 08 nov. 1999.

MILLER, B. **Aflatoxinas.** Disponível em: <<http://www.altech.com.br>> Acesso em: 15 out. 1999.

MORAES, M.H.P.; SANTOS, R.P.; LIMA, E.S. Avaliação da contaminação por aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 e ocratoxina A em frutas secas e nozes em geral, comercializadas na cidade do Rio de Janeiro. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 12., 2001, Maceió. **O analista e a gestão da qualidade.** Maceió: LACEN/AL, 2001. p. 266.

NUNEZ, B.E.C. **Cestas básicas de alimentos como instrumento de análise na economia da alimentação e nutrição:** aplicação à população de Curitiba de condição sócio-econômica baixa. São Paulo: USP/Departamento de Economia, 1986. 274 p. Tese (Doutorado).

OLIVEIRA, M.C.M.; BRAGA, C.A.L.; FERREIRA, M.E.A.; SILVA, M.L.A. Contaminação de amendoim e milho de pipoca por aflatoxinas na região nordeste. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 12., 2001, Maceió. **O analista e a gestão da qualidade.** Maceió: LACEN/AL, 2001. p. 270.

OPS. Organizacion Panamericana de la Salud. **Criterios de salud ambiental 11: micotoxinas.** Washington, D.C.: Organizacion Mundial de la salud, 1983. p. 13.

PARK, D.L.; STOLOFF, L. **Aflatoxin control how a regulatory agency managed risk from an unavoidable natural toxicant in food and feed.** Regulatory Toxicology and Pharmacology, 1989. p. 109-130.

PINTO, A.F.M.A. **Doenças de origem microbiana transmitidas pelos alimentos.** Disponível em: <[http://www.ipv.pt/millenium/ect4\\_1.htm](http://www.ipv.pt/millenium/ect4_1.htm)> Acesso em: 14 set. 2001.

PINTO, F.A.C.; SANTOS, C.D.; VALE, V.L.; PORTO, M.L.G.; BEZERRA, F.S.B.C. Monitoramento da produção de aflatoxina nos alimentos na cidade de Fortaleza, realizado no LACEN – Ceará. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 12., 2001, Maceió. **O analista e a gestão da qualidade.** Maceió: LACEN/AL, 2001. p. 253.

PRADO, G.; MATTOS, S.V.M.; PEREIRA, E.C. Níveis de aflatoxinas em alguns alimentos consumidos em Belo Horizonte no período de 1983 a 1988. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 9, n. 2, p. 138-147, jul./dez. 1989.

PMC. Prefeitura Municipal de Curitiba. **Secretaria Municipal de Abastecimento e Agricultura.** Disponível em: <[http://www.curitiba.pr.gov.br/PMC/editorias/index\\_abastecimento.htm](http://www.curitiba.pr.gov.br/PMC/editorias/index_abastecimento.htm)> Acesso em: 14 out. 2001.

**REVISTA CREA/PR. O veneno nosso de cada dia.** Curitiba: Enter Comunicação, n. 4, março/abril. 1999.

SABINO, M.; INOMATA, E.I.; LAMARDO, L.C.A. Variação dos níveis de aflatoxina B1 em pasta de amendoim e paçoca consumidas no estado de São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 42, n. 1/2, p. 39-44, jun./dez. 1982.

SABINO, M.; ZORZETTO, M.A.P.; PEDROSO, M.O.; MILANEZ, T.V. Incidência de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados consumidos na cidade de São Paulo, no período de 1980 a 1987. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 41-44. 1989.

SABINO, M. Ocorrência e métodos analíticos para determinação de micotoxinas em grãos e rações. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES**, 1995, Curitiba. **Características gerais das micotoxinas e micotoxicoses**. Campinas: FACTA, 1995. p. 35-47.

SABINO, M. Programa nacional de monitoração de micotoxinas. In: **ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS E SIMPÓSIO EM ARMAZENAMENTO QUALITATIVA DE GRÃOS DO MERCOSUL**, 9., 1998, Florianópolis. **Atualidades em micotoxinas e armazenagem de grãos**. Florianópolis: Ed. de Vildes M<sup>a</sup>. Scussel, 2000. p. 146-149.

SALLE, C.T.P.; LORENZINI, G. Produção de micotoxinas em granjas avícolas e sua detecção *in vivo*. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES**, 1995, Curitiba. **Características gerais das micotoxinas e micotoxicoses**. Campinas: FACTA, 1995. p. 49-59.

SANTOS, H.P.; SHIBATA, E.K. Ração essencial mínima: a polêmica da capital mais cara. **Anál. Conj.**, Curitiba, v. 10, n. 4, p. 8-12, 1988.

SCUSSEL, V.M. **Estudo da incidência de aflatoxinas em amendoim (*Arachis hypogaea* L.), milho (*Zea mays* L.) e produtos derivados** (Tese de mestrado). Campinas: UNICAMP, 1984. 138 p.

SCUSSEL, V.M. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Insular, 1998. 144p.

SILVA, L.C. **Fungos e micotoxinas em grãos armazenados**. Disponível em: <<http://www.unioeste.br/agais/fungos.html>> Acesso em: 20 ago. 2001.

TESTE SAÚDE. **Toxinas:** há muitos alimentos contaminados. Disponível em: <<http://www.deco.proteste.pt/comunicados/C2.htm>> Acesso em: 17 nov. 1999.

TRUCKSESS, M.; WOOD, G.E. Recent methods of analysis for aflatoxins in foods and feeds. In: **The toxicology of aflatoxins:** human health, veterinary and agricultural significance. (Edited by David L. Eaton and John D. Groopman). San Diego: Academic Press, 1994. p.409-426.

VIEIRA, A.P.; BADIALE-FURLONG, E.; OLIVEIRA, M.L.M. Ocorrência de micotoxinas e características físico-químicas em farinhas comerciais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 19, n. 2, p. 221-225, maio/ago. 1999.

VIEIRA, S.L. Micotoxinas e produção de ovos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES, 1995, Curitiba. **Características gerais das micotoxinas e micotoxicoses.** Campinas: FACTA, 1995. p. 65-80.

**ANEXOS**

**ANEXO 1 – FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA**

---

**IDENTIFICAÇÃO:** \_\_\_\_\_**AMOSTRA:** \_\_\_\_\_

Marca: \_\_\_\_\_

End.: \_\_\_\_\_

Lote: \_\_\_\_\_ Fabricação: \_\_\_\_\_ Validade: \_\_\_\_\_

Quantidade coletada: \_\_\_\_\_ kg Acondicionada em: \_\_\_\_\_

---

Local de coleta: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_

Nome do Contato: \_\_\_\_\_

Telefone para contato: \_\_\_\_\_

Nome do amostrador: \_\_\_\_\_

Data da amostragem: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

---

**IDENTIFICAÇÃO:** \_\_\_\_\_**AMOSTRA:** \_\_\_\_\_

Marca: \_\_\_\_\_

End.: \_\_\_\_\_

Lote: \_\_\_\_\_ Fabricação: \_\_\_\_\_ Validade: \_\_\_\_\_

Quantidade coletada: \_\_\_\_\_ kg Acondicionada em: \_\_\_\_\_

---

Local de coleta: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_

Nome do Contato: \_\_\_\_\_

Telefone para contato: \_\_\_\_\_

Nome do amostrador: \_\_\_\_\_

Data da amostragem: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

## ANEXO 2 - TEOR DE UMIDADE DE AMENDOIM E DERIVADOS

Data file : AMENDOIM

Title : Teor de umidade em sub-produtos de amendoim

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 5

List Of Variables

Var	Type	Name / Description
1	NUMERIC	Umidade

Data file : AMENDOIM

Title : Teor de umidade em sub-produtos de amendoim

CASE

NO.	1
-----	---

1	8.41
2	6.64
3	5.39
4	8.88
5	6.25

Data file : AMENDOIM

Title : Teor de umidade em sub-produtos de amendoim

Function : STAT

Data case no. 1 to 5

Variable	No. of Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum
----------	------------------	-------	---------	---------	-----

Umidade					
1	5	5.390	8.880	35.570	

Variable			Standard	Standard
Number	Mean	Variance	Deviation	Error

1	7.114	2.185	1.478	0.661
---	-------	-------	-------	-------

### ANEXO 3 - TEOR DE UMIDADE DE ARROZ PARBOILIZADO

Data file : ARROZPAR  
 Title : Teor de umidade em arroz parboilizado

Function : PRLIST  
 Data case no. 1 to 14

**List Of Variables**

---

Var Type	Name / Description
1 NUMERIC	Umidade

Data file : ARROZPAR  
 Title : Teor de umidade em arroz parboilizado

CASE  
 NO. 1

---

1	13.21
2	13.11
3	13.44
4	14.16
5	14.27
6	14.09
7	13.76
8	14.67
9	14.17
10	13.84
11	14.93
12	13.55
13	12.08
14	13.60

---

Data file : ARROZPAR  
 Title : Teor de umidade em arroz parboilizado

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 14

---

Variable	No. of Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum
----------	------------------	-------	---------	---------	-----

---

Umidade				
1	14	12.080	14.930	192.880

---



---

Variable	Mean	Variance	Standard Deviation	Standard Error
Number				

---

1	13.777	0.509	0.713	0.191
---	--------	-------	-------	-------

---

## ANEXO 4 - TEOR DE UMIDADE DE ARROZ POLIDO

Data file : ARROZPOL  
 Title : Teor de umidade em arroz polido

Function : PRLIST  
 Data case no. 1 to 10

### List Of Variables

---

Var Type	Name / Description
1 NUMERIC	Umidade

Data file : ARROZPOL  
 Title : Teor de umidade em arroz polido

CASE  
 NO. 1

---

1	14.47
2	15.06
3	15.48
4	14.48
5	14.26
6	14.37
7	14.62
8	14.37
9	14.97
10	12.79

---

Data file : ARROZPOL  
 Title : Teor de umidade em arroz polido

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 10

Variable	No. of Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum
----------	------------------	-------	---------	---------	-----

---

Umidade					
1	10	12.790	15.480	144.870	

---

Variable			Standard	Standard
Number	Mean	Variance	Deviation	Error

---

1	14.487	0.503	0.709	0.224
---	--------	-------	-------	-------

---

## ANEXO 5 - TEOR DE UMIDADE DE CAFÉ

Data file : CAFE  
 Title : Teor de umidade em cafe

Function : PRLIST  
 Data case no. 1 to 12

### List Of Variables

---

Var Type	Name / Description
1 NUMERIC	Umidade

Data file : CAFE  
 Title : Teor de umidade em cafe

CASE  
 NO. 1

---

1	3.92
2	3.27
3	4.39
4	3.75
5	4.25
6	5.76
7	6.94
8	4.69
9	4.52
10	2.52
11	2.16
12	6.19

---

Data file : CAFE  
 Title : Teor de umidade em cafe

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 12

Variable	No. of				
Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum	

---

Umidade				
1	12	2.160	6.940	52.360

---

Variable				
Number	Mean	Variance	Standard Deviation	Standard Error

---

1	4.363	2.008	1.417	0.409
---	-------	-------	-------	-------

---

## ANEXO 6 - TEOR DE UMIDADE DE ERVA-MATE

Data file : ERVAMATE  
 Title : Teor de umidade em erva mate

Function : PRLIST  
 Data case no. 1 to 17

List Of Variables

---

Var	Type	Name / Description
1	NUMERIC	Umidade

Data file : ERVAMATE  
 Title : Teor de umidade em erva mate

CASE  
 NO. 1

---

1	8.20
2	11.30
3	10.29
4	11.00
5	11.86
6	10.42
7	11.88
8	9.50
9	8.41
10	9.85
11	9.20
12	7.84
13	8.23
14	8.35
15	7.34
16	7.87
17	10.03

---

Data file : ERVAMATE  
 Title : Teor de umidade em erva mate

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 17

Variable	No. of Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum
Umidade	1	17	7.340	11.880	161.570

---

Variable Number	Mean	Variance	Standard Deviation	Standard Error
--------------------	------	----------	--------------------	----------------

---

1	9.504	2.161	1.470	0.357
---	-------	-------	-------	-------

---

## ANEXO 7 - TEOR DE UMIDADE DE FARINHA DE MANDIOCA

Data file : FARMANDI  
 Title : Teor de umidade em farinha de mandioca

Function : PR LIST  
 Data case no. 1 to 11

List Of Variables

---

Var	Type	Name / Description
1	NUMERIC	Umidade

Data file : FARMANDI  
 Title : Teor de umidade em farinha de mandioca

CASE  
 NO. 1

---

1	12.81
2	11.27
3	13.13
4	10.92
5	8.88
6	12.56
7	10.90
8	11.95
9	9.31
10	10.10
11	10.22

---

Data file : FARMANDI  
 Title : Teor de umidade em farinha de mandioca

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 11

Variable	No. of Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum
----------	------------------	-------	---------	---------	-----

---

Umidade					
1	11	8.880	13.130	122.050	

---

Variable			Standard	Standard
Number	Mean	Variance	Deviation	Error

---

1	11.095	1.991	1.411	0.425
---	--------	-------	-------	-------

---

## ANEXO 8 - TEOR DE UMIDADE DE FARINHA DE MILHO

Data file : FARMILHO  
 Title : Teor de umidade em farinha de milho

Function : PRLIST  
 Data case no. 1 to 12

### List Of Variables

---

Var Type	Name / Description
1 NUMERIC	Umidade

Data file : FARMILHO  
 Title : Teor de umidade em farinha de milho

CASE  
 NO. 1

---

1	4.55
2	8.76
3	8.42
4	5.04
5	6.72
6	10.73
7	6.98
8	8.29
9	10.24
10	8.14
11	4.74
12	8.73

---

Data file : FARMILHO  
 Title : Teor de umidade em farinha de milho

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 12

Variable	No. of Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum
----------	------------------	-------	---------	---------	-----

---

Umidade					
1	12	4.550	10.730	91.340	

---

Variable			Standard	Standard
Number	Mean	Variance	Deviation	Error

---

1	7.612	4.184	2.045	0.590
---	-------	-------	-------	-------

---

## ANEXO 9 - TEOR DE UMIDADE DE FARINHA DE TRIGO

Data file : FARTRIGO  
 Title : Teor de umidade em farinha de trigo

Function : PRLIST  
 Data case no. 1 to 12

List Of Variables

---

Var	Type	Name / Description
1	NUMERIC	Umidade

Data file : FARTRIGO  
 Title : Teor de umidade em farinha de trigo

CASE  
 NO. 1

---

1	14.54
2	15.00
3	13.63
4	13.70
5	13.88
6	13.47
7	14.11
8	14.06
9	13.61
10	13.64
11	13.62
12	13.39

---

Data file : FARTRIGO  
 Title : Teor de umidade em farinha de trigo

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 12

Variable	No. of				
Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum	

---

Umidade				
1	12	13.390	15.000	166.650

---

Variable			Standard	Standard
Number	Mean	Variance	Deviation	Error

---

1	13.888	0.225	0.474	0.137
---	--------	-------	-------	-------

---

## ANEXO 10 - TEOR DE UMIDADE DE FEIJÃO COR

Data file : FEICOR  
 Title : Teor de umidade em feijao cores

Function : PRLIST  
 Data case no. 1 to 7

### List Of Variables

---

Var Type	Name / Description
1 NUMERIC	Umidade

Data file : FEICOR  
 Title : Teor de umidade em feijao cores

CASE  
 NO. 1

---

1	15.18
2	18.04
3	12.84
4	12.86
5	14.99
6	20.14
7	13.76

---

Data file : FEICOR  
 Title : Teor de umidade em feijao cores

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 7

Variable	No. of				
Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum	

Umidade					
1	7	12.840	20.140	107.810	

---

Variable			Standard	Standard
Number	Mean	Variance	Deviation	Error

1	15.401	7.558	2.749	1.039
---	--------	-------	-------	-------

---

## ANEXO 11 - TEOR DE UMIDADE DE FEIJÃO PRETO

Data file : FEIPRETO  
 Title : Teor de umidade em feijao preto

Function : PRLIST  
 Data case no. 1 to 17

### List Of Variables

---

Var Type	Name / Description
1 NUMERIC	Umidade

Data file : FEIPRETO  
 Title : Teor de umidade em feijao preto

CASE  
 NO. 1

---

1	12.66
2	12.02
3	16.51
4	14.97
5	15.94
6	15.36
7	15.47
8	12.65
9	16.27
10	14.12
11	17.40
12	14.96
13	14.06
14	12.16
15	20.07
16	14.35
17	13.28

---

Data file : FEIPRETO  
 Title : Teor de umidade em feijao preto

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 17

Variable	No. of Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum
----------	------------------	-------	---------	---------	-----

---

Umidade					
	1	17	12.020	20.070	252.250

---

Variable			Standard Deviation	Standard Error
Number	Mean	Variance		

---

1	14.838	4.321	2.079	0.504
---	--------	-------	-------	-------

---

## ANEXO 12 - TEOR DE UMIDADE DE FUBÁ

Data file : FUBA  
 Title : Teor de umidade em fuba

Function : PR LIST  
 Data case no. 1 to 13

List Of Variables

Var Type Name / Description  
 1 NUMERIC Umidade

Data file : FUBA  
 Title : Teor de umidade em fuba

CASE  
 NO. 1

1	13.40
2	13.20
3	14.30
4	13.80
5	14.48
6	14.51
7	15.04
8	11.69
9	13.46
10	13.66
11	12.97
12	14.54
13	13.92

Data file : FUBA  
 Title : Teor de umidade em fuba

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 13

Variable	No. of Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum
----------	------------------	-------	---------	---------	-----

Umidade					
1	13	11.690	15.040	178.970	

Variable	Mean	Variance	Standard Deviation	Standard Error
Number				

1	13.767	0.758	0.871	0.241
---	--------	-------	-------	-------

## ANEXO 13 - TEOR DE UMIDADE DE MACARRÃO ESPAGUETE

Data file : ESPAGUET

Title : Teor de umidade em macarrão espaguete

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 12

List Of Variables

---

Var Type	Name / Description
1 NUMERIC	Umidade

Data file : ESPAGUET

Title : Teor de umidade em macarrão espaguete

CASE

NO.	1
-----	---

---

1	10.83
2	11.12
3	11.84
4	11.74
5	13.55
6	11.78
7	13.23
8	13.04
9	11.13
10	11.78
11	12.32
12	11.83

Data file : ESPAGUET

Title : Teor de umidade em macarrão espaguete

Function : STAT

Data case no. 1 to 12

---

Variable	No. of Number	Cases
----------	------------------	-------

Minimum	Maximum	Sum
---------	---------	-----

Umidade

1	12	10.830	13.550	144.190
---	----	--------	--------	---------

---

Variable Number	Mean	Variance
--------------------	------	----------

Standard Deviation	Standard Error
--------------------	----------------

1	12.016	0.747	0.864	0.249
---	--------	-------	-------	-------

## ANEXO 14 - TEOR DE UMIDADE DE MILHO PARA PIPOCA

Data file : PIPOCA  
 Title : Teor de umidade em milho para pipoca

Function : PR LIST  
 Data case no. 1 to 4

### List Of Variables

---

Var Type	Name / Description
1 NUMERIC	Umidade

Data file : PIPOCA  
 Title : Teor de umidade em milho para pipoca

CASE  
 NO. 1

---

1	12.56
2	13.83
3	14.28
4	15.36

---

Data file : PIPOCA  
 Title : Teor de umidade em milho para pipoca

Function : STAT  
 Data case no. 1 to 4

---

Variable	No. of				
Number	Cases	Minimum	Maximum	Sum	

---

Umidade				
1	4	12.560	15.360	56.030

---



---

Variable			Standard	Standard
Number	Mean	Variance	Deviation	Error

---

1	14.007	1.343	1.159	0.580
---	--------	-------	-------	-------

---