

INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO NO TEOR DE AFLATOXINA B1 EM ARROZ E SUAS FRAÇÕES

Luciana Prietto¹; Paola Moraes²; Helen Hackbart³; Volnei Meneghetti⁴; Carlos Alberto Fagundes⁵; Eliana Badiale-Furlong⁶

Palavras-chave: Fungos, Micotoxinas, Processamento.

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas (AF) são metabolitos secundários (micotoxinas) produzidos por fungos, podendo resultar em efeitos prejudiciais a saúde de humanos e animais, quando ingeridos, cujo órgão alvo é o fígado e outros secundariamente (DORS, BIERHALS e BADIALE-FURLONG, 2011). As AF são produzidas principalmente pelos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, que contaminam produtos agrícolas, tais como o arroz (SIRISOMBOON, PUTTHANG e SIRISOMBOON, 2013). O termo aflatoxinas engloba um conjunto de micotoxinas, cuja toxicidade decresce na ordem AFB₁>AFB₂>AFG₁>AFG₂, (RUPOLLO et al., 2006). A Agência Internacional de Investigação em Cancer (IARC,1993) classificou a AFB₁ como cancerígeno para os animais e os seres humanos resultando que em muitos países os limites aceitáveis dela em alimentos e matérias-primas estão estabelecidos. A primeira legislação brasileira para micotoxinas foi estabelecida apenas para as aflatoxinas, pela resolução n° 34 de 1976. Esta legislação foi ampliada em 2011, (RDC n°7, 2011), estabelecendo limites para outras micotoxinas e diminuindo o das aflatoxinas (ANVISA, 2011).

Considerando que a cadeia produtiva do arroz fornece condições para o desenvolvimento de vários fungos, e que este é um alimento consumido diariamente pela população, avaliar as condições que propiciam a contaminação por AFs é uma estratégia fundamental para a segurança alimentar. Além disso, o Brasil ocupa o décimo lugar na produção desse cereal em uma escala mundial, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor nacional de arroz irrigado (EMBRAPA, 2010), uma condição que propicia a contaminação pelo fungo *Aspergillus flavus* e que ao sobreviver as condições inadequadas de secagem e armazenamento pode produzir as AF. Esses compostos não apresentam sinais visíveis de contaminação e podem permanecer no alimento mesmo após o fungo ter se tornado inviável (HACKBART et al., 2012).

Neste trabalho foi avaliada a influência do tempo de armazenamento nos níveis de AFB₁ em arroz e nas frações de beneficiamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

O arroz foi cultivado, colhido, armazenado e beneficiado no Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), localizado no município de Cachoeirinha/RS. Após a colheita as amostras foram submetidas a secagem intermitente, a fim de reduzir a umidade de 24 para 12%. Os grãos foram transferidos para um silo de concreto e armazenados por um período de 8 meses. As coletas de amostras foram realizadas a cada dois meses e beneficiadas em moinho piloto separando as frações de endosperma polido, farelo e casca. No Laboratório

¹ Engenheira de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Engenheiro Alfredo Huck, Caixa Postal 474, Cep 96200970, RS-Brasil, lucianaprietto@gmail.com.

² Iniciante Científico, Universidade Federal do Rio Grande.

³ M.^o em Química Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande.

⁴ Engenheiro Agrícola, Instituto Rio Grandense do Arroz – IRGA.

⁵ M.^o em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Instituto Rio Grandense do Arroz – IRGA.

⁶ Dr.^a em Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande – FURG.

de Micotoxinas e Ciência de Alimentos, da FURG as amostras foram moídas e peneiradas para obtenção de granulometria 32 mesh.

Extração de aflatoxinas

Para extração das aflatoxinas foi utilizado o procedimento tipo QuEChERS (do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*). Foram pesados 10,000g de amostra em um erlenmeyer aos quais foram adicionados 20 mL de água destilada e 20 mL de acetonitrila acidificada com 0,2 mL de ácido acético glacial. A mistura foi agitada em mesa horizontal por 5min a 200rpm, e posteriormente adicionado 1,5 g de sulfato de magnésio e 0,85 g de acetato de sódio e novamente agitado por 5 min. O extrato foi centrifugado por 10min a 2280 G e coletado 6 mL do sobrenadante ao qual foram adicionados 0,3 g de sulfato de magnésio e 0,2 g de celite. Da fração líquida foram coletados 3 mL e evaporado o solvente em banho-maria a 60°C.

Quantificação das aflatoxinas

Para quantificação foi utilizado um Cromatografo Líquido de Alta Eficiência acoplado a um detector de fluorescência (HPLC-FL). O resíduo da extração foi ressuspenso em 1 mL de fase móvel, centrifugado a 2280 G por 10 min e injetado no equipamento. Os solventes empregados na fase móvel foram: água ultrapura acidificada, acetonitrila e metanol na proporção 60: 8: 32 (v/v/v). O controle do equipamento e aquisição dos dados foi feito pelo software LC Solution.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método desenvolvido no HPLC-FL apresenta limite de detecção de 0,75 ng/mL e limite de quantificação de 2,0 ng/mL para AFB1. O teor de AFB1 nas amostras de endosperma polido, farelo e casca foi determinado e os resultados podem ser visualizados na Figura 1.

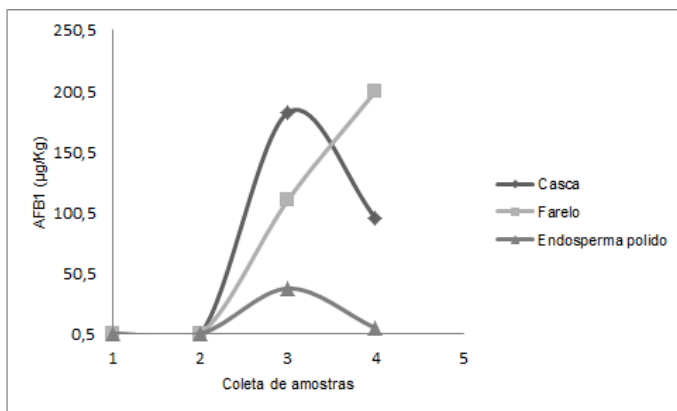


Figura 1. Teor de aflatoxinas B1 em amostras de arroz e suas frações, coletadas a cada 2 meses de armazenamento

Ficou demonstrada a distribuição da contaminação das frações de beneficiamento do arroz com AFB1, em decorrência do tempo de armazenamento. A presença de AFB1 foi verificada em todas as frações do arroz a partir do sexto mês de armazenamento (3ª coleta). Além disso, os teores encontrados nas amostras excederam os níveis estabelecidos pela RDC nº 7 de 2011. Na quarta coleta (oitavo mês de armazenamento) houve aumento

na contaminação do farelo e diminuição na casca, possivelmente decorrente do aumento da ruptura das cascas pelo atrito e pelo efeito da atividade respiratória e a maior disponibilidade de nutrientes na parte interna do grão, favorecendo o desenvolvimento fúngico.

Toteja et al (2006) avaliando arroz parboilizado na Índia, encontraram valores para AFB1 variando de 60 a 600 µg/Kg, sugerindo que a principal causa dessa contaminação era resultado de armazenamento inadequado em zona rural e urbana. Embora neste trabalho tenha sido utilizado a secagem intermitente, uma técnica bastante empregada por possibilitar um abaixamento de umidade rápido quando comparado a outros tipos de secagens, não inviabiliza o aumento de umidade e temperatura durante o armazenamento. Aspecto demonstrado pela tendência de aumento dos níveis de AFB1 ao longo do armazenamento que pode ter propiciado a atividade toxigênica da micota.

Fica demonstrado que as condições de secagem e armazenamento do arroz começam a se tornar críticas para a produção de micotoxinas por espécies toxigenicas após seis meses de armazenamento.

CONCLUSÃO

As amostras de endosperma polido, farelo e casca apresentaram contaminação com AFB1 acima dos limites estabelecidos pela legislação vigente. O tempo de armazenamento influenciou no desenvolvimento de AFB1 no arroz, e afetou a sua distribuição entre as frações do grão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANVISA (1976) - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – CNNPA nº 34, de 1976. **Diário Oficial da União** - Seção 1. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>> Acesso em: 15 abr 2013.
- ANVISA (2011) – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC Nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da União** – Seção 1, n. 37, ISSN 1677-7042. Disponível em: <<ftp://ftp.saude.sp.gov.br>> Acesso em: 17 mar 2013.
- DORS, G. C.; BIERHALS, V. S.; BADIALE-FURLONG, E. Parboiled rice: chemical composition and the occurrence of mycotoxins. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 31, n. 1, p. 172-177, Jan/Mar 2011.
- EMBRAPA, (2010) – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Pragas e doenças do arroz**. Disponível em: <http://www.cnpaf.embrapa.br/eventosenoticias/anteriores/anteriores2009/0911_03.htm>. Acesso em: 10 abr 2012.
- HACKBART, H.C.S.; PRIETTO, L.; PRIMEL, E.G.; GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E. Simultaneous extraction and detection of ochratoxin A and Citrinin in rice. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.23, n.1, p. 103 – 109, 2012.
- IARC, (1993) - International Agency for Research on Cancer. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines, and mycotoxins, Vol. 56, p. 245.
- RUPOLLO, G.; GUTKOSKI, L. C.; MARTINS, I. R.; ELIAS, M. C. Efeito da umidade e do período de armazenamento hermético na contaminação natural por fungos e a produção de micotoxinas em grãos de aveia. **Ciência agrotecnologia**. Lavras, v. 30, n. 1, p. 118-125, Jan/Fev 2006.
- SIRISOMBOON, C.D.; PUTTHANG, R.; SIRISOMBOON, P. Application of near infrared spectroscopy to detect aflatoxigenic fungal contamination in rice. **Food Control**, v. 33, n.1, p. 207- 214, Set. 2013.
- TOTEJA, G. S.; MUKHERJEE, A.; DIWAKAR, S.; SINGH, P.; SAXENA, B. N.; SINHA, K. K., SINHA, A.K.; KUMAR, N.; NAGARAJA, K.V.; BAI, G.; PRASAD, C.A.K.; VANCHINATHAN, S.; ROY, R; SARKAR S. Aflatoxin B1 contamination of parboiled rice samples collected from

different states of India: A multi-centre study. **Food Additives & Contaminants**, v. 23, n. 4, p. 411–414, Abr 2006.