

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE EQUIPAMENTO PARA DETERMINAÇÃO DE AFLATOXINA EM SEMENTES DE MILHO

NÍEDJA MARIZZE CEZAR¹ ALVES; FRANCISCO DE ASSIS CARDOSO ALMEIDA²; JOSIVANDA PALMEIRA GOMES²

¹ Professora Doutora da Universidade Federal de Mato Grosso, Fone: (66)3410-4063, niedjamarizze@yahoo.com.br

² Professor da Universidade Federal de Campina Grande, Fone: (83)2101-1042, josivanda@gmail.com

Apresentado no
XLIII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA 2014
27 a 31 de julho de 2014- Campo Grande- MS, Brasil

RESUMO: Os produtos armazenados, grãos e sementes, podem ser o alvo preferido de alguns fungos, por serem substratos apropriados ao desenvolvimento de algumas espécies. A associação de fungos às sementes afeta a qualidade fisiológica das mesmas e, permite o desenvolvimento destes com liberação de micotoxinas, como a aflatoxina, prejudicial aos animais e ao homem. Objetiva-se com o trabalho desenvolver um equipamento para a avaliação da presença de aflatoxina no milho com fluorescência verde-amarela brilhante quando submetidos à iluminação de uma lâmpada ultravioleta de onda longa e associar o número de grãos de fluorescência verde-amarelada brilhante com a contaminação de aflatoxina e, estabelecer limites de sua presença. Foi relacionado e/ou correlacionado à presença de aflatoxina observada em luz ultravioleta na massa de grãos, validando os limites com o emprego da cromatografia em camada delgada. Conclui-se que o protótipo desenvolvido para identificação da aflatoxina atende os objetivos propostos; foi detectado, contaminação por aflatoxina pelo método CFLAE com valores entre 10,0 e 30,0 ppb, com 15% das amostras com teores dessa toxina acima do permitido pela legislação brasileira.

PALAVRAS-CHAVE: *Zea mays*, desenvolvimento de máquina, toxina

DEVELOPMENT AND EVALUATION OF EQUIPMENT FOR DETERMINATION OF AFLATOXIN IN CORN SEED

ABSTRACT: The stored products, grains and seeds, may be preferred in some target fungi to be suitable for the development of some species substrate. The association of fungi affect the physiological seed quality thereof and enables development with the release of these mycotoxins, such as aflatoxin, harmful to animals and humans. Objective is to work to develop equipment for the evaluation of the presence of aflatoxin in maize with yellow-green fluorescence when exposed to bright illumination of a long wave ultraviolet lamp and associate the number of grains of yellowish-green fluorescence with bright contamination aflatoxin and set limits of its presence. Was related to and / or correlated to the presence of aflatoxin observed in ultraviolet light in grains, validating the limits with the use of thin layer chromatography. We conclude that the prototype developed for the identification of aflatoxin meets the proposed objectives; aflatoxin contamination by CFLAE method with values between 10.0 and 30.0 ppb, with 15% of samples with levels above this toxin was detected permitted by Brazilian law.

KEYWORDS: *Zea mays*, engine development, toxin

INTRODUÇÃO: O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura bastante difundida no nosso país. A contaminação do milho por fungos pode ocorrer quando da formação das sementes ou quando da

realização das tradicionais práticas de colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento e por ser colhido nas mais adversas condições climáticas aumentando, assim, a probabilidade de desenvolvimento de bactérias e fungos e de produção de aflatoxina. Este trabalho será realizado com o objetivo de desenvolver e avaliar um equipamento para detecção da presença de fungo toxicogênico em semente de milho.

MATERIAL E MÉTODOS: Os experimentos foram realizados no Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola (UAEAg). A matéria-prima utilizada na pesquisa foi constituída das amostras de grão de milho integral. Na sua preparação foram utilizados 4,5 kg de grãos de milho, sendo cada amostra de 200 g. Para a determinação de aflatoxinas foi utilizado o método CFLAE (contagem por fluorescência com luminosidade amarela-esverdeado) onde foi usado o equipamento desenvolvido pela equipe de estudo (Figura 1) e análise por Cromatografia em Camada Delgada (Soares & Rodrigues-Amaya (1989)).

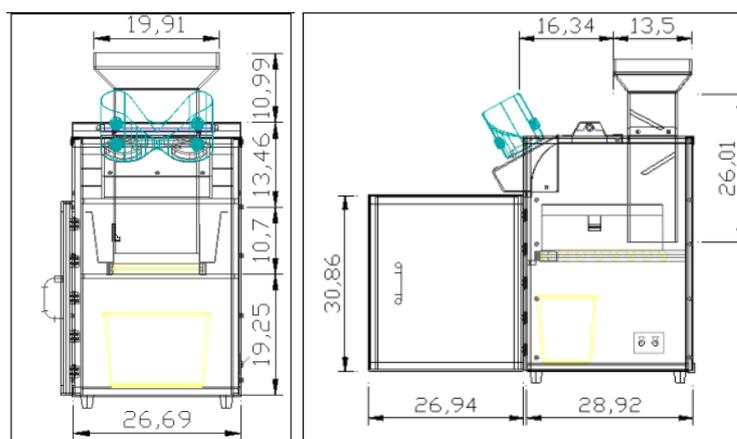


Figura 1. Dimensões da máquina para determinaer aflatoxina

O método CFLAE consistiu em contar quantos grãos da amostra apresentam coloração amarelo-esverdeada. Somente devem ser contados os grãos de coloração amarelo-esverdeada; as outras cores possíveis de aparecer como a branca, verde, amarela forte, rosa, vermelha, azul, roxa e violeta, entre outras, são consideradas negativas indicando ausência da micotoxina (Caçado & Freitas, 2002). Para relatar o resultado da análise de aflatoxinas em ppb (parte por bilhões) conforme a unidade da CCD, deve-se seguir o resultado calculado pela equação 1 e Tabela 1.

$$\text{CFLAE/kg} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de grãos positivos}}{250\text{g}} \quad (1)$$

Tabela 1. Resultado da análise de aflatoxina em ppb, segundo metodologia CFLAE

Nº de sementes encontradas	Teor de aflatoxina
1	5,0 ppb
2	10,0 ppb
4	20,0 ppb
5	30,0 ppb
7	50,0 ppb
9	80,0 ppb

Os resultados foram analisados através do Programa Computacional Assistat (Silva & Azevedo, 2006), versão 7.4. beta. utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Quatro quilos e meio (4,5 kg) de grãos de milho, divididos em 20 amostras de 200 g cada uma, foram analisados pelos métodos CFLAE, Os resultados se encontram na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios obtidos nas análises de CFLAE para os grãos de milho

Amostra	Método CFLAE		
	CFAE (%) Positivo	CFAE(%) Negativo	Valor médio em ppb (mg/kg)
1	4,0	96,0	20,0
2	4,0	96,0	20,0
3	2,0	98,0	10,0
4	2,0	98,0	10,0
5	4,0	98,0	20,0
6	4,0	96,0	20,0
7	2,0	98,0	10,0
8	2,0	98,0	10,0
9	4,0	96,0	20,0
10	5,0	95,0	30,0
11	5,0	95,0	30,0
12	0,0	100,0	20,0
13	2,0	98,0	10,0
14	4,0	96,0	20,0
15	4,0	96,0	20,0
16	1,0	99,0	10,0
17	1,0	99,0	10,0
18	5,0	95,0	30,0
19	4,0	96,0	20,0
20	4,0	96,0	20,0

Nas análises efetuadas pelo método CFLAE, o lote de milho obteve 100% das 20 amostras analisadas com contaminação positiva em aflatoxinas, sendo que 15% obtiveram valores superiores a 20 ppb superior, portanto, ao permitido pela legislação, para sua comercialização (20 ppb). É necessário ressaltar que os valores encontrados neste método são para as aflatoxinas B1 e G1, não detectando valores positivos para B2 e G2.

Observa-se, através dos dados dispostos na Tabela 3, que as análises efetuadas via CFLAE foram mais sensíveis que a CCD, para os grãos de milho estudados; enquanto a amostra analisada pelo método CFLAE apresentou uma média de 17,33 ppb de contaminação.

Tabela 3. Valores médios obtidos nas análises de CFLAE e de CCD

Amostra	Métodos utilizados (ppb)	
	CFLAE	CCD
Milho	17,33	1,64

O método CCD obteve valor de 1,64 ppb, resultado que se deve, provavelmente, ao rastreamento que é feito no método CFLAE, mais completo, devido o tamanho da amostra ser maior que o da utilizada no método CCD.

CONCLUSÕES: Foi detectada, para os grãos de milho, contaminação por aflatoxina pelo método CFLAE com valores entre 10,0 e 30,0 ppb, com 15% das amostras com teores dessa toxina acima do permitido pela legislação brasileira; para o método CCD, foi constatado 1,64 ppb de contaminação para a aflatoxina do tipo B1.

REFERÊNCIAS: Barabolak, R.; Colburn, C. R. ; Just, D. E.; Kurtz, F. A.; Schleichert, E. A. Apparatus for rapid inspection of corn for aflatoxin contamination. *Cereal Chemistry*, v.55, n.6, p.1065-1067, 1978.

Cançado, R. A.; Freitas, R. J. S. de. Metodologia simplificada para detecção de aflatoxinas em milho. *Visão Acadêmica*, v.3, n.2, p. 95-102, 2002.

Silva, F. A. S. e; Azevedo, C. A. V de. A new version of the assistat-statistical assistance software. In: World Congress on Computers in Agriculture, 4, Orlando. Anais... Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.

Soares, L. M. V.; Rodrigues-Amaya, D. B.. Survey of aflatoxin, ochratoxin A, *zearalenone* and sterigmatocystin in some Brazilian food by using multitoxin thin-layer chromatographic method. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, v.72, p.22-26, 1989.