

CONTAMINAÇÃO POR AFLATOXINAS EM MILHO UTILIZADO EM RAÇÕES PARA SUÍNOS¹

Laurimar Fiorentin², Alfredo Ribeiro de Freitas e Elias Tadeu Fialho³

RESUMO - Foi analisado o teor de matéria seca e de aflatoxinas de um total de 420 amostras de milho (*Zea mays* L.) utilizado na alimentação de suínos. Estas amostras foram coletadas mensalmente de granjas produtoras de suínos para abate, de fábricas de ração e cooperativas agrícolas do estado de Santa Catarina, no período compreendido entre abril de 1985 e março de 1986. No período de janeiro a agosto verificou-se que o milho apresentou menor teor de matéria seca e maior contaminação por aflatoxinas, e de setembro a dezembro, maior teor de matéria seca e menor contaminação por aflatoxinas. Também concluiu-se que o milho originário de granjas de suínos continha menor teor de matéria e maior índice de contaminação por aflatoxinas, do que o milho proveniente das outras origens.

Termos para indexação: matéria seca, fungos, granjas terminadoras, fábricas de ração, cooperativas agrícolas.

AFLATOXIN CONTAMINATION IN CORN UTILIZED FOR SWINE FEEDING

ABSTRACT - Aflatoxin content and free water level of 420 samples of corn utilized in swine feeding were analysed. Corn samples were collected monthly from swine farms, feed factories and agricultural cooperatives, in Santa Catarina state, Brazil, during April 1985 to March 1986. The period from January to August presented the highest free water and aflatoxin contamination levels, while the period from September to December presented the lowest levels. It was also observed that corn from swine farms presented higher contamination and free water levels than corn samples collected from feed factories and agricultural cooperatives.

Index terms: dry matter, fungi, free water level, moulds, swine farms, feed factories, agricultural cooperatives.

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas são metabólitos fúngicos que apresentam alto grau de toxidez para os animais domésticos, possuindo, ainda, ação mutagênica e carcinogênica (Clifford & Rees 1966, Clarke et al. 1981 e Ribeiro Neto 1980). No Brasil, estas toxinas têm sido freqüentemente identificadas como contaminantes de alimentos animais (Rees 1978, Sabino 1980, Fiorentin 1985, Fiorentin et al. 1985, Fiorentin et al. 1986 e Santos et al. 1986).

Entre os animais de exploração zootécnica mais freqüentemente envolvidos em casos de intoxicação por aflatoxinas, encontram-se os suínos (Ketterer et al. 1982, Perfumo et al. 1983, Fiorentin et al. 1986 e Santos et al. 1986). No Brasil, este fato parece não ser devido somente ao alto grau de susceptibilidade natural desta espécie às aflatoxinas, mas sobretudo às características do seu sistema de produção.

A produção de suínos em Santa Catarina é efetuada, em sua grande maioria, em propriedades ru-

rais de pequeno e médio porte, que também produzem o milho necessário para o seu consumo anual. A ração é formulada na própria granja, a partir da mistura de milho com um concentrado comercial, e na maior parte dos casos o milho permanece armazenado na propriedade, ou então em armazéns de cooperativas.

A alimentação básica dos suínos consiste de cereais, que são alimentos mais freqüentemente contaminados por aflatoxinas (Morga 1981/1982). Além disso, sua criação em propriedades rurais de pequeno ou médio porte, deficientes em instalações ou em equipamentos adequados ao bom manejo das colheitas destinadas à alimentação dos animais, também colabora para maiores níveis de contaminação. O armazenamento de alimentos sem conservação dos padrões recomendados é um fator que predispõe à colonização por fungos e à conseqüente contaminação por aflatoxinas. Além de ser quantitativamente o principal ingrediente das rações de suínos, o milho é um ótimo substrato para a síntese de aflatoxinas (Trenk & Hartman 1970), especialmente pelos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* (Kushalappa 1979, Fiorentin 1985 e Fiorentin et al. 1986).

O grau de comprometimento dos suínos em face das aflatoxinas é uma relação direta da dose ingerida,

¹ Aceito para publicação em 3 de março de 1988.

² Méd. - Vet., M.Sc., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPASA), Caixa Postal D-3, CEP 89700 Concórdia, SC.

³ Eng. - Agr., M.Sc., EMBRAPA/CNPASA.

A administração durante algumas semanas, de dietas contendo apenas 100 partes por bilhão (ppb) de aflatoxina B₁, a mais tóxica do grupo, já é suficiente para causar perdas na produtividade dos animais (Sisk et al. 1968). Quando os níveis na dieta são mais elevados (400 ppb), aparecem quadros fctero-hemorrágicos agudos, com freqüentes casos de morte (Cruz et al. 1985). Entre os suínos, as fêmeas gestantes apresentam maior sensibilidade, sendo que muito facilmente pode-se observar casos de abortos e mortes (Fiorentin et al. 1986). Conseqüentemente, torna-se imprescindível identificar as características e a natureza da contaminação deste cereal por aflatoxinas.

Esse trabalho objetiva avaliar o comportamento da contaminação de milho originário de três diferentes fontes: granjas produtoras de suínos para abate, fábricas de ração, e cooperativas agrícolas, no estado de Santa Catarina.

MATERIAL E MÉTODOS

Um programa de monitoramento do milho utilizado na alimentação de suínos, no estado de Santa Catarina, foi conduzido por um período de doze meses, entre abril de 1985 e março de 1986, para análise do teor da matéria seca e de aflatoxinas. Um total de 420 amostras foi coletado em diferentes granjas produtoras de suínos para abate, fábricas de rações para suínos e cooperativas agrícolas, com a distribuição mensal demonstrada na Tabela 1.

As amostras foram coletadas entre o décimo e o vigésimo dia de cada mês, seguindo-se normas básicas de amostragem (Jones 1972). Um número variável de pré-amostras de, apro-

ximadamente, 100 g, foi obtido de acordo com o volume total de milho estocado no estabelecimento (Tabela 2). Estas foram homogeneizadas entre si para formarem uma subamostra, da qual retirou-se aproximadamente 1 kg para acondicionamento em um saco de plástico acompanhado de um formulário explicativo, para posterior envio ao laboratório de micotoxicologia.

No laboratório, cada amostra foi novamente homogeneizada, e 100 g foram retirados e moídos até a granulometria de 20 "mesh". Esta quantidade foi, então, utilizada para as análises de teor de matéria seca e aflatoxinas, enquanto o restante foi armazenado em câmara fria ($\pm 5^{\circ}\text{C}$), para eventuais repetições das análises.

Para a análise do teor de matéria seca, utilizou-se a técnica recomendada pela "Association of Official Analytical Chemists" (1980), enquanto para a análise dos níveis de aflatoxinas foi utilizada a análise de cromatografia em camada delgada de silicagel-G⁴, recomendada pelo "Tropical Products Institute", da Inglaterra (Jones 1972); Os quatro padrões⁵ de aflatoxinas (B₁, B₂, G₁ e G₂) foram utilizados nos desenvolvimentos cromatográficos.

Para se obter uma amostragem representativa do milho utilizado na alimentação de suínos no estado de Santa Catarina, coletou-se um número maior de amostras em granjas produtoras de suínos para abate, e menor em fábricas de rações e cooperativas agrícolas, com o objetivo de contemplar o volume de milho utilizado por granjas que adquirem a ração já formulada, ou, ainda, que adquirem o milho que será utilizado na formulação da ração na própria granja.

O teor de matéria seca, em porcentagem, foi estudado através de análise de variância, de acordo com o seguinte modelo matemático:

$$MS_{ijk} = \mu + E_i + M_{ij} + \epsilon_{ijk}, \quad (i = 1, 2, 3; \\ j = 1, 2, \dots, 12; k = 1, 2, \dots, n_i)$$

⁴ Merck 7731.

⁵ Makor Chemical Ltda., Jerusalém, Israel.

TABELA 1. Distribuição mensal do número de amostras analisadas pelo seu teor de matéria seca e aflatoxinas, de acordo com a classe de estabelecimento de origem.

| Mês | Número de amostras | | | Total |
|--------------|--------------------|-------------------|-----------------|-------|
| | Granjas | Fábricas de ração | Coop. agrícolas | |
| abril/85 | 21 | 7 | 4 | 32 |
| maio/85 | 34 | 7 | 2 | 43 |
| junho/85 | 46 | 6 | 2 | 54 |
| julho/85 | 36 | 6 | 3 | 45 |
| agosto/85 | 27 | 4 | 1 | 32 |
| setembro/85 | 40 | 8 | - | 48 |
| outubro/85 | 24 | 2 | 4 | 30 |
| novembro/85 | 19 | 6 | 2 | 27 |
| dezembro/85 | 20 | 6 | 2 | 28 |
| janeiro/86 | 11 | 4 | 2 | 17 |
| fevereiro/86 | 24 | 14 | 2 | 40 |
| março/86 | 17 | 7 | - | 24 |
| Total | 319 | 77 | 24 | 420 |

onde:

MS_{ij} = valor observado da MS na k-ésima amostra no j-ésimo mês, dentro da i-ésima classe de estabelecimento de origem;

μ = efeito médio geral;

E_i = efeito do i-ésimo estabelecimento;

M_{ij} = efeito do j-ésimo mês dentro de i;

ϵ_{ij} = erro aleatório suposto $\Omega N(0, \sigma^2)$.

Para se verificar a influência dos meses sobre os níveis de aflatoxinas (NA), dentro de cada classe de estabelecimento de origem, foi realizado o teste exato de Fisher (Campos 1983), comparando-se a frequência de amostras positivas dentro de cada mês.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Algumas variações foram verificadas no número total de amostras coletadas mensalmente (Tabela 1). As oscilações foram devidas às dificuldades de acompanhamento do programa de colheita das amostras, uma vez que estas foram obtidas mensalmente de vários estabelecimentos e regiões do Estado por colaboradores da iniciativa privada.

Conforme se pode verificar na Tabela 3, a média geral da matéria seca das amostras de milho originárias das granjas foi significativamente inferior ($P < 0,05$) à das fábricas de rações e cooperativas agrícolas. Constatou-se que o período compreendido entre abril/85 e setembro/85, e em março/86, apresentou médias muito baixas de matéria seca (Fig. 1), sendo que o teor médio de umidade no milho originário das granjas estava em 14,2. Levando-se em consideração que 95,4% das observações

TABELA 2. Esquema de coleta de pré-amostras.

| Volume do estoque amostrado, em toneladas | Número de pré-amostras |
|---|------------------------|
| Até 1 | 50 |
| 2 - 5 | 75 |
| 6 - 15 | 100 |
| Mais de 15 | 125 |

TABELA 3. Matéria seca média, do total de amostras de cada classe de estabelecimento.

| Estabelecimento | Nº de amostras | Matéria seca média | Desvio-padrão |
|------------------------|----------------|--------------------|---------------|
| Granjas de suínos | 319 | 85,79 a | 3,07 |
| Fábricas de ração | 77 | 87,34 b | 2,75 |
| Cooperativas agrícolas | 24 | 88,29 b | 1,02 |

a,b Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ($P > 0,05$) entre si.

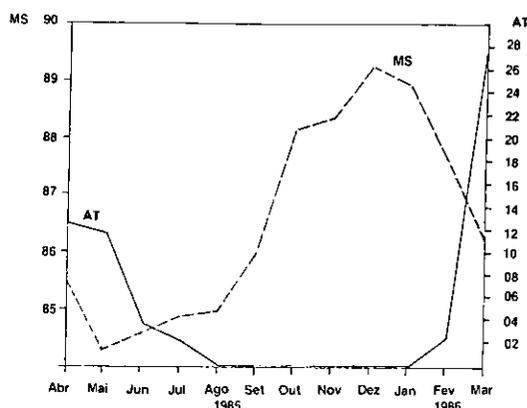


FIG. 1. Distribuição mensal do percentual médio de matéria seca (MS), e percentual de amostras contaminadas por aflatoxina B₁ (AT).

encontram-se no intervalo $\mu \pm 2$ (média \pm duas vezes o desvio-padrão), pode-se concluir que algumas amostras continham até 95,93% de matéria seca (4,07% de água livre), enquanto outras acusaram apenas 79,65% de matéria seca (20,35% de água livre). Segundo Lopes & Christensen (1967) e Trenk & Hartman (1970), o índice de 17,5% de umidade é apropriado ao ótimo crescimento de *A. flavus* no milho. Pode-se comprovar, portanto, que nos meses de abril a setembro de 1985 e em março de 1986 o milho armazenado nas granjas de suínos apresentou condições para a colonização pelos fungos do grupo *A. flavus*, já que a temperatura necessária ao seu desenvolvimento, 10°C a 38°C (Moureau & Moss 1979), é muito frequente nesta época do ano em Santa Catarina. O mesmo não ocorreu com o milho originário das fábricas de rações e cooperativas agrícolas.

Quando a média mensal de matéria seca das amostras foi analisada, separadamente, por tipo de estabelecimento, verificaram-se diferenças significativas somente entre as amostras originárias das granjas (Tabela 4).

Os resultados obtidos das análises quanto às aflatoxinas estão sumariados na Tabela 5. Do total

de amostras positivas (21/420), 16 eram originárias de granjas de suínos, três de fábricas de rações e duas de cooperativas agrícolas, sendo que 17 continham menos de 100 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) de aflatoxina B₁, e três continham níveis entre 100 e 200 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) de aflatoxina B₁, e apenas uma amostra continha 805

ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) de aflatoxina B₁, e também 20 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) de aflatoxina B₂. As aflatoxinas G₁ e G₂ não foram identificadas em nenhuma amostra.

As amostras positivas se distribuíram nos meses de abril a agosto/85 e janeiro a março/86. Verificou-se um período anual de menor ocorrência (setembro

TABELA 4. Médias mensais de matéria seca (MS), das amostras originárias dos três diferentes tipos de estabelecimentos.

| Mês | Granjas | | | Fábricas de ração | | | Cooperativas agrícolas | | |
|--------------|----------|-------------|---------------|-------------------|--------------|---------------|------------------------|--------------|---------------|
| | Amostras | (MS) média* | Desvio-padrão | Amostras | (MS) média** | Desvio-padrão | Amostras | (MS) média** | Desvio-padrão |
| abril/85 | 21 | 84,63 c | 1,57 | 7 | 86,38 | 2,22 | 4 | 88,41 | 0,64 |
| maio/85 | 34 | 83,47 c | 3,55 | 7 | 87,29 | 1,36 | 2 | 87,61 | 0,04 |
| junho/85 | 46 | 84,12 c | 3,59 | 6 | 86,98 | 1,67 | 2 | 87,18 | 0,31 |
| julho/85 | 36 | 84,15 c | 3,17 | 6 | 88,07 | 1,31 | 3 | 87,01 | 0,64 |
| agosto/85 | 28 | 84,66 c | 2,01 | 4 | 86,87 | 0,37 | 1 | 86,24 | - |
| setembro/85 | 40 | 85,71 c | 1,76 | 8 | 87,43 | 1,66 | - | - | - |
| outubro/85 | 24 | 88,00 ab | 1,01 | 2 | 88,59 | 0,55 | 4 | 88,84 | 0,43 |
| novembro/85 | 19 | 88,16 ab | 1,09 | 6 | 88,80 | 0,48 | 2 | 88,85 | 0,10 |
| dezembro/85 | 20 | 89,40 a | 0,67 | 6 | 89,01 | 0,40 | 2 | 88,89 | 0,87 |
| janeiro/86 | 11 | 89,15 a | 0,92 | 4 | 88,06 | 1,37 | 2 | 89,70 | 0,53 |
| fevereiro/86 | 24 | 88,59 a | 0,96 | 14 | 86,03 | 5,61 | 2 | 89,10 | 0,07 |
| março/86 | 17 | 85,80 bc | 1,62 | 7 | 87,37 | 0,89 | - | - | - |

* Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($P > 0,05$).

** Diferença não significativa ($P > 0,05$).

TABELA 5. Frequência de amostras contaminadas por aflatoxina B₁, de acordo com o tipo de estabelecimento e o mês de coleta.

| Mês | Granja de suínos | | Fábricas de ração | | Cooperativas agrícolas | | Total | |
|--------------|------------------|---|-------------------|---|------------------------|---|----------|------|
| | Amostras | | Amostras | | Amostras | | Amostras | |
| | ND* | + | ND | + | ND | + | ND | + |
| abril/85 | 20 | 1 | 6 | 1 | 2 | 2 | 28 | 4 bc |
| maio/85 | 30 | 4 | 6 | 1 | 2 | 0 | 38 | 5 bc |
| junho/85 | 44 | 2 | 6 | 0 | 2 | 0 | 52 | 2 ab |
| julho/85 | 35 | 1 | 6 | 0 | 3 | 0 | 44 | 1 ab |
| agosto/85 | 27 | 0 | 4 | 0 | 1 | 0 | 32 | 0 a |
| setembro/85 | 40 | 0 | 8 | 0 | - | - | 48 | 0 a |
| outubro/85 | 24 | 0 | 2 | 0 | 4 | 0 | 30 | 0 a |
| novembro/85 | 19 | 0 | 6 | 0 | 2 | 0 | 27 | 0 a |
| dezembro/85 | 20 | 0 | 6 | 0 | 2 | 0 | 28 | 0 a |
| janeiro/86 | 11 | 0 | 4 | 0 | 2 | 0 | 17 | 0 a |
| fevereiro/86 | 23 | 1 | 14 | 0 | 2 | 0 | 34 | 1 ab |
| março/86 | 11 | 6 | 6 | 1 | - | - | 17 | 7 c |

a, b, c Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ($P > 0,05$), pelo teste exato de Fisher.

* Não detectado.

a dezembro) e um período de maior ocorrência (janeiro a agosto) de aflatoxinas no milho (Fig. 1). O período de menor ocorrência coincide com aquele em que as amostras possuíam maior teor de matéria seca, indicando um controle natural eficiente da contaminação por aflatoxinas, através da diminuição do teor de umidade do milho, uma vez que Lopes & Christensen (1967) e Trenk & Hartman (1970) verificaram que *A. flavus* não invade grãos de milho que contenham menos que 17,5% de umidade.

Conforme a Tabela 5, o mês de março teve maior contaminação por aflatoxinas B₁. É possível que isto se deva ao fato de que o maior volume de colheita de milho, no estado de Santa Catarina, é realizado nesta época. A colheita do milho ainda imaturo, o nível de umidade (Tabela 3), e as temperaturas altas (28°C - 30°C) desse mês proporcionam condições favoráveis ao crescimento dos fungos *A. flavus*, e sua consequente contaminação por aflatoxinas (Park & Bullerman 1983).

A frequência de amostras positivas na comparação entre meses somente foi significativa quando se considerou o total de amostras analisadas, independentemente do tipo de estabelecimento. Dentro de cada classe de estabelecimento, embora tenham ocorrido frequências altas de amostras contaminadas, o número de repetições utilizado foi insuficiente para detectar diferenças significativas entre meses.

CONCLUSÕES

1. O milho utilizado pelas granjas produtoras de suínos para o abate, no estado de Santa Catarina, é mais predisposto à contaminação por aflatoxina B₁, do que o milho utilizado pelas fábricas de ração e cooperativas agrícolas, devido ao período de março a julho, em que este milho apresenta teores elevados de umidade.

2. A maior ocorrência de aflatoxinas neste produto, no estado de Santa Catarina, foi também verificada nos meses de março a julho.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, Washington, EUA. **Official methods of analysis**. 13. ed. Washington, DC, 1980. 1018p.
- CAMPOS, H. de. **Estatística experimental não paramétrica**. 4.ed. Piracicaba, SP., ESALQ/USP, Departamento de Matemática e Estatística, 1983. 349p.
- CLARKE, M.L.; HARVEY, D.G.; HUMPHREYS, D.J. Mycotoxins. In: CLARKE, M.L.; HARVEY, D.G.; HUMPHREYS, D.J. **Veterinary toxicology**. 2.ed. London, Bailliere & English, 1981. p.264-86.
- CLIFFORD, J.I. & REES, K.R. Aflatoxin. A site of action in the rat liver cell. **Nature**, **209**:312-3, 1966.
- CRUZ, L.C.H. da; ROSA, C.A.R.; CAMPOS, S.G. Aflatoxicose aguda em suínos no Estado do Rio de Janeiro. **R. bras. Med. Vet.**, **7**(5):127-8, 1985.
- FIORENTIN, L. **Isolamento, identificação taxonômica e aflatoxigenicidade de fungos do grupo *Aspergillus flavus*, de ingredientes e rações para aves no Estado de Santa Catarina - Brasil**. Pelotas, RS., UFPel, 1985. 73p. Tese Mestrado.
- FIORENTIN, L.; FIALHO, E.T.; FREITAS, A.R. de. Prevalência de aflatoxinas em milho utilizado na formulação de rações para suínos, no Estado de Santa Catarina - Nota preliminar. In: CONGRESSO LATINO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 1, CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2; Rio de Janeiro, RJ., 1985. **Anais**. . . Concórdia, SC: EMBRAPA-CNPSA; São Paulo, SP; Gessuli Editores, 1985. p.147-8.
- FIORENTIN, L.; SONCINI, R.A.; SOBESTIANSKY, J.; MORES, N.; OLIVEIRA, J.A. de. Aflatoxicose em suínos: relato de uma ocorrência natural. **Arq. bras. Med. Vet. Zootec.**, **38**(1):11-6, 1986.
- JONES, B.D. **Methods of aflatoxin analysis**. London, Tropical Products Institute, 1972. p.7-55.
- KETTERER, P.J.; BLANEY, B.J.; MOORE, C.J.; McINNES, I.S.; COOK, P.W. Field cases of aflatoxin in pig. **Aust. Vet. J.**, **59**:113-7, 1982.
- KUSHALAPPA, A.C. Aflatoxin producing fungi of *Aspergillus flavus* group in stored corn and beans in farms of Minas Gerais State. **Fitopatol. Bras.**, **4**:391-5, 1979.
- LÓPES, L.C. & CHRISTENSEN, C.M. Effect of moisture content and temperature on invasion on stored corn by *Aspergillus flavus*. **Phytopathology**, **57**:588-90, 1967.
- MORGA, A.A. Tipos de micotoxinas nos grãos. **Acta Toxicol.**, **4**(5):1-43, 1981/82.
- MOUREAU, C. & MOSS, M. **Moulds, toxin and food**. Chichester, John Wiley & Sons, 1979. p.474.
- PARK, K. & BULLERMAN, L.B. Effects of substrate and temperature on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. **J. Food Protect.**, **46**:178-84, 1983.
- PERFUMO, C.J.; BANCHERO, E.P.; GONZALES, J.; GENTILETTI, R.; MIGUEL, S. de. Aflatoxicosis in cerdos: descripción de un caso de campo. **Rev. Med. Vet.**, **64**:308-16, 1983.
- REES, V. Micotoxinas: investigação em alimentos animais. **Bol. Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor**, **5**:59-66, 1978.
- RIBEIRO NETO, L.V. Aflatoxinas e câncer hepático. **Ci. Cult.**, **33**(8):1051-3, 1980.
- SABINO, M. Variações de níveis de aflatoxina B₁ em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. **R. Inst. Adolfo Lutz**, **40**(2):153-8, 1980.

- SANTOS, J.L. dos; SILVA, J.C.P. da; RIBEIRO, M.F.B.; FARIA, J.E. de. Aflatoxicose em suínos: ocorrência de surtos na Zona da Mata de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, 38(2):167-72, 1986.
- SISK, D.B.; CARLTON, N.W.; CURTIN, T.M. Experimental aflatoxicosis in young swine. **Am. J. Vet. Res.**, 29(8):1291-601, 1968.
- TRENK, H.L. & HARTMAN, P.A. Effects of moisture content and temperature on aflatoxin production in corn. **Appl. Microbiol.**, 19(5):781-4, 1970.