CARDOSO FILHO, F.C. et al. Determinação de zearalenona em farinha de milho comercializada em Teresina, Piauí – Brasil. **PUBVET**, Londrina, V. 8, N. 13, Ed. 262, Art. 1737, Julho, 2014.

PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Determinação de zearalenona em farinha de milho comercializada em Teresina, Piauí - Brasil

Francisco das Chagas Cardoso Filho[1*], Rodrigo Maciel Calvet[1], Mikaela Lopes de Caldas[4], Amilton Paulo Raposo Costa[2], Maria Marlúcia Gomes Pereira[2], Carlos Alberto da Rocha Rosa[3], Marcos Daniel de Sousa Ferreira[1], Maria Christina Sanches Muratori[2]

[1]Médico Veterinário. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina,PI. veterinário_filho@hotmail.com; calvet_ma@hotmail.com; marcos_daniel-pi@hotmail.com

[2]Departamento de Morfofisiologia Veterinaria, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI. amilfox@uol.com; marlucia-gomes@hotmail.com; chrismuratori@uol.com.br

[3]Departamento de Microbiologia e Imunología Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. shalako1965@gmail.com

[4]Graduação em Medicina – Universidade Estadual do Piauí. mika_caldas1331@hotmail.com

Resumo

O objetivo desse estudo foi realizar um levantamento da ocorrência de zearalenona em um produto a base de milho destinado ao consumo na cidade de Teresina, Piauí, Brasil. Foram utilizadas 30 amostras de farinha de milho a partir de seis diferentes marcas vendidas em supermercados dessa cidade. A

coleta foi realizada entre janeiro e março de 2009. A partir das amostras foi realizada análise de zearalenona, essas análises foram realizadas por cromatografia em camada delgada (CCD). Não foi detectada a presença de zearalenona em nenhuma das amostras. No entanto, é válido ressaltar que a não detecção de zearalenona não descarta a possibilidade da presença das mesmas nas amostras de derivados de milho, uma vez que a CCD possui certo limite de detecção para zearalenona.
Palavras-chave: Micotoxinas, *Fusarium*, Cuscuz.

Determination of zearalenone in corn flour sold in Teresina, Piauí – Brazil

Abstract

The aim of this was to survey the occurrence of zearalenone in a product from corn intended for consumption in the city of Teresina, Piauí, Brazil. Thirty samples of corn flour were used from six different brands sold in supermarkets of this city. The collection was conducted between January and March 2009. From the samples was performed the analysis of zearalenone by thin layer chromatography (TLC). The presence of zearalenone was not detected in none of the samples. However, it is worth to emphasize that the non-detection of zearalenone can not eliminate the possibility of its presence in the samples derived from corn, once the TLC has certain limit of zearalenone detection.
Keywords: Mycotoxins, *Fusarium*, Couscous.

Introdução

Entre as culturas de destaque no Brasil, o milho (*Zea mays*) é o segundo grão mais produzido perdendo apenas para a soja segundo levantamento feito pela CONAB (2010). Ele também se destaca por ser utilizado tanto na alimentação humana como animal, seus derivados têm efetiva participação na dieta alimentar das camadas mais pobres da população (MELO FILHO;

RICHETTI, 1997). Os climas tropicais e subtropicais do Brasil favorecem o crescimento fúngico, que em condições adequadas podem produzir micotoxinas, estas por sua vez têm sido freqüentemente relatadas por diversos pesquisadores (VARGAS *et al*., 2001; RODRIGUEZ-AMAYA; SABINO, 2002; KAWASHIMA; SOARES, 2006).

Dentre os fungos, o principal patógeno de plantas pertence ao gênero *Fusarium*, estes podem produzir micotoxinas antes ou imediatamente após a colheita (SWEENEY; DOBSON, 1998). A zearalenona é uma micotoxina única, tanto estrutural como funcionalmente. A toxicologia e química de zearalenona são detalhadas por outros autores (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007; KRSKA *et al.,* 2007; MORGAVI; RILEY, 2007). A produção de zearalenona atualmente está restrito principalmente a três espécies, *F. graminearam*, *F. equiseti* e *F. semitectum*, são fungos considerados invasores secundários mais frequentemente associados ao solo (DESJARDINS, 2006; LESLIE; SUMMERELL, 2006). A zearalenona pode estar envolvida com produção de câncer cervical e a formação prematura de seios, pois esta micotoxina age como estrogênio (SHIER, 1998; MIDIO; MARTINS, 2000).

O objetivo deste estudo foi verificar se nas amostras de um produto alimentícios à base de milho consumidos em Teresina, PI, se continham zearalenona.

Material e Métodos

Amostragem

Foram utilizadas 30 amostras (500 g) de farinha de milho a partir de seis diferentes marcas vendidas em supermercados da cidade de Teresina, Brasil. O período de coleta foi entre janeiro e março de 2009. Após a coleta as amostras foram homogeneizadas, mescladas e quarteladas para se obter amostras de 100g para o laboratório do Núcleo de Estudos, Pesquisa e Processamento de

Alimentos, da Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, para a determinação de zearalenona.

Determinação de zearalenona

As análises de zearalenona foram realizadas por cromatografia em camada delgada (CCD), seguindo a metodologia descrita nos métodos oficiais de análise (AOAC 1995). Para cada amostra (25 g) foi utilizado para extração 125 mL de metanol: água (60: 40 v/v), 80 ml de hexano, 2 g de NaCl e homogeneizado por 30 min em um agitador orbital. A mistura foi filtrada através de filtro de papel Whatman fase aquosa N º 4 (Whatman, Inc., Clifton, New Jersey, E.U.A.) e 25 mL de metanol filtrado: foi extraída duas vezes com 25 e 15 mL de clorofórmio, respectivamente. A fase clorofórmica foi seca a vácuo usando um evaporador rotativo e o extrato foi re-dissolvido em 200 ☐L de clorofórmio: acetona (9:1 v/v). O extrato foi rastreado por mancha de 2 ☐L, 5 ☐L, e 10 ☐L de cada extrato, juntamente com a solução padrão de toxina em um gel de sílica 60 TLC chapas de alumínio (20 x 20 cm, Merck, Alemanha) e desenvolvido com clorofórmio: acetona (90: 10 v/v). Os cromatogramas foram secos e observados em 365nm de luz UV. As quantidades relativas de zearalenona foram quantificadas por comparação visual com a luz ultravioleta com as soluções padrões de concentração dessas toxinas.

Resultados e Discussão

Nas 30 amostras analisadas não foi detectada a presença de zearalenona em nenhuma das amostras de farinha de milho, resultados semelhantes foi encontrado por KAWASHIMA; SOARES (2006), que não só em farinha de milho como em outros produtos derivados do milho também não foi detectada a presença dessa micotoxina.

Em trabalho realizado por SEKIYAMA *et al.,* (2002) pesquisando ZEA em diversos produtos a base de milho, ela foi detectada apenas em uma amostra de milho de pipoca, na concentração de 448 ppb.

BRIONES-REYES *et al*.,(2005) analisaram 24 amostras de milho utilizado para consumo humano no México, verificaram um índice de contaminação por zearalenona em 70% das amostras. Já MARQUES (2007), trabalhando com subprodutos do milho utilizado na alimentação animal, analisou 47 amostras e obteve uma contaminação por zearalenona em 51% das amostras, em concentrações que variaram de 100 a 5000 ppb. JANARDHANA *et al.,* (1999) analisando a presença de ZEA em 197 amostras de milho encontraram uma incidência de 9,6% com concentrações que variaram de 10 a 41 ppb.

OLIVEIRA *et al.,* (2009), analisando amostras de milho crioulo (Zea mays L.) no estado do Paraná quanto a contaminação por zearalenona, utilizando o método de cromatografia por camada delgada obtiveram resultados variando entre 64 e 640 ppm. OLIVEIRA *et al.,* (2010) em amostras de milho crioulo (Zea mays L.) através do método imunoenzimático ELISA detectou zearalenona em todas as amostras com valores variando de 69,8 ppb a 759,6 ppb.

O Brasil ainda não possui legislação para zearalenona, apesar de nos produtos analisados não ser detectado essa micotoxina, sugere-se que, pelo perigo que a presença dessa micotoxina possa causar tanto a saúde humana como a animal, que essa seja incluída a legislação atual. O limite máximo de ZEA na maioria dos países é de 200 ppb.

Portanto, faz-se necessário um monitoramento freqüente no sentido de assegurar a qualidade e a segurança dos produtos entregues à população, não só na pesquisa de zearalenona, como das demais micotoxinas.

Conclusão

Por cromatografia em camada delgada, comprovou-se a ausência da micotoxina zearalenona na farinha de milho utilizada neste experimento.

CARDOSO FILHO, F.C. et al. Determinação de zearalenona em farinha de milho comercializada em Teresina, Piauí – Brasil. **PUBVET**, Londrina, V. 8, N. 13, Ed. 262, Art. 1737, Julho, 2014.

Referências

AOAC. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, in Sec. 972-26, 976-22. Off. Methods Anal. 1995.

CONAB. Companhia nacional de abastecimento. Produção de milho no Brasil. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=73&NSN=1309> Acesso em: 12 ago. 2010

BRIONES-REYES, D.; GÓMEZ-MARTINEZ, L.; CUEVA-ROLÓN, R. Zearalenone contamination in corn for human consumption in the state of Tlaxcala, Mexico. Food Chemistry, v. 100, n. 02, p. 693-698, 2007. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.10.027.

DESJARDINS, A.E., 2006. *Fusarium* Mycotoxins: Chemistry, Genetics, and Biology. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.

FINK-GREMMELS, J., MALEKINEJAD, H. Biochemical mechanisms and clinical effects associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. In: MORGAVI, D.P., RILEY, R.T. (Eds.), *Fusarium* and their toxins: Mycology,occurrence, toxicity, control and economic impact. Anim. Feed Sci. Technol. 137, 326–341. 2007

JANARDHANA, G. R K.; RAVEESHA, A.; SHEKAR SHETTY, H. Mycotoxin Contamination of Maize Grains Grown in Karnataka (Índia). Food and Chemical Toxicology, v. 37, n. 8, p. 863-868, 1999. 868, 1999. DOI:10.1016/S0278-6915(99)00067-8.

KAWASHIMA, L. M.; SOARES, L. M. V. Occurrence of fumonisin B1, aflatoxins B1, B2, G1, and G2, ochratoxin A and zearalenone in corn products. Cienc. Tecnol. Aliment. *26*, 516–521. 2006

KRSKA, R.,WELZIG, E., BOUDR, H. Analysis of Fusarium toxins in feed. In: Morgavi, D.P., Riley, R.T. (Eds.), *Fusarium* Toxins: Presence in Feeds and Toxic Effects in Animals. Anim. Feed Sci. Technol. 2007

LESLIE, J.F., SUMMERELL, B.A., 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA.

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

MELO-FILHO, G.A.; RICHETTI. A. Aspectos socioeconômicos da cultura de milho. Embrapa, Circ. Téc., vol.5, p.12-21. 1997

MÍDIO, A. F.; MARTINS, D. I. Toxicologia de alimentos. São Paulo: Varela, 2000. p. 295.

MORGAVI, D., RILEY, R.T. An historical overview of field disease outbreaks known or suspected to be caused by consumption of feeds contaminated with *Fusarium* toxins. In: Morgavi, D.P., Riley, R.T. (Eds.), *Fusarium* and their toxins: Mycology, occurrence, toxicity, control and economic impact. Anim. Feed Sci. Technol. 137, 201–212. 2007

OLIVEIRA, T. R.; JACCOUD-FILHO, D.; HENNEBERG, L.; MICHEL, M. D.; DEMIATE, I. M.; PINTO, A. B. T.; MACHINSKI, J. M.; BARANA, A. Maize (Zea Mays L) landraces from the southern region of Brazil: contamination by Fusarium sp, zearalenone, physical and mechanical characteristics of the kernels. Brazilian Archives of Biology and Technology, Curitiba, v. 52, n º, p. 11-16, 2009.

OLIVEIRA, T. R.; BARANA, A. C.; JACCOUD-FILHO, D. S.; FANUCCHI NETO, F. Avaliação da contaminação por aflatoxinas totais e zearalenona em variedades de milho crioulo (Zea mays L.) através do método imunoenzimático ELISA. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. V.04,n.02:p.179-185,2010

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B.; SABINO, M. Mycotoxins research in Brazil: the last decade in review. Brazilian Journal of Microbiology, v. 33, n. 1, p. 1-11, fev 2002.

SEKIYAMA, B.L.; MACHINSKI, P. A.; RIBEIRO, A. B.; MACHINSKI JUNIOR, M. Ocorrência de zearalenona em produtos alimentícios à base de milho comercializados no período de janeiro a junho de 2002 em Maringá(PR). XI Encontro Anual de Iniciação Científica-PIBIC/CNPq. 2002. Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR

SHIER, W.T. Estrogenic mycotoxins. Rev. Med. Vet. 149 (6), 599–604. 1998

SWEENEY, M.J., DOBSON, A.D.W. Mycotoxin production by *Aspergillus, Fusarium* and *Penicillium* species. Int. J. Food Microbiol. 43, 141–158. 1998

VARGAS, E. A.; PREIS, R. A.; CASTRO, L.; SILVA, C. M. G. Co-occurrence of aflatoxins B1, B2, G1, G2, zearalenone and fumonisin B1 in Brazilian corn. Food Addit. Contam*. 18*, 981–986. 2001