

Comunicação

[Communication]

**Otimização de método analítico para determinação de aflatoxinas em rações de caprinos e ocorrência no estado da Bahia**

[Optimization of analytical method for aflatoxins determination in goats feedstuffs and their occurrence in the state of Bahia]

M.J.M. Batatinha<sup>1</sup>, M.B. Botura<sup>1</sup>, M.M.S. Simas<sup>1</sup>, C.A. Mallmann<sup>2</sup>, T.C.B.S.C. Bittencourt<sup>1</sup>, M. Sabino<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Escola de Medicina Veterinária - UFBA  
Av. Ademar de Barros, 500  
40170-110 – Salvador, BA

<sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria, RS

<sup>3</sup>Instituto Adolfo Lutz – São Paulo, SP

As aflatoxinas, metabólitos tóxicos produzidos principalmente pelos fungos *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, podem ser encontradas em vários produtos alimentícios, incluindo rações. A ingestão dessas toxinas pelos animais pode resultar em grandes perdas econômicas na pecuária, refletidas, dentre outras, em redução da eficiência reprodutiva e da produção de leite (Mycotoxins..., 2003).

A presença de aflatoxinas em produtos destinados à alimentação animal foi constatada em diversas regiões do Brasil (Sassahara et al., 2003; Yanaka et al., 2004). No entanto, no estado da Bahia, os relatos sobre a sua ocorrência em produtos alimentícios são escassos.

O presente estudo teve como objetivos otimizar o método de cromatografia em camada delgada (CCD) para a análise de aflatoxinas em ração e avaliar a ocorrência de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> em rações utilizadas na alimentação de caprinos leiteiros no estado da Bahia.

Quatro coletas de ração foram realizadas em cinco propriedades de caprinos leiteiros localizadas no Recôncavo Baiano (municípios de Amélia Rodrigues, Camaçari, Feira de Santana e Simões Filho), entre novembro de 2000 e julho de 2002. Em cada propriedade e por coleta,

foram obtidas quatro amostras de 500g cada, perfazendo um total de 80 amostras.

A otimização do método de CCD para a análise de aflatoxinas em rações descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (Métodos..., 1985) foi realizada na fase de extração, a qual consistiu na utilização de apenas uma alíquota do primeiro extrato clorofórmico, correspondente à metade do volume adicionado inicialmente à amostra (50ml), procedimento também repetido na extração clorofórmica final. A concentração das aflatoxinas foi, então, calculada, considerando-se que a quantidade da amostra em análise equivalente ao extrato clorofórmico final (contendo as toxinas) foi de 7,5g correspondente a ¼ da quantidade da amostra utilizada no método original (30g).

A eficiência desse método modificado foi avaliada por meio da obtenção de seus limites de detecção, quantificação, percentual de recuperação e coeficiente de variação. Para a determinação dos limites de detecção e quantificação do método, amostras em que não foram detectadas aflatoxinas e em triplicata foram contaminadas com níveis 5 e 8µg/kg de cada aflatoxina. Da mesma forma, o percentual de recuperação foi obtido pela diferença entre o valor real (valor inicial de contaminação da amostra - 8µg/kg) e o valor observado na análise,

conferindo a exatidão do método. A precisão da metodologia foi avaliada pelo coeficiente de variação (CV).

Durante a avaliação da eficiência do método de CCD, para a análise de ração utilizada na alimentação de caprinos leiteiros, foram obtidos baixos percentuais de recuperação (20,3 a 40,5%). Na análise realizada por este método, a amostra foi submetida a uma primeira extração com volume conhecido (100ml) de clorofórmio, seguida de filtração. Durante esse processo, observou-se que o volume do filtrado (primeiro extrato clorofórmico) obtido não correspondia ao volume inicial adicionado à ração, provavelmente devido à fração retida na amostra e/ou à sua volatilização. Considerando-se que a concentração de aflatoxinas extraídas da amostra é calculada em função da quantidade da amostra utilizada no método (30g), resíduos das toxinas presentes na fração de clorofórmio retido na amostra não estariam sendo considerados no cálculo final para a determinação do seu nível de contaminação, dificultando a obtenção de um bom percentual de recuperação.

As modificações realizadas na fase de extração desse método resultaram em aumento dos percentuais de recuperação, os quais estiveram entre 81 e 97%, apresentando coeficientes de variação de 1,08; 4,12; 1,26 e 0,83%, respectivamente, para as aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>. Estes resultados indicam que a modificação do método mostrou-se adequada para a determinação dessas toxinas em rações, uma vez que atendem aos critérios adotados por Horwitz et al. (1980) e pelo European Committee (Laying..., 1998)

Os limites de detecção e quantificação das aflatoxinas analisadas pelo método modificado foram de 5 e 8 µg/kg, respectivamente. Sabino et al. (1988) e Silva et al. (1996) utilizaram a método de CCD (Métodos..., 1985) para análise de aflatoxinas em rações e obtiveram limites de detecção de 8 e 3,2 µg/kg, respectivamente.

Os resultados da análise das aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> nas amostras de rações não revelaram a presença dessas toxinas e isto pode ser atribuído, às boas condições de manejo alimentar e de armazenamento das rações nas propriedades estudadas. O período de estocagem dessas rações nas propriedades variou de 8 a 15 dias. Os depósitos de armazenamento apresentavam bom estado de conservação e aeração e não foi evidenciada a presença de roedores.

Baixa frequência de contaminação por AFB<sub>1</sub> em rações para frango de corte (1,7%) foi verificada por Oliveira et al. (1997) no estado de Goiás, sendo este resultado também correlacionado com as adequadas práticas de manejos observadas nas granjas, como aquisição de matéria prima de boa qualidade, curto tempo de armazenamento e adição de antifúngicos nas rações durante o preparo.

A ocorrência de aflatoxinas em produtos destinados à alimentação animal e oriundos de várias regiões do Brasil já foi relatada em percentuais de contaminação variáveis de 13 a 33% (Sassahara et al., 2003; Yanaka et al., 2004; Simas et al., 2007).

Palavras-chave: aflatoxina, cromatografia, ração, caprino

#### ABSTRACT

*The optimization of the thin layer chromatography (TLC) method to determine aflatoxins in feedstuffs and the evaluation of their occurrence in feedstuffs for milk-yielding does in the state of Bahia were studied. Eighty feedstuff samples were collected from five farms, located in the Recôncavo Baiano, from November 2000 to August 2002. The samples were analyzed using TLC modified method. In this study, the detection and quantification limits were 5 and 8 µg/kg, respectively. The percentage of average recoveries obtained for AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, and AFG<sub>2</sub> were 81.0; 97.2; 89.3; and 90.3%, respectively; and the coefficient of variation ranged from 0.83 to 4.1%. The results revealed that the optimization of TLC methodology is efficient to analyze aflatoxins in feedstuffs. The presence of these aflatoxins was not detected in any of the analyzed samples, demonstrating good quality of those products, regarding the contamination by these toxins.*

*Keywords: aflatoxin, chromatography, feedstuffs, goat*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HORWITZ, W.; KAMPS L.R.; BOYALER, V.W. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 63, p.1344-1354, 1980.
- LAYING down the sampling methods and the methods of analysis for the official control of the levels for certain contaminants in foodstuffs. *Off. J. Eur. Comm.*, 17 jul. 1998. L201/93 – L201/101. (Commission Directive 98/53/EC)
- MÉTODOS químicos e físicos para análise de alimentos. In: \_\_\_\_\_ *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. São Paulo: IMESP, 1985. p.430-435.
- MYCOTOXINS: risks in plant, animal and human systems. Ames: CAST, 2003. 109p. (Task Force Report, 139).
- OLIVEIRA, M.A.B.; MESQUITA, A.J.; SABINO, M. et al. Ocorrência aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> em rações para frangos de corte em granja do Estado de Goiás. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.49, p.701-708, 1997.
- SABINO, M.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA E.I. et al. Ocorrência de aflatoxina B<sub>1</sub> em produtos alimentícios e rações animais consumidos no estado de São Paulo e em várias outras regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v.48, p.81-85, 1988.
- SASSAHARA, M.; YANAKA, E.K.; NETTO, D.P. Ocorrência de aflatoxina e zearalenona em alimentos destinados ao gado leiteiro na região Norte do Estado do Paraná. *Semina*, v.24, p.63-72, 2003.
- SILVA, S.C.; OLIVEIRA, J.N.; CALDAS, E.D. Aflatoxinas em alimentos comercializados no Distrito Federal de 1985 a 1995. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v.56, p.49-52, 1996.
- SIMAS, M.M.; BOTURA M.B.; CORREA, B. et al. Determination of fungal microbiota and mycotoxins in brewers grain used in dairy cattle feeding in the State of Bahia, Brazil. *Food Control*, v.18, p. 404-408, 2007.
- YANAKA, E.K.; NETTO, D.P.; SASSAHARA, M. et al. Avaliação da presença de micotoxinas em milho e rações destinadas à avicultura comercial de postura nas regiões norte e noroeste do Estado do Paraná. *Pesq. Vet. Bras.*, v.24, supl.1, p.79, 2004.