

**INCIDÊNCIA DE FUNGOS E AFLATOXINAS  
EM ARROZ (*Oriza sativa* L.)**

**ROSILANE APARECIDA DE CARVALHO**

**2008**

**ROSILANE APARECIDA DE CARVALHO**

**INCIDÊNCIA DE FUNGOS E AFLATOXINAS EM ARROZ (*Oriza sativa*  
L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação “Strictu Sensu” em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof Dr Luís Roberto Batista

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

CARVALHO, Rosilane Aparecida de.  
Incidência de fungos e aflatoxinas em arroz  
(*Oriza sativa* L.) /Rosilane Aparecida de Carvalho. – Lavras : UFLA,  
2008.

55 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Luis Roberto Batista.

Bibliografia.

1. Aflatoxicoses. 2. Micotoxinas. 3. Cromatografia líquida de alta  
eficiência. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.18579

**ROSILANE APARECIDA DE CARVALHO**

**INCIDÊNCIA DE FUNGOS E AFLATOXINAS EM ARROZ (*Oriza sativa*  
L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Dr. Guilherme Prado

Fundação Ezequiel Dias/BH

Dra Sara Maria Chalfoun de Souza

EPAMIG/CTSM-Lavras-MG

Prof Dr Luís Roberto Batista  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS pelo dom da vida, a SUA força que me sustentou em todos os momentos, aos quais incessantemente recorria a ELE.

Agradeço aos meus pais, Maria e Luís, pelos incentivos, compreensão, firmeza e muito amor a mim dedicado e em especial a minha mãe, pelas “orações”, fontes da minha sustentação.

Aos meus irmãos Luis Carlos e Cláudio, agradeço pelo apoio, incentivo e pela alegria, que mesmo com as preocupações do dia-a-dia não foram apagadas e também agradeço, pela união que sempre nos mantiveram ligados uns os outros, seja por pensamentos ou por mesmo no contato do dia-a-dia sempre nos lembramos uns dos outros.

Ao Dr. Luis Roberto Batista pela sabedoria em me orientar, por ter me apontado os caminhos, conduzindo-me ao crescimento pessoal e profissional, pela paciência, mesmo diante das dificuldades, e pela amizade!

Ao Guilherme Prado, co-orientador, pelo trabalho, atenção e a toda a sua equipe da FUNED pela força.

A Virgínia pelas palavras de ânimo que sempre me encorajavam e encorajam ainda hoje.

Ao João Batista, pelo carinho, compreensão e por fazer-me ainda mais feliz.

A colaboração material do Departamento Ciência dos Alimentos (DCA) na execução deste trabalho.

Aos professores do DCA, em especial à Prof.<sup>a</sup> Roberta, pela força e incentivos. Aos funcionários dos departamentos da UFLA, que colaboraram na realização deste trabalho, entre eles: DCA: Eliane, Rafaela, Tina, Cleuza,

Sr.Miguel e Ângela. Biblioteca: Alexandre, Narro, Carlos e Plínio, pela ajuda com os computadores.

Centro de Convivência: Ana Lúcia, pelas orações e a força em todos os momentos!

Aos colegas de estudo, Camila, Carolina e Roseane,

Aos amigos (as) do DCA: Simone e Janyelle pelas palavras e preocupações.

Ao doutorando Nélio, por ter sido aceita como estagiária em seu experimento e ao doutorando Luizinho, pela revisão das apresentações no Power Point.

Aos colegas que me ajudaram no projeto de pesquisa: Daiane (mestranda); Bibiane (graduanda em Eng. Alimentos), Cíntia (mestranda); Camila (aluna especial DBI) e a Elisângela (mestranda).

Que Deus possa recompensar o esforço de cada um na realização desta pesquisa.

## DEDICATÓRIA

A Deus,

Aos meus pais: Maria e Luiz

Ao Luis Carlos, ao Cláudio e sua esposa (Virgínia)

Ao meu namorado: João Batista

A todos os meus familiares que me apoiaram

Aos amigos e colegas que me auxiliaram.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
CAPÍTULO 1: ARROZ ( <i>Oriza sativa</i> L): ASPECTOS HISTÓRICOS E NUTRICIONAIS .....	03
1.1 Origem e histórico do arroz .....	03
1.2 Produção nacional e internacional do arroz .....	05
1.3 Aspectos nutricionais do arroz .....	06
1.4 Classificação do arroz .....	08
1.4.1 Arroz polido .....	09
1.4.2 Arroz integral .....	10
1.4.3 Arroz parboilizado .....	11
1.5 Fungos toxigênicos e suas micotoxinas associadas à cadeia alimentar .	13
1.6 Efeitos biológicos das micotoxinas e fatores que favorecem a presença em alimentos.....	17
1.7 Fatores para a redução das aflatoxinas .....	20
2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
CAPÍTULO 2: INCIDÊNCIA DE FUNGOS AFLATOXIGÊNICOS E AFLATOXINAS EM ARROZ ( <i>Oriza sativa</i> L.) BENEFICIADO E COMERCIALIZADO EM LAVRAS - MG E CIDADES DO SUL DO ESTADO.....	31
RESUMO .....	32
ABSTRACT .....	33
1 INTRODUÇÃO .....	34
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
2.1 Amostras.....	35
2.2 Isolamento e Identificação de fungos filamentosos .....	35
2.3 Avaliação do potencial toxigênico dos fungos identificados.....	36
2.4 Análise de aflatoxinas em arroz por CLAE .....	37
2.5 Performance da metodologia analítica.....	38
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
3.1 Contaminação por fungos filamentosos .....	40
3.2 Incidência de fungos toxigênicos.....	40
3.3 Avaliação do potencial toxigênico por Plug Agar .....	42
3.4 Característica de desempenho da metodologia analítica.....	42
3.4.1 Linearidade .....	42
3.4.2 Recuperação e coeficiente de variação .....	43
3.5 Aflatoxinas em arroz.....	47

4 CONCLUSÃO .....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51

## RESUMO GERAL

CARVALHO, Rosilane Aparecida de. **Incidência de fungos e aflatoxinas em arroz (*Oriza sativa* L.)**. 2008. 55p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.<sup>1</sup>

O arroz é consumido pela metade da população mundial. A forma como o arroz é consumido no Brasil é polido, integral e parboilizado, além do arroz de cultivo orgânico. O arroz integral sofre apenas a retirada da casca, sendo que a película permanece. O parboilizado sofre tratamento hidrotérmico objetivando o enriquecimento do grão, através da migração dos nutrientes das partes exteriores para o centro do grão. O polido sofre brunição com a retirada da casca e da película, que é a camada de farelo, isso justifica sua menor constituição nutricional. Devido à presença rica em nutrientes, o arroz é substrato propício para o crescimento fúngico, principalmente quando as práticas de pós-colheita não são devidamente observadas, assim pode ocorrer ou não a produção de micotoxinas, devendo-se para isso haver certas condições tais como determinadas faixas de temperatura e umidade. Este trabalho objetivou identificar a microbiota fúngica em arroz (*Oriza sativa* L.) comercializado em Lavras-MG e cidades do sul do estado, analisar o potencial aflatoxigênico das espécies da Seção *Flavi* isoladas e identificadas e verificar nas amostras de arroz os níveis de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2. As amostras de 1 a 5 Kg foram adquiridas em Lavras –MG e cidades do sul do estado sendo um total de 60 amostras do grupo beneficiado, subdivididas em subgrupo polido (48), parboilizado (3), integral (7) e orgânico (2). A incidência fúngica foi avaliada pelo plaqueamento direto, o potencial toxigênico pela técnica de Plug Ágar e a presença de aflatoxinas em arroz pela técnica CLAE. As espécies fúngicas mais incidentes em arroz foram: *A. candidus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. foetidus*, *A. niger* e *A. niger* “Agregados. Dos 17 isolados de *A. parasiticus* testados 14 eram aflatoxigênicos e dos 31 isolados de *A. flavus* testados 8 eram aflatoxigênicos. Das 36 amostras testadas apenas uma estava contaminada com aflatoxina B1 com um nível de 1,2 µg Kg<sup>-1</sup>. Estes resultados indicam que o arroz analisado e comercializado em Lavras e região sul do estado de Minas Gerais apresentou baixo índice de contaminação. No Brasil, não há legislação específica para o arroz. Portanto, em países europeus a legislação prevê até 2 ug/Kg para o nível de aflatoxina B1 em cereais.

---

Comitê Orientador: <sup>1</sup> Prof. Dr. Luís Roberto Batista (orientador); Dr. Guilherme Prado ( pesquisador da Fundação Ezequiel Dias – FUNED - Fundação Ezequiel Dias)

## GENERAL ABSTRACT

CARVALHO, Rosilane Aparecida de. **Incidence of fungi and aflatoxins in rice (*Oriza sativa* L.)**. 2008. 55 p. Dissertation (Mestrado in Food Science/Microbiology)-Federal University of Lavras, Lavras, MG.

Rice is consumed by the half of the world's population. The form as rice is consumed in Brazil is polished, whole and parboiled besides the rice of organic cultivation. The processes for obtaining the subgroups are distinct. Whole rice only undergoes husk removal, that is, the film remains. Parboiled rice undergoes a hydrothermal treatment, aiming at the enrichment of grain through the migration of nutrients from the outer parts into the center of grain. The polished one undergoes burnishing with the removal of the husk and film, which is the layer of bran, which accounts for its poorer nutritional makeup. Due to the rich presence in nutrients, rice is a substrate opportune for fungal growth, mainly when the post harvest practices are not duly followed, thus, mycotoxins, may or may not occur for that, there must be certain conditions such as certain ranges of temperature and moisture. This work aimed to identify fungal microbiota in rice (*Oriza sativa* L.) marketed at Lavras-MG and towns in Southern Minas Gerais, analyze the aflatoxigenic potential of the species of the *Flavi* iSection both isolated and identified and verify in the rice samples, the levels of aflatoxins B1, B2, G1 and G2. The samples of rice from 1 to 5 kg were purchased in Lavras – MG and cities in the south of the state, as a total of 60 samples of the benefited group, subdivided into sub-groups polished (48), parboiled (3), integral (7) and organic (2). The incidence of fungi was evaluated by the direct plating technique, the toxigenic potential by the Plug Agar technique and the aflatoxin presence in rice by the CLAE technique. The fungal species more incidents in rice were: *A. candidus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. foetidus*, and *A. niger* "aggregates". The toxicogenic potential of fungus of Section *Flavi* was evaluated by technical Plug Agar. From 17 isolated from *A. parasiticus* tested 14 were aflatoxigênicos and 31 isolated from *A. flavus* tested 8 were aflatoxigênicos. From the 36 samples tested only one was contaminated with aflatoxin B1 with a level  $1,2^{-1} \mu\text{g} / \text{Kg}^{-1}$ . These results point out that the rice analyzed and marketed at Lavras and southern region of the state of Minas Gerais presented a low contamination rate. In Brazil, there is no legislation specific of rice. Therefore, in European countries, legislation foresees up to 2 ug/Kg for the level of aflatoxin B1 in cereals.

---

\*Guidance Committee: Professor Dr. Luiz Roberto Batista (Adviser); Dr. Guilherme Prado (Researcher at the Fundação Ezequiel Dias – FUNED).

## INTRODUÇÃO GERAL

O arroz é o principal componente da dieta básica da população mundial. Segundo a Organização Mundial das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), o arroz é o responsável por 20% da fonte da energia alimentar da população mundial, enquanto o trigo fornece 19% e o milho 5%. Somente nos países asiáticos, mais de dois bilhões de habitantes têm o arroz e seus derivados como fontes de 60 a 70% das calorias ingeridas diariamente (Barata, 2005).

Por ser uma cultura extremamente rústica, é considerada a espécie de maior potencial de aumento de produção para o combate da fome no mundo. Em termos de cultivo e consumo, o arroz é mundialmente o alimento mais cultivado depois do trigo, sendo consumido pela metade dos seis bilhões de habitantes do mundo (Food and Agriculture Organization - FAO, 2004).

O arroz é um alimento constituído por proteínas, carboidratos de alto valor energético, sais minerais (fósforo, ferro e cálcio), vitaminas do complexo B e lipídios (Soares et al., 2005). Os tipos mais consumidos de arroz no Brasil são: polido, integral e parboilizado. Sob o ponto de vista nutricional os dois últimos são os mais enriquecidos, mas os menos consumidos, devido a vários fatores tais como culturais e econômicos. Entretanto, uma série de operações a que está sujeito, desde a colheita até a mesa, causa perdas no valor nutritivo deste cereal (Pereira, 2002b).

A cultura do arroz está sujeita à ação de fungos, considerados os maiores causadores de doenças neste cereal, no campo, na colheita ou na fase de armazenamento (Soares et al., 2005). O desenvolvimento fúngico requer certas condições favoráveis como temperatura, atividade de água, conteúdo de umidade, pH e oxigenação. A composição física dos grãos e a presença de artrópodes

também facilitam a proliferação fúngica. A ocorrência de determinadas espécies fúngicas tem conduzido ao risco de contaminação com micotoxinas, metabólitos secundários tóxicos de alguns fungos filamentosos capazes de causar alterações mutagênicas, teratogênicas ou carcinogênicas em animais e humanos mesmo em pequenas concentrações (Benett & Klich, 2003). Dentre as micotoxinas principais presentes em alimentos, destacam-se as aflatoxinas, ocratoxina A, fumonisinas, zearalenona, desoxinivalenol, nivalenol, ácido ciclopiazônico e patulina (Kumar et al., 2008).

A microbiota fúngica a que mais atinge os grãos de arroz armazenados, são de três gêneros: *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* (Pitt, 2000). Outros gêneros como *Eurotium* e *Alternaria* são encontrados em menores proporções (Park et al., 2004).

No Brasil, as aflatoxinas têm sido encontradas frequentemente em amendoim, milho, feijão e rações (Silva, 2003). Em arroz, poucos são os relatos e os níveis de incidência são baixos quanto à presença de ocratoxina A e de aflatoxinas (Nunes et al., 2003).

Este estudo teve como objetivo identificar a microbiota fúngica presente em amostras de arroz (*Oriza sativa* L.) beneficiado e comercializado em Lavras-MG e cidades do sul do estado, avaliar o potencial aflatoxigênico das espécies pertencentes à Seção *Flavi* isoladas e identificadas e verificar os níveis de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em amostras de arroz.

## CAPÍTULO 1: ARROZ (*Oriza sativa* L): ASPECTOS HISTÓRICOS E NUTRICIONAIS

### 1 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 1.1 Origem e histórico do arroz

O arroz é originário da Ásia, mais precisamente do sul da China, onde é cultivado há pelo menos 7 mil anos. No século VII foi levado à Europa pelas mãos dos árabes e de lá chegou ao Brasil, trazido pelos portugueses. Hoje, é um dos alimentos mais consumidos no mundo, sendo ingrediente principal de vários pratos típicos de diferentes culturas (Pereira, 2002b).

Não se conhece definitivamente, o lugar geográfico onde se iniciou o cultivo do arroz, porém, há três regiões que foram inicialmente as pioneiras: China, Índia e Indonésia. Os indícios do cultivo de arroz na Índia datam de 1000 a.C. na Indonésia 1500 a.C., na China 7000 a.C. e no Japão 100 a.C. (Pereira, 2002a).

As primeiras sementes de arroz vieram para o Brasil do arquipélago de Cabo Verde (África), sendo a primeira variedade cultivada no país o arroz vermelho na Capitania de Ilhéus, atualmente estado da Bahia. No ano de 1765, o arroz branco foi trazido pelos portugueses e introduzido simultaneamente no Maranhão e no Rio de Janeiro (Pereira, 2002a).

Das mais de vinte espécies de arroz conhecidas no planeta atualmente, há apenas duas formas domesticadas: *Oryza sativa* L. na Ásia e *Oriza glaberrima* Steud. na África ocidental (Prochnow, 2002).

Segundo Prochnow (2002), *Oryza sativa* L. é cultivada em maior número que *O. glaberrima* e está distribuída nas regiões tropicais e subtropicais da Ásia, Europa, Austrália e Américas do Sul, Central e Norte.

A espécie *O. sativa* L. se originou em Bengala-Índia e compreende mais de 10.000 cultivares, divididos em Japônica, Índica e Javânica. O grupo Índico, chamado Continental é cultivado nas regiões tropicais do Brasil, Índia, Birmânia e Ceilão. O grupo japonico compreende as variedades tropicais, chamado “Temperada-Insular” é cultivada nas regiões temperadas do Japão, Itália, Espanha e Egito. As do grupo Javânica são consideradas intermediárias entre os dois grupos, sendo cultivadas nas regiões equatoriais como Indonésia, recebendo a denominação de “Tropical Insular” conforme (Pereira, 2002b).

O longo período em que o arroz é cultivado no Brasil fez com que a cultura desenvolvesse ampla adaptação ambiental às condições de solo e clima brasileiros, os quais são bastante diversos dos encontrados no continente asiático (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa, 2006). Observam-se culturas tanto em terras profundamente inundadas como em áridas e espécies tolerantes às águas de inundação, a alta salinidade, aos metais tóxicos como o alumínio e o ferro também estão surgindo (Juliano, 1994).

O arroz no Brasil é cultivado em dois ecossistemas, várzeas e terras altas. As várzeas constituem áreas geralmente planas às margens de córregos e rios, sob excesso de umidade. O plantio de arroz de terras altas é também conhecido como arroz de terra firme sem irrigação (arroz de sequeiro ou arroz aeróbico). A cultura é mais comum na Ásia, na América Latina e na África. No Brasil, a produção concentra-se nas regiões Centro-Oeste, Mato Grosso e Goiás representando 43,3% da área total cultivada com este produto; Nordeste, Piauí e Maranhão (37,8%); e Norte, Pará e Rondônia (18,9%). O sistema de produção de arroz irrigado por inundação é o mais expressivo, representando 80% do arroz produzido no mundo (Barrigossi et al., 2004).

## **1.2 Produção nacional e internacional do arroz**

O arroz (*Oriza sativa* L.) é cultivado nos cinco continentes, com área plantada de 150 milhões de hectares conforme Santos et al. (2006) e atualmente a produção é estimada em 638 milhões de toneladas em casca, sendo considerado um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo conforme Villar (2007).

Comparando com as outras commodities agrícolas, o arroz ocupa o 3º lugar na escala nacional de produção de alimentos agrícolas, sendo que a soja e o milho ocupam os primeiro e segundo lugar respectivamente, conforme Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2006).

Em relação à escala mundial o Brasil é o 6º produtor mundial de arroz, sendo o primeiro lugar ocupado pela China seguida da Índia de acordo com Villar (2007). Os principais estados brasileiros produtores de arroz são: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Mato Grosso, Maranhão e Pará (Embrapa, 2006). Rio Grande do Sul e Santa Catarina são juntos responsáveis por mais de 50% da produção nacional (Azambuja et al., 2004).

Segundo Rocha (2008), dados estimados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2006) o Brasil terá uma produção de 12 milhões de toneladas de arroz em 2008, crescimento de 8,5% em relação à safra de 2007 a qual registrou produção de 11 milhões de toneladas de arroz.

O consumo médio de arroz no Brasil varia de 74 a 76 Kg/hab./ano, tomando-se por base o grão em casca (Embrapa, 2005). Apesar de ser inferior ao consumo mundial médio por habitante (84,8 kg/hab/ano), este valor é considerado alto se comparado com o consumo *per capita* dos países desenvolvidos que em uma média de 16,7 kg/hab/ano (FAO, 2004).

### 1.3 Aspectos nutricionais do arroz

Vários são os fatores que podem afetar a composição nutricional do grão de arroz, como a variação fenotípica, condições de umidade, fertilizantes, qualidades de solo, processamento, armazenamento entre outros (Sujatha et al., 2006).

O arroz é considerado um dos alimentos com melhor balanceamento nutricional, fornecendo 20% da energia e 15% das proteínas *per capita* necessárias ao homem e por ser uma cultura extremamente versátil apresenta o maior potencial para o combate a fome no mundo (Brondani et al., 2006).

Na tabela 1, está descrita a composição nutricional do grão de arroz.

**TABELA 1** Composição aproximada em porcentagem dos componentes do arroz

<b>Produto</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Gordura (%)</b>	<b>Fibras (%)</b>	<b>Cinzas (%)</b>	<b>Carboidratos (%)</b>
Arroz bruto	5,8 - 7,7	1,5 - 2,3	7,2 - 10,4	2,9 - 5,2	64,0 - 73,0
Arroz integral	7,1 - 8,3	1,6 - 2,8	0,6 - 1,0	1,0 - 1,5	73,0 - 87,0
Arroz polido	6,3 - 7,1	0,3 - 0,5	0,2 - 0,5	0,3 - 0,8	77,0 - 89,0
Farelo de arroz	11,3-14,9	15,0-19,7	7,0-11,4	6,6-9,9	34,0-62,0
Casca de arroz	2,0-2,8	0,3-0,8	34,5-45,9	13,2-21,0	22,0-34,0

Fonte: Juliano (1994).

A maior parte dos nutrientes se encontra no farelo e com o beneficiamento, há perda das vitaminas principalmente tiamina, riboflavina e niacina que estão presentes no grão, dos minerais fósforo, sódio, magnésio, manganês, zinco, ferro e potássio, além da gordura, da proteína e das fibras totais. A vitamina A, C e D são inexistentes no grão de arroz (Juliano, 1994).

Conforme Storck (2004), ao se comparar as características nutricionais entre os subgrupos integral, polido e parboilizado observa-se que o primeiro apresenta maior teor de matéria mineral, gordura bruta, fibra total e insolúvel, o parboilizado maior conteúdo de amido resistente e o polido, maior conteúdo de amido digestível.

A maior fração de lipídios está nas camadas periféricas conforme Stork (2004). O conteúdo lipídico do grão integral pode representar até 3% e do arroz polido menos de 1% conforme Taira (1995). A presença de ácidos graxos insaturados oléico e linoléico no farelo auxilia na prevenção de doenças cardiovasculares Zhou et al. (2003).

O conteúdo protéico do arroz (grão cru), em média de 7,5% (base úmida) pode oscilar entre 5 e 13% pelas diferenças varietais (Kennedy & Burlingame, 2003). A proteína do arroz é constituída por diferentes frações protéicas – albumina, globulina, prolamina e glutelina. A glutelina é a maior fração presente no grão (70% a 80% da proteína total) conforme Taira (1995).

A FAO estabeleceu como valores de referência para a avaliação da composição das proteínas alimentares as necessidades em aminoácidos essenciais em crianças em idade pré-escolar. O arroz possui alto nível de aminoácidos enxofrados e baixo de lisina. Assim, a Organización Mundial de la Salud - OMS (1985) estabeleceu que a proporção de lisina presente na proteína do arroz em relação ao padrão, chamado escore de aminoácidos essenciais, EAE, é de 66% para o arroz polido e de 69% para o arroz integral; valores superiores ao do milho e do trigo, cerca de 50%.

Recentemente, foi demonstrado que o consumo regular diário da mistura arroz e feijão de todas as classes sociais está associado à diminuição dos riscos de câncer oral conforme Marchioni et al. (2007). A combinação arroz e feijão é uma mistura nutricional perfeita capaz de atender às necessidades de aminoácidos de indivíduos de todas as idades.

Em relação ao cozimento, de acordo com a Tabela 2, mesmo que haja perda dos nutrientes, parte ainda se conserva principalmente no arroz integral. O parboilizado se destaca em relação à presença de cálcio e vitamina B1 (tiamina) após o cozimento.

**TABELA 2** Composição nutricional dos grãos de arroz polido, parboilizado e integral cru e cozido

Componente	Integral		Polido		Parboilizado	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Água (%)	12,0	70,3	12,0	72,6	10,3	73,4
Proteína (%)	7,5	2,5	6,7	2,0	7,4	2,1
Gordura (%)	1,9	0,6	0,4	0,1	0,3	0,1
Carboidrato (g)	77,4	25,5	80,4	24,2	81,3	23,3
Fibra (g)	0,9	0,3	0,3	0,1	0,2	0,1
Cinza (g)	1,2	1,1	0,5	1,1	0,7	1,1
Cálcio (mg)	32	12	24	10,0	60	19
Fósforo (mg)	221	73	94	28	200	57
Potássio (mg)	214	70	92	28	150	43
Tiamina (mg)	0,34	0,09	0,07	0,02	0,44	0,11
Riboflavina (mg)	0,05	0,02	0,03	0,01	--	--
Niacina (mg)	4,7	1,4	1,6	0,4	3,5	1,2

Fonte: Castro et al. (1999).

#### 1.4 Classificação dos grupos de arroz

Conforme Embrapa (2005), o processo de beneficiamento de arroz resulta em 65 a 75% de grãos polidos (inteiros e quebrados), 19 a 23% de casca, 8 a 12% de farelo e 3 a 5% de impurezas. O arroz tipo 1 representa, hoje, 70 a 80% do mercado de arroz polido branco. O parboilizado encontra-se em expansão, representando 20% (1,5 milhões de toneladas) da demanda de arroz beneficiado, que é de 7,2 milhões de toneladas.

A classificação do arroz está regulamentada conforme determinado pela Portaria do Ministério da Agricultura nº 269 de 17/11/1988 (Brasil, 1988) descrita na Tabela 3 abaixo.

**TABELA 3** Classificação do arroz conforme o tipo de processamento

Grupo	Subgrupo	Classe	Tipo
Casca	Natural	Longo Fino	1
	Parboilizado	Longo	2
Beneficiado	Integral	Médio	3
	Parboilizado	Curto	4
	Parboilizado	Misturado	5
	Integral		
	Polido		

Fonte: Barata (2005)

#### 1.4.1 Arroz polido

É a forma mais consumida na maioria das regiões brasileiras. Depois de retirada a casca, o grão passa por um processo de beneficiamento, onde é feito um polimento. Assim, ocorre a remoção da película e do embrião (germe), através de máquinas que promovem o atrito entre os grãos. A remoção das camadas periféricas e do germe, durante o polimento do grão integral, provoca perdas consideráveis de certos nutrientes. O beneficiamento do arroz polido caracteriza-se também por gerar dois subprodutos: o farelo e a quirera (grãos quebrados).

O polimento do grão integral provoca perdas consideráveis de certos nutrientes, tais como lipídios e tiamina (cerca de 80%), fibra e niacina (até quase 70%) e ferro e zinco (em torno de 50%) de acordo com Hunt et al. (2002).

As deficiências de micronutrientes são comuns em países onde o arroz é alimento básico como Bangladesh, Índia, Indonésia e Vietnã sendo causadas pela ausência de vitamina A, tiamina e riboflavina. Recentemente, foi desenvolvido o arroz dourado ou “golden rice” que tem os valores de vitamina A e de ferro aumentados, sendo uma alternativa promissora na prevenção de doenças relacionadas à visão e a anemia conforme Storck (2004).

#### **1.4.2 Arroz integral**

O arroz sofre apenas a retirada da casca, não sendo submetido ao polimento. No processo de beneficiamento do arroz integral conforme Vieira et al. (1999), inicialmente, há a amostragem para verificação de seu índice de umidade e qualidade sendo após, removida a casca protetora do grão cuidadosamente para evitar rachaduras e ao término o arroz é conduzido por uma câmara de aspiração, onde os grãos descascados são separados da casca, por sucção. Os grãos com casca, denominados marinheiros são separados pelo separador de marinheiros e reprocessados.

Segundo Almeida et al. (2002), o arroz integral, apesar de ser mais enriquecido em fibras, vitaminas e sais minerais, é o menos consumido pela população brasileira devido ao seu alto custo, pequena vida de prateleira e sabor diferenciado.

Os fatores antinutricionais presentes no arroz integral, com exceção do fitato desnaturam-se. Assim, mesmo após o cozimento, o fitato continua presente, quelando íons especialmente ferro, cálcio e zinco, resultando na formação de sais bastante insolúveis, com baixa biodisponibilidade (Storck et al., 2004). Conforme Agte et al. (1999) o efeito negativo do fitato sobre a absorção dos minerais ferro e

zinco pode ser minimizado pelo tratamento térmico ou anulado quando quantidades apreciáveis de vitamina C estão presentes na mesma refeição de acordo com Siegenberg et al. (1991), citados por Naves (2007).

O arroz integral e o parboilizado satisfazem quantidades expressivas de vitaminas hidrossolúveis, particularmente tiamina e niacina, visto que 100 g de arroz integral perfazem aproximadamente um terço dos valores de referência dessas vitaminas para a população adulta brasileira conforme Vannucchi et al. (1990).

Segundo Storck et al. (2004), o consumo 100 grs de arroz integral pode suprir 10,7 de ferro e 94% de magnésio.

No Japão, resultados de pesquisas demonstraram a eficácia do consumo do arroz integral pré-germinado contra a doença de Alzheimer. Baseados em experimentos com animais, eles confirmaram que é possível que a ingestão contínua de arroz integral efetivamente iniba a deficiência de aprendizagem e memória induzida pela proteína beta-amilóide, uma das causadoras da doença (Mamiya et al., 2004).

### **1.4.3 Arroz parboilizado**

A palavra parboilizado teve origem na adaptação do termo inglês parboiled proveniente da aglutinação de partial + boiled, ou seja, “parcialmente fervido”. O Brasil é detentor da tecnologia de arroz parboilizado mais avançada do mundo. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Arroz Parboilizado (ABIAP), aproximadamente um quarto do total de arroz produzido no Brasil e no mundo é parboilizado representando 25% do total de arroz consumido no Brasil e no mundo. Em Santa Catarina no Brasil, o consumo desse tipo arroz é muito grande, onde também se concentram as indústrias de parboilização de acordo com Barata (2005).

A classificação deste subgrupo de arroz pode ser parboilizado polido e parboilizado integral. A distinção entre ambos se faz após o processo hidrotérmico, onde o primeiro sofre o polimento ou brunição, com ausência da camada de farelo e o segundo não, permanecendo a camada de farelo. Segundo Amato et al. (2002), a concentração de nutrientes no parboilizado em relação ao integral é menor, como as vitaminas, mas por outro lado, não traz o problema da biodisponibilidade causada pelo integral.

O processo para a obtenção deste subgrupo de arroz inicia-se antes do descascamento, onde os grãos são pré-cozidos, ou seja, são submetidos ao encharcamento em água quente com temperatura até 68° C e após, ao processo de gelatinização do amido em autoclave ou estufa a temperatura superior a 78°C. Nesta etapa, os nutrientes (sais minerais e vitaminas hidrossolúveis) passam da casca e da película para o interior do grão, o endosperma, objetivando o processo, que é o enriquecimento dos grãos segundo Amato et al. (2002).

O arroz parboilizado polido contém teores expressivamente, mais elevados de tiamina, riboflavina e niacina que o produto polido não submetido ao processo hidrotérmico (Pereira, 2002a). Santos et al. (2006), consideram que a parboilização aumenta o teor de niacina e tiamina no arroz de duas a quatro vezes, comparando-se com o arroz branco. Amato et al. (2002) afirmam que o teor de tiamina em arroz parboilizado foi 150% maior que em arroz branco e quanto aos sais minerais, as concentrações são significativamente maiores no parboilizado, devido ao processo hidrotérmico. Para Storck et al. (2004) a parboilização aumentou a quantidade de minerais tais como manganês (223%), fósforo (177%) em relação ao arroz branco, não afetando o teor de magnésio.

Existe atualmente, uma variedade de produtos à base de arroz, tais como: arroz enriquecido com vitaminas; arroz de cozimento rápido, arroz enlatado (sopas); arroz expandido ou inflado (cereais matinais), arroz de variedades aromáticas, farinhas à base de arroz (alimentos infantis); bebidas (saquê e sucos);

amido de arroz, utilizado tanto na indústria farmacêutica como na de cosméticos, conforme Vieira et al. (1999).

O consumo de arroz como alimento básico é recomendado visando à manutenção do peso saudável e à prevenção de doenças crônicas não-infecciosas (especialmente obesidade, doenças cardiovasculares e câncer) conforme World Health Organization - WHO (2003).

Kim et al. (2003), observaram que a hiperlipidemia podem ser controladas usando amido resistente, especialmente proveniente do arroz, que exerceu maior potencial quando comparado ao amido resistente do milho além da importância desta fração também prevenir constipação, diverticulose e hemorróidas. Esta forma de amido está presente no arroz parboilizado.

Em relação à presença de fungos e micotoxinas, Amato et al. (2002) alertam que como os grãos sofrem uma soldagem durante a gelatinização, pode ocorrer uma internalização da contaminação fúngica, pois, os microrganismos tendem a se acumular junto à fratura, sendo internalizados durante a soldagem.

Além disso, conforme Castells et al. (2007), os mais altos níveis de micotoxinas são detectados no farelo e na casca do arroz. Conforme Liu et al. (2006), com o descascamento a maioria das aflatoxinas de grãos de arroz foram removidas.

Coelho et al. (1999) esclarece que na parboilização as micotoxinas podem migrar destas frações para o endosperma, durante o processo. Dors et al. (2008) testaram no processo de parboilização vários tempos de migração de micotoxinas e observaram que a menor migração de aflatoxinas B1 ocorreu em tempo de encharcamento 6h e de gelatinização 30 minutos.

De acordo com o nível de contaminação da matéria-prima, o arroz parboilizado poderá conter nível maior ou menor nível de contaminação fúngica.

### **1.5 Fungos toxigênicos e suas micotoxinas associadas à cadeia alimentar**

A presença de espécies micotoxigênicas é um dos pré-requisitos para que haja produção de micotoxinas em produtos agrícolas, mas não implica a sua produção. Para produzir micotoxinas numa dada planta, o fungo toxigênico tem de ser capaz de colonizar e infectar a planta bem como produzir a micotoxina nos tecidos do hospedeiro de acordo com Payne (1990).

Conforme Arnolds (1997) produtos agrícolas diferentes não têm a mesma microbiota, mesmo em locais próximos, e os mesmos produtos em variadas partes do globo exibem microbiota constituídas por espécies que apresentam perigos micotoxigênicos diferentes.

O conhecimento da microbiota dum dado produto num local possibilita-nos prever os riscos de contaminação e restringir as pesquisas às eventuais micotoxinas presentes (Frisvad & Samson, 1991)

Os fungos micotoxigênicos associados à cadeia humana alimentar pertencem principalmente a três gêneros: *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. As espécies *Fusarium* são patógenas de plantas produzindo micotoxinas antes ou imediatamente após a colheita. Os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* são contaminantes geralmente encontrados em vegetais e alimentos durante a secagem e o armazenamento (Pitt et al., 1997).

Poucos são os fungos que têm ampla importância econômica como *Aspergillus flavus*. É patógeno de plantas, animais e insetos causando apodrecimento em numerosos produtos armazenados além de produzir micotoxinas como aflatoxina B1. Como patógenos humanos, a espécie de *Aspergillus flavus* atinge mais as pessoas imunossuprimidas (Klich, 2007a).

A Tabela 4 apresenta as principais espécies responsáveis pela produção de micotoxinas em alimentos.

**TABELA 4** Principais espécies responsáveis pela produção de micotoxinas

Micotoxina	Espécies produtoras
Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>A. parasiticus</i> ; <i>A. nomius</i> .
Ocratoxina A	<i>Aspergillus ochraceus</i> ; <i>A. alliaceus</i> ; <i>A. niger</i> ; <i>A. carbonarius</i> <i>Penicillium verrucosum</i> ; <i>P. nordicum</i>
Tricotecenos	<i>Fusarium spp.</i>
Zearalenona	<i>F. graminearum</i> , <i>Fusarium spp.</i>
Fumonisinias	<i>F. verticillioides</i> ; <i>F. proliferatum</i>
Citrinina	<i>P. citrinum</i> ,; <i>P. verrucosum</i>
Ácido penicílico	<i>A. ochraceus</i> ; <i>P. aurantiogriseum</i> ; <i>P. viridicatum</i>
Patulina	<i>P. expansum</i> ; <i>A. clavatus</i>
Esterigmatocistina	<i>Aspergillus versicolor</i> ; <i>Emericella nidulans</i>
Ácido tenuazónico	<i>Alternaria alternata</i>
Penitrem A	<i>Penicillium crustosum</i>
Alcalóides do ergot	<i>Claviceps spp.</i>
Ácido ciclopiazónico	<i>A. flavus</i> ; <i>A. tamarii</i> ; <i>P. commune</i>

Fonte: Silva (2005)

Outras espécies produtoras de aflatoxinas, por serem encontradas com menos frequência na natureza, não estão listadas acima: *A.pseudotamarii*, *A. bombysis* e *A. parvisclerotigenus* (Klich, 2007a). A quantidade de toxinas produzidas por *A.pseudotamarii* e *A. bombysis* é maior que  $10^6 \mu\text{g/Kg}$  que é um número bastante elevado ao se comparar com a espécie de *Aspergillus flavus*, onde cerca da metade das suas linhagens não produzem toxinas (Benett et al., 2007). Quatro espécies não pertencentes à Seção *Flavi* podem produzir aflatoxinas: *A. ochraceoroseus*, *A. rambellii*, *Emericella venezuelensis* e *E. astellata* (Frisvad et al., 2005).

Os isolados da espécie *A.flavus* são a principal fonte de aflatoxinas, as mais importantes micotoxinas em alimentos. Alguns isolados produzem aflatoxina B e outros ácido ciclopiazônico (Pitt & Hocking, 1997).

Quanto à localização das espécies do gênero *Aspergillus* são mais frequentes em climas tropicais que em climas temperados e crescem mais

rapidamente que as do gênero *Penicillium*, apesar de tardarem mais a esporular (Pitt & Hocking, 1997).

As espécies de *Aspergillus* são de grande importância econômica devido à capacidade bioquímica de produzir enzimas que são utilizadas nas indústrias de panificação e cervejeira, em antibióticos e ácidos orgânicos e há séculos vêm sendo empregadas na produção de alimentos fermentados, no Japão e em outros países asiáticos (Batista et al., 2000).

A Tabela 5 descreve as espécies *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* quanto aos parâmetros ecológicos.

**Tabela 5** Parâmetros ecológicos das espécies *Aspergillus flavus* e *Aspergillus .parasiticus*

Espécies ( <i>A.flavus</i> e <i>A.parasiticus</i> )	Temperatura (Crescimento)	Faixas ótimas (Crescimento)	Produção/Aflatoxina
Atividade de água – aw	Mínima : 0,80-0,83	0,99	0,98-0,99 (alta produção) 0,85 ou próxima (cessa)
Temperatura	10-12°C até 42-43 °C	20-42°C	12° C – 40°C
pH	2 até ≥ 10	-	3,0 a 8,0 (alta produção) 6,0 (cessa de produzir)

Fonte: Pitt et al. (2000)

## **1.6 Efeitos biológicos das micotoxinas e fatores que favorecem a presença em alimentos**

A Agência Internacional para a Investigação em Câncer (IARC, 1993) classificou a aflatoxina B1 como carcinogênica humana.

O carcinoma hepatocelular (HCC) é responsável por de 5,5% dos casos de cânceres mundiais, sendo o mais incidente na Ásia e na África. A aflatoxina B1 é a mais potente das aflatoxinas e tem sido implicada na etiologia do HCC. Estudos têm demonstrado que a infecção com o vírus da hepatite B durante a exposição às aflatoxinas tem aumentado o risco de HCC (Farombi, 2006).

O arroz na Coreia é a maior fonte de aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), devido à alta e a principal ingestão. Estudos em vários países africanos e tailandeses mostraram uma correlação entre o consumo de aflatoxina e a ocorrência primária de câncer de fígado em humanos (Park & Kim, 2006).

A influência das micotoxinas é comprovada também sobre metabolismo energético-protéico, com a diminuição nos níveis de hemoglobina e atuando na eficácia das vacinas. O aumento da susceptibilidade de pessoas com baixas resistências a fatores ambientais e nutricionais podem conduzir à aquisição da doença (Pitt, 2000).

As aflatoxinas são as maiores preocupações, pois elas são compostos altamente tóxicas, mutagênicas, teratogênicas e carcinogênicas e estão implicadas como agentes responsáveis pela carcinogênese hepática humana e extra-hepática (Nguyen et al., 2007).

A susceptibilidade dos seres humanos às aflatoxinas é maior em jovens. Alguns fatores como o sexo (a concentração de testosterona), a capacidade de detoxificação das micotoxinas entre os seres da mesma espécie, o estado nutricional determinam o grau de susceptibilidade (Willians et al., 2004).

A produção de micotoxinas pode dar-se ao longo das fases da cadeia alimentar: cultivo, colheita, armazenamento, transporte e processamento (Serra, 2005).

A condição da matéria-prima é fator muito importante para a diminuição dos riscos de contaminação fúngica. Alguns dos pré-requisitos essenciais para a produção de micotoxinas antes da colheita são: presença de estirpes toxigênicas; susceptibilidade do hospedeiro e nicho agroclimático favorável (Silva, 2005).

O perigo dos insetos é associado com o aumento das aflatoxinas e elas não aparecem sem injúria aparente no fruto (Klich, 2007b). A colheita mais tardia, os danos mecânicos, os fatores climáticos (granizo, seca excessiva) ou pelo próprio manuseio, além do estresse hídrico em momentos críticos do ciclo de vida da planta são fatores que contribuem para o desenvolvimento fúngico conforme Bilgrami & Choudhary (1998). O nível de contaminação por aflatoxinas em arroz pode aumentar de acordo com a estação do ano, particularmente durante as chuvosas, conforme Nguyen et al. (2007).

A secagem do arroz deve ser realizada imediatamente após a colheita e toda a sujeira deve ser removida antes do transporte para evitar fontes de inóculo posteriores. Em arroz, o nível de umidade é 13%, após a secagem, valor considerado seguro conforme FAO (2004).

Os fungos desenvolvem-se em produtos cuja atividade de água varia de 0,65 a 0,90 e teor de umidade dos grãos na faixa de 14 a 22 %. Por isto, na conservação de grãos é empregado o processo de secagem, o qual visa reduzir o teor de umidade dos produtos em níveis que a atividade de água não propicie a proliferação de fungos (Silva, 2005).

A secagem deve ser imediata ou no máximo até 24 horas após a colheita, pois o arroz recém-colhido com alto teor de umidade provoca o aquecimento natural da massa dos grãos (fermentação). Uma secagem inadequada reduzirá

Odrasticamente a qualidade dos grãos, principalmente se for semente, pois, poderá promover a morte da mesma (Soares, 2000).

Na etapa de armazenamento e transporte, o inóculo de fungos micotoxigênicos que estava presente no produto permanece, exceto se houve um pré-processamento como a desinfecção. O controle da umidade é essencial para prevenir a acumulação de micotoxinas no armazenamento (Silva, 2005).

No Japão, conforme Tanaka (2007), a contaminação fúngica e por micotoxinas em arroz armazenado raramente ocorre pois, o nível de umidade destes locais é 70% a 75%, a temperatura menor que 15°C e o conteúdo de umidade dos grãos 13-14% e uma atividade de água 0,65-0,70%.

Conforme Liu et al. (2006), boas práticas para armazenar os grãos de arroz colhidos para o consumo humano é na forma de grãos inteiros para reduzir a contaminação com aflatoxinas.

Quanto aos tipos de processamento, sabe-se que podem afetar os níveis de micotoxina presentes nas matérias-primas, podendo eliminar, reduzir ou aumentar a toxina no alimento processado conforme Silva (2005).

A contaminação pode ser gerada em toda a cadeia alimentar, principalmente na fase da pré-colheita, colheita, secagem e armazenamento do produto se as condições seguras não forem devidamente praticadas.

Oyebanji et al. (1999) inocularam em amostras de arroz estéreis uma espécie de fungo e miscelâneas compostas por *A. flavus*, *A. niger*, *P. purpurogenum* e *F. moniliforme* armazenando-as em diferentes concentrações de umidade. Observaram que com 17 e 20% de umidade ocorreu aumento no crescimento. As amostras com umidade maior ou igual a 20% apresentaram níveis elevados (>20 ppb) de aflatoxina B<sub>1</sub>. Também observaram que o inóculo de *A. flavus* e *P. purpurogenum* apresentou baixa produção de aflatoxina e a síntese máxima ocorreu apenas mediante o inóculo de *A. flavus*.

### 1.7 Fatores para a redução das aflatoxinas

Na prevenção das micotoxinas, a colheita deve ser realizada logo após a maturidade dos grãos para evitar a formação de micotoxinas. No caso dos cereais, grãos de café, frutos e sementes oleaginosas, após colheita, as culturas devem ser secas imediatamente para prevenir o aparecimento das micotoxinas. O uso de agentes anti-fúngicos pode ser usado como um complemento, mas não substitui as boas práticas (Council for Agricultural Science and Technology - CAST, 2003).

Os alimentos mais passíveis de contaminação são frutos secos como nozes, sementes oleaginosas, sendo o milho, amendoim e sementes de algodão os mais afetados conforme Pitt (2000). As razões para a incidência em tais produtos podem ser a biogeográfica, devido ao crescimento em latitudes onde *A.flavus* é mais relatado ou a preferência pela fonte de carbono que no caso de *A.flavus* são carboidratos livres e os óleos e após o endosperma (Klich, 2007b).

O cultivo de variedades resistentes aos fungos produtores são indicadas de acordo com Brown et al. (1998). Os biocompetidores que são estirpes não-aflatoxigênicas que competem com as aflatoxigênicas, parecem ser os recursos mais adequados, pois, são adaptáveis às condições ambientais de forma idêntica às toxigênicas e são biologicamente ativas. A redução no teor de aflatoxinas parece ser devida à exclusão espacial de estirpes toxigênicas e competição por recursos necessários à produção de aflatoxinas Abrunhosa et al. (2001). A exclusão competitiva tem reduzido a incidência de aflatoxinas em amendoim e em milho conforme Klich (2007b).

O potencial de certos extratos de plantas e agentes biocontroles para a redução de aflatoxinas B1 em arroz armazenado foi verificado. *Syzigium aromaticum* (5g/Kg) mostrou completa inibição de *Aspergillus flavus* e de aflatoxinas. *Curcuma longa*, *allium sativum* e *Ocimum sanctum* (5g/Kg) também foram efetivas inibindo (65%-78%) do crescimento de *A.flavus* e 72,2-85,7% da produção de aflatoxina B1. Quanto aos agentes biocontroles, *Rhodococcus*

*erytropolis* inibiu completamente a produção de aflatoxinas B1 a 25ml/Kg de concentração. Outros como *Pseudomonas fluorescences*, *Tricoderma virens* e *Bacillus subtilis* mostraram 93%, 80% e 68% de redução do crescimento de *A.flavus* e 83,7%, 72,2% e 58% de redução das aflatoxinas a 200 ml/Kg de acordo com Reddy et al. (2008).

Conforme Oliveira (2005), alguns compostos fenólicos presentes em arroz possuem atividade antifúngica sobre os fungos *A.oryzae*, *A.flavus* e *Rhizopus* spp., além da atividade antimicotoxigênica sobre a produção de aflatoxina B1.

O tipo de processamento também pode afetar os níveis de micotoxina presentes nas matérias-primas, podendo eliminar, reduzir ou aumentar a toxina no alimento processado. Park & Kim (2006), analisando o processo de cozimento comum do arroz usado na Coréia, com temperaturas em torno de 160°C verificaram uma redução de 31-36% da AFB1 em lotes naturalmente contaminados. Já no processo de cozimento à pressão a 160°C por 20 minutos à pressão de 15ib/in houve redução de 78 a 88% da AFB1.

A prevenção da formação de micotoxinas é uma forma melhor de controle comparada à detoxificação dos alimentos, considerada muitas vezes não viável devido ao alto custo e a eliminação incompleta das micotoxinas do produto devido principalmente à característica serem quimicamente estáveis conforme Klich (2007a).

Quanto à legislação para aflatoxinas no Brasil, o Ministério da Agricultura, através da Portaria nº 183 de 21/03/1996 e o Ministério da Saúde, através da Resolução RDC nº 274 da ANVISA de 15/10/02 estabelecem o limite de 20 µg/Kg para a somatória das aflatoxinas em amendoim e derivados, milho e derivados, 0,5 µg/Kg para leite fluido e 5 µg/Kg para leite em pó. Entretanto, para o arroz, a legislação seguida é a Resolução nº 34/76 da antiga comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos que estabelece para as aflatoxinas B<sub>1</sub> e G1 o

limite de 30 µg/Kg (Brasil, 1977). A Comunidade Européia admite para cereais o limite de 4 µg/Kg para a somatória de B1, G1, B2 e G2 e para B1 2 µg/Kg conforme Liu et al. (2006).

A exposição às aflatoxinas ocorre em todo o mundo e estima-se que muitos dos alimentos mundiais estejam contaminados em alguma extensão. A contaminação dos alimentos com micotoxinas é relevante quando uma população baseia a sua alimentação num tipo de produto como o arroz.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRUNHOSA, L.; PATERSON, R.R.M.; KOZAKIEWICZ, Z.; LIMA, N.; VENÂNCIO, A. **Letters in Applied Microbiology**, Braga, v.32, n.4, p.240-242, Apr. 2001.

AGTE, V.V.; TARWADI, K.V.; CHIPLONKAR, S.A. Phytate degradation during traditional cooking: significance of the phytic acid profile in cereal-based vegetarian meals. **Journal of Food Composition and Analysis**, New Delhi, v.12, n.3, p.161-167, 1999.

ALMEIDA, L.C.M.; NAVES, M.M.V. Biodisponibilidade de ferro em alimentos e refeições: aspectos atuais e recomendações alimentares. **Pediatria Moderna**, São Paulo, v.38, n.6, p.272-278, 2002.

AMATO, G.W.; CARVALHO, J.L.V.; SILVEIRA, F.S. **Arroz parboilizado: tecnologia limpa, produto nobre**. Porto Alegre: R. Lenz, 2002. 240p.OK

ARNOLDS, E.J.M. Biogeography and conservation. In: \_\_\_\_\_. **The mycota: environmental and microbial relationships**. Berlin: Springer-Verlag, 1997. v.2, p.115-131.

AZAMBUJA, I.H.V.; VERNETTI JUNIOR, F.J.; MAGALHÃES JUNIOR, A.M. Aspectos socioeconômicos da produção de arroz. In: GOMES, A.S.; MAGALHÃES JÚNIOR, A.M. de. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2004. p.23-44.

BARATA, T.S. **Caracterização do consumo de arroz no Brasil**. 2005. 93p. Mestrado (Dissertação em Agronegócios)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Disponível em: <<http://www.arroz.agr.br/site/teses/index.php>>. Acesso em: 10 out. 2007.

BARRIGOSI, J.A.; LANNA, A.C.; FERREIRA, E. **Agrotóxicos no cultivo do arroz no Brasil: análise do consumo e medidas para reduzir o impacto ambiental negativo**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. p.8. (Circular técnica, 67).

BATISTA, L.R. **Identificação, potencial toxigênico e produção de micotoxinas de fungos associados a grãos de café (*Coffea arabica* L.)**. 2000.

188p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BENNET, J.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Review**, v.16, n.3, p. 497-516, July 2003.

BILGRAMI, K.S.; CHOUDHARY, A.K. Mycotoxins in preharvest contamination of agricultural crops. In: SINHA, K.K.; BHATNAGAR, D. **Mycotoxins in agriculture and food safety**. New York: M. Dekker, 1998. p.1-43.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n.269, de 17 de novembro de 1998. Dispõe sobre a identidade, qualidade, embalagem e apresentação do arroz e revoga a portaria n.205 de 26 de agosto de 1981. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 17 nov. 1988.

BRONDANI, G.; VEY, I.H.; MADRUGA, S.R.; TRINDADE, L.L.de; VENTURINI, J.C. Diferenciais de custos em culturas de arroz: a experiência do Rio Grande do Sul. **Revista Universo Contábil**, Blumenau, v.2, n.1, p.61-74, jan./abr. 2006.

BROWN, R.L.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T.E.; CARY, J.W. Recent advances in preharvest prevention of mycotoxin contamination. In: SINHA, K.K.; BHATNAGAR, D. **Mycotoxins in agriculture and food safety**. New York: M. Dekker, 1998. p.351-379.

CASTELLS, M.; RAMOS, A.J.; SANCHIS, V.; MARÍN, S. Distribution of total aflatoxins in milled fractions of hulled rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Lleida, v.55, p.2760-2764, 2007.

COELHO, C.S.P.; FURLONG, E.B.; ALMEIDA, T.L. Migração de micotoxinas durante a parboilização do arroz. **Journal of Food Technology**, v.1, n.2, p.39-44, 1999.

COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY. **Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems**. New York, 2003. (Task force report, 139).

DORS, G.C.; PINTO, L.A.A.; FURLONG, E.B. Migration of mycotoxins into rice starchy endosperm during the parboiling process. **Food Science and Technology**, Lleida, v.30, p.1-5, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultivo do arroz irrigado no Brasil**. 2005. (Sistemas de produção, 3). Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrigadoBrasil/cap04\\_tabelas.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrigadoBrasil/cap04_tabelas.htm)>. Acesso: 10 jun. 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultivo do arroz em terras altas no Estado do Mato Grosso**. 2006. (Sistema de produção, 7). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozTerrasAltasMatoGrosso/clima.htm>>. Acesso em: 2 jun. 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Rice and human nutrition: international year of the rice**. 2004. disponível em: <[http://www.fao.org/rice2004/index\\_em.htm](http://www.fao.org/rice2004/index_em.htm)>. Acesso em: 20 set. 2008.

FAROMBI, E.O. Aflatoxin contamination of foods in developing countries: implications for hepatocellular carcinoma and chemopreventive strategies. **African Journal of Biotechnology**, Pretoria, v.5, n.1, p.1-14, Jan. 2006.

FRISVAD, J.C.; SAMSON, R.A. Filamentous fungi in foods and feeds: ecology, spoilage and mycotoxin production. In: ARORA, D.K.; MUKERJI, K.G.; MARTH, E.H. **Handbook of applied mycology: foods and feeds**. New York: M. Dekker, 1991. v.3, p.31-68.

FRISVAD, J.C.; SKOUBOB, P.; SAMSON, R.A. Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambelli* sp. **Systematic and Applied Microbiology**, London, v.28, p.442-453, 2005.

HUNT, J.R.; JOHNSON, L.K.; JULIANO, B.O. Bioavailability of zinc from cooked Philippine milled, undermilled, and brown rice, as assessed in rats by using growth, bone zinc, and zinc-65 retention. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.50, n.18, p.5229-5235, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Soja bate novo recorde de produção em 2006, arroz e trigo tem maior queda**. 2006. Disponível em: <<http://www.agrosoft.org.br/agropag/25153.htm>>. Acesso em: 15 jul. 2008.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Some naturally occurring substances**: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon, 1993. 397p.

JULIANO, B.O. **El arroz en la nutrición humana**. Roma: FAO, 1994. 176p. (Colección FAO. Alimentación y Nutrición, 26).

KENNEDY, G.; BURLINGAME, B. Analysis of food composition data on rice from a plant genetic resources perspective. **Food Chemistry**, v.80, p.589-596, 2003.

KIM, W.K.; CHUNG, M.K.; KANG, N.E.; KIM, M.H.; PARK, O.J. Effect of resistant starch from corn and rice on glucose colonic events and blood lipid concentrations in streptozocin-induced diabetics rats. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v.14, p.166-172, 2003.

KLICH, M.A. *Aspergillus flavus*: the major producer of aflatoxin. **Molecular Plant Pathology**, v.8, n.6, p.713-722, 2007a.

KLICH, M.A. Environmental and developmental factors influencing aflatoxin production by *Asp.flavus* and *Asp. parasit*. **Mycoscience**, Tokyo, v.48, p.1-80, 2007b.

KUMAR, V.; BASU, M.S.; RAJENDRAN, T.P. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. **Crop Protection**, v.27, p.891-905, 2008.

LIU, Z.; GAO, J.; YU, J. Aflatoxins in stored maize and rice grains in Liaoning Province, China. **Journal of Stored Products Research**, v.42, p.468-479, 2006.

MAMYA, T.; ASANUMA, T.; KISSE, M.; ITO, Y.; MIZUKUCHI, A.; UKAI, M. Effects of pre-germinated brown rice on b-amyloid protein-induced learning and memory deficits in mice. **Biology Pharmacology**, v.27, n.7, p.1041-1045, Apr. 2004.

MARCHIONI, D.M.L.; FISBERG, R.M.; GUIMARÃES FILHO, J.F.G.; KOWALSKI, L.P.; CARVALHO, M.B. de; ABRAHÃO, M.; LATORRE, M.R.D.O. Fatores dietéticos e câncer oral: um estudo caso-controle na região metropolitana de São Paulo, Brasil. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.23, n.3, p.553-564, 2007.

NAVES, M.M.V. Características químicas e nutricionais do arroz. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v.25, n.1, p.51-60, jan./jun. 2007.

NUNES, I.L.; MAGAGNI, G.; BERTOLIN, T.E.; FURLONG, E.B. Arroz comercializado na região sul do Brasil. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, v.23, n.2, p.190-194, maio/ago. 2000.

NGUYEN, M.T.; TOZLOVANU, M.; IRAN, T.L.; PFOHL-LESZKOWICZ, A. Occurrence of aflatoxin B1, citrinin and ochratoxin A in rice in five provinces of the central region of Vietnam. **Food Chemistry**, v.105, p.42-47, 2007.

OLIVEIRA, M. **Inibição do crescimento fúngico e sua produção de micotoxinas por compostos fenólicos presentes em vegetais e seus resíduos**. 2005. 121p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Informe de una reunión consultiva conjunta FAO/OMS/UNU: necesidades de energía y de proteínas**. Ginebra, 1985. 724p.

OYEBANJI, A.O.; EFIUVWERE, B. Growth of spoilage mould and aflatoxin B1 production in naturally contaminated or artificially inoculated maize as influenced by moisture content under ambient tropical condition. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.44, p.209-217, 1999.

PARK, J.W.; KIM, E.K.; KIM, Y.B. Estimation of the daily exposure of Koreans to aflatoxin B1 through food consumption. **Food Additives and Contaminants**, Sidney, v.21, p.70-75, 2004.

PARK, J.W.; KIM, Y.B. Effect of pressure cooking on aflatoxin B1 in rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.2431-2435, 2006.

PAYNE, G.A. Process of contamination by aflatoxin-producing fungi and their impact on crops. In: SINHA, K.K.; BHATNAGAR, D. **Mycotoxins in agriculture and food safety**. New York: M. Dekker, 1990. p.279-306.

PEREIRA, J.A. **Cultura do arroz no Brasil: subsídios para a sua história**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2002a. 226p.

PEREIRA, J.A. **Tecnologia e qualidade de cereais: arroz, trigo, milho e aveia**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002b. 130p.

PITT, J.I. Toxigenic fungi: which are important? **Medical Mycology**, v.38, n.1, p.17-22, 2000.

PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and food spoilage**. 2.ed. Cambridge: Chapman & Hall, 1997. 593p.

PITT, J.I.; HOCKING, A.D.; BHUDHASAMAI, K.; MISCAMBLE, B.F.; WHEELER, K.A.; TANBOON-EK, P. The normal mycoflora of commodities from Thailand. 2: beans, rice, small grains and other commodities. **International Journal of food Microbiology**, v.23, p.35-53, 1997.

PROCHNOW, R. **Alternativas tecnológicas para a produção integrada de arroz orgânico**. 2002. 174p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

REDDY, K.R.N.; REDDY, C.S.; MURALIDHARAN, K. Potencial of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* infecting rice grains. **Food Control**, New Delhi, v.20, n.2, p.173-178, Feb. 2008.

ROCHA, D. **Safra de grãos deverá crescer 3,1% em 2008 divulga Conab**. Disponível em: <<http://brasilatual.com.br/sistema/?p=951>>. Acesso em: 15 jul. 2008.

SANTOS, A.B.; STONE, L.F.; VIEIRA, N.R. **A cultura do arroz no Brasil**. 2.ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 1118p.

SERRA, R.M.A. de. **Microflora das uvas portuguesas e seu potencial para a contaminação das uvas com micotoxinas, com destaque para a ocratoxina**. 2005. 399p. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica)-Universidade do Moinho, Moinho.

SILVA, J.O. da. **Ocorrência de aflatoxina B1 em arroz consumido por militares do exército brasileiro por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência**. 2005. 101p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/3458/1/disserta%20c3%a7%20c3a3Ojaderpdf%5b2%5d.pdf>>. Acesso em out. 2008

SOARES, P.C.; VIEIRA, A.R.; REIS, M.de S.; CORNÉLIO, V.M. de O.; SILVA, F.O.; SOARES, A.A.; STONE, L.F.; VIEIRA, N.R. de A. **Recomendações técnicas para a cultura do arroz em Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2005. 40p. (Boletim Técnico, 75).

SOARES, A.A. **Cultura do arroz**. Lavras: UFLA, 2000. 173p.

STORCK, C.R. **Variação a composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos**. 2004. 121p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade de Santa Maria, Santa Maria.

SUJATA, S.J.; AHMAD, R.; BHAT, P.R. Physicochemical properties and cooking qualities of two varieties of raw and parboiled rice cultivated in the coastal region of Dakshina Kna, India. **Food Chemistry**, New Delhi, v.86, n.2, p.211-216, 2006.

TANAKA, K.; SAGO, Y.; NAKAGAWA, H.; KUSHIRO, M. Mycotoxins in rice. **International Journal of food Microbiology**, v.119, p.59-66, 2007.

TAIRA, H. Grain quality: physicochemical properties and quality of rice grains. In: MATSUO, T.; KUMAZAWA, K.; ISHII, R.; ISHIHARA, K.; HIRATA, H. **Science of the rice plant**. Tokyo: Food and Agriculture Police Research Center, 1995. v.2, cap.6.1, p.1063-1089.

VANNUCCHI, H.; MENEZES, E.W.; CAMPANA, A.O.; LAJOLO, F.M. **Aplicações das recomendações nutricionais adaptadas à população brasileira**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 1990. 156p.

VIEIRA, N.R. de A.; RABELO, R.R.; SILVA, S.A. **Qualidade de grãos em arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. 30p (Embrapa Arroz e Feijão, 34)

VILLAR, P.M. **Arroz**: falta de disponibilidade pesam sobre preços mundiais. 2007. Disponível: <[http://www.infoarroz.org/portal/uploadfiles/20071104205110\\_15\\_ia1007pt.pdf](http://www.infoarroz.org/portal/uploadfiles/20071104205110_15_ia1007pt.pdf)>. Acesso em: 15 jul. 2008.

WILLIAMS, J.H.; PHILLIPS, T.D.; JOLLY, P.E.; STILES, J.K.; JOLLY, C.M.; AGGARWALL, D. Human aflatoxicosis in developing countries a review of toxicology exposure potencial health consequences and interventions. **American Journal Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 80, p.1106-1122, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Geneva. 2003. Disponível em : <<http://www.fao.org/docrep/005/AC911E/AC911E00.HTM>>. Acesso: 13 abr. 2008.

ZHOU, Z.; BLANCHARD, C.; HELLIWELL, S.; ROBARDS, K. Fatty acid composition of three rice varieties following storage. **Journal of Cereal Science**, v.37, n.3, p.327-335, 2003.

## **CAPÍTULO 2**

### **INCIDÊNCIA DE FUNGOS AFLATOXIGÊNICOS E AFLATOXINAS EM ARROZ (*Oriza sativa* L.) COMERCIALIZADO EM LAVRAS-MG E CIDADES DO SUL DO ESTADO**

## RESUMO

CARVALHO, Rosilane Aparecida. Incidência de fungos aflatoxigênicos e aflatoxinas em arroz (*Oriza sativa* L.) beneficiado e comercializado em Lavras-MG e cidades do sul do estado. In: \_\_\_\_\_. **Incidência de fungos aflatoxigênicos e aflatoxinas no arroz (*Oriza sativa* L.)**. 2008. Cap.2, p.31-54. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos/Microbiologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Um dos problemas mais sérios que confrontam a qualidade do arroz é a presença de fungos produtores de micotoxinas, principalmente as espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Este estudo objetivou verificar os níveis de aflatoxinas e identificar a população fúngica associada a grãos de arroz beneficiado e comercializado em Belo Horizonte e algumas cidades do sul do estado. Foi analisado um total de 60 amostras de arroz: orgânico, parboilizado, integral, polido. Os resultados demonstraram que as espécies aflatoxigênicas identificadas foram *A. parasiticus* e *A. flavus*. Outras espécies destaques foram: *A.candidus*, *A. foetidus*, *A.niger* Agregados, etc. Utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para avaliar a incidência de aflatoxina em arroz, apenas uma apresentou contaminação de 1,2 µg Kg<sup>-1</sup>. Apesar de as amostras não apresentarem níveis de aflatoxinas que pudessem colocar em risco a segurança do produto e a saúde dos consumidores, a presença de fungos aflatoxigênicos indicam a necessidade de monitoramento da qualidade do produto em toda a cadeia produtiva.

Termos para indexação: aflatoxinas, alimentos, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*

## ABSTRACT

CARVALHO, Rosilane Aparecida. Incidence of fungi aflatoxigenic and aflatoxins in the rice (*Oriza sativa* L). benefited and marketed in Lavras-MG and cities in southern state. In: \_\_\_\_\_, **Incidence of fungi aflatoxigenic and aflatoxins in the rice (*Oriza sativa* L)**. 2008. Cap.2, p.31-54. Dissertation (Mestrado in Food Science/Microbiology)-Federal University of Lavras, Lavras, MG.

One of the most serious problems that affect the quality of rice is the presence of mycotoxin-producing fungi, especially the species belonging to the genera *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. This study aimed to check the levels of aflatoxins and identify the fungal population associated with grains of rice processed and commercialized in Belo Horizonte and some cities in the southern of Minas Gerais state. A total of 60 samples of rice: organic, parboiled, whole and polished, the incidence of aflatoxins being found in one sample. The results showed that the aflatoxigenic species identified were *A. parasiticus* and *A. flavus*. By using high performance liquid chromatography to assess the incidence of aflatoxin in rice, only one showed a contamination of 1.2 µg kg<sup>-1</sup>. Despite the presence of aflatoxigenic fungi the samples showed no levels of aflatoxin that could endanger the safety of the product and consumer health.

Index terms: aflatoxins, food, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*

## 1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L) é um dos alimentos mais importantes produzidos em todo o mundo e sua qualidade e segurança estão diretamente relacionadas à presença de fungos produtores de micotoxinas. A incidência das espécies fúngicas varia de acordo com fatores bioclimáticos e com o tipo de produção (Arnolds, 1997). O conhecimento destas espécies possibilita prever os riscos de contaminação e potencializar as pesquisas às eventuais micotoxinas presentes (Frisvad & Samson, 1991).

Dentre as micotoxinas as aflatoxinas ocupam primariamente a classe das mais incidentes e mais tóxicas que se conhecem (Aldred et al., 2004). São produzidas principalmente pelas espécies do gênero *Aspergillus* pertencentes à Seção *Flavi*: *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*. As espécies menos comum produtoras de aflatoxinas são *A.pseudotamarii*, *A. bombyosis* e *A. parvisclerotigenus* (Klich, 2007). Quatro espécies não pertencentes à seção *Flavi* podem produzir aflatoxinas: *A. ochraceoroseus*, *A. rambellii*, *Emericella venezuelensis* e *E. astellata* (Frisvad et al., 2005). Este estudo objetivou identificar as espécies fúngicas e avaliar a incidência de aflatoxinas em amostras de arroz.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Amostras**

As amostras de arroz de 1 a 5 Kg foram adquiridas em estabelecimentos comerciais das seguintes cidades: Lavras, Ribeirão Vermelho, Perdões, Belo Horizonte e Ijaci no período de março a dezembro de 2007. Todas as amostras apresentavam bom estado de conservação e estavam dentro do prazo de validade conforme indicado pelo fabricante. As análises micológicas foram realizadas no laboratório de Micologia do Departamento Ciência dos Alimentos da UFLA. Foram analisadas 60 amostras de arroz do grupo beneficiado subdivididas em quatro subgrupos: polido (48), parboilizado (3), integral (7) e orgânico (2), pertencentes às respectivas classes: longo fino, longo e curto e tipos um, dois e três. Destas, em 36 amostras foi avaliada a incidência de aflatoxinas no laboratório de Micologia da FUNED (Fundação Ezequiel Dias) em Belo Horizonte.

### **2.2 Isolamento e Identificação de fungos filamentosos**

Para o isolamento dos fungos presentes nas amostras de arroz foi utilizada a técnica de Plaqueamento Direto em meio de cultura Dicloran Rosa de Bengala Clorafenicol (DRBC) com o plaqueamento de 100 grãos por amostra após desinfecção superficial primeiramente com álcool 70%(1 min.), após hipoclorito de sódio 1%(30 s.) e lavagem três vezes com água estéril para a posterior incubação a 25° C por sete dias, conforme Samson et al. (2000). Os resultados foram expressos em porcentagem de partículas contaminadas.

Previamente a identificação, ocorreu uma etapa de isolamento e purificação, visando a posterior identificação dos fungos. Os fungos foram repicados com três pontos equidistantes em placas de petri contendo Ágar Malte

(MA) e incubados a 25 ° C por cinco a sete dias. Decorrido este período, os isolados purificados foram repicados para Czapeck Yeast Agar (CYA) a 25°C e a 37°C e Ágar Malte com adição de glicose (MEA) e incubados a 25°C por cinco a sete dias conforme Pitt e Hocking (1997).

Os isolados das seções: *Circundati*, *Flavi* e *Nigri* foram identificados de acordo com o método de Klich (2002). Os gêneros *Cladosporium* e *Fusarium* de acordo com Pitt & Hocking (1997) e *Penicillium* de acordo com Pitt (2000).

### **2.3 Avaliação do Potencial Toxigênico dos fungos identificados**

A técnica utilizada foi a Plug Agar, onde os isolados foram inoculados em meio de cultura YES (Yeast Extract Sucrose) e incubados por sete dias a 25°C conforme Filtenborg & Frisvad (1980). Foram utilizadas placas de Cromatografia de Camada Delgada – Merck – Sílica Gel 20x20 cm e a eluição ocorreu em uma cuba de vidro contendo TEF (Tolueno Acetato de Etila e Ácido Fórmico 90% - 50:40:10). A visualização foi feita a 366 nm através de Cromatovisor CAMAG (UV- Betrachter). Foram utilizados padrões de aflatoxinas B1, B2, G1, G2 e ocratoxina A (Sigma-Aldrich).

### **2.4 Análise de aflatoxinas em arroz por CLAE**

As amostras de arroz foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) descrito por Soares & Rodriguez-Amaya (1988) e a quantificação por Stroka et al. (2000) a seguir:

#### **2.4.1 Extração**

Cinquenta gramas da amostra foram pesadas em um erlenmeyer de 500 mL. Adicionou-se 270 mL de metanol p.a. e 30 mL de uma solução de cloreto de potássio 4%. O frasco foi fechado com parafilme e papel alumínio e foi colocado em agitador mecânico tipo shaker sob agitação em velocidade média por 30

minutos. Após esse tempo o conteúdo do frasco foi filtrado em papel de filtro qualitativo e 150 mL do filtrado foram recolhidos em uma proveta graduada.

#### **2.4.2 Purificação**

O filtrado foi transferido para um béquer de 600 mL, e a ele adicionaram-se 150 mL de sulfato de cobre 10% e aproximadamente 50 mL de celite. Após homogeneização a mistura foi filtrada em papel de filtro Whatman nº1 e 150 mL do filtrado foram recolhidos em uma proveta graduada.

#### **2.4.3 Partição Líquido-líquido**

O filtrado recolhido foi transferido para um funil de separação ao qual foram adicionados 150 mL de água destilada e 10 mL de clorofórmio p.a.. O conteúdo do funil foi agitado vigorosamente por 3 minutos e, após a separação das fases, a fase clorofórmica foi recolhida em um frasco âmbar ambientada em clorofórmio. Esse procedimento foi repetido com mais 10 mL de clorofórmio. O extrato clorofórmico foi evaporado em banho maria a 50°C sob atmosfera de nitrogênio. Os frascos foram então selados com parafilme, etiquetados e armazenados em a – 22°C até o momento da quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

#### **2.4.4 Análise de aflatoxinas em arroz por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

O conteúdo dos frascos foi, então, retomado com 3 mL de solução metanol:água (2:3), submetido à agitação em agitador de tubos tipo vortex por aproximadamente 60 segundos e transferido para vial do auto amostrador do CLAE após filtração em membrana de 13 mm de diâmetro e 0,45 µm de porosidade. As amostras foram analisadas por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) após derivação pós coluna com brometo de potássio e Kobra Cell,

usando um cromatógrafo líquido Shimadzu com detector de fluorescência (Shimadzu Modelo LC-10AD), excitação 420 nm, emissão 360 nm, com coluna Shim – Pack CLC – ODS, 5 µm, 4,6 x 250 mm, precedido por guarda coluna Shim – Pack G – ODS, 5 µm, 4 x 10 mm. A fase móvel (filtrada em membrana 0,45 µm e degaseificada com hélio) usada foi acetonitrila: metanol: água (2:2:6) acrescida de ácido nítrico 4 mol/L (350 µL L<sup>-1</sup>) e brometo de potássio (120 mg L<sup>-1</sup>) a um fluxo de 1 mL por minuto. Uma curva padrão de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 foi preparada em concentrações descritas na Tabela 1. Injetou-se então 50 µL das soluções padrão de aflatoxinas e dos extratos das amostras. A partir do cálculo da área dos picos das aflatoxinas dos extratos das amostras e das soluções padrões foi calculado o teor de aflatoxinas nas amostras. Nestas condições o tempo de retenção foi aproximadamente 12,2 min., 15,1 min., 16,9 min. e 21,5 min. para as aflatoxinas G2, G1, B2 e B1, respectivamente.

**TABELA 1** Curva padrão de aflatoxinas

Solução	Conc. AFB1 (ng/mL)	Conc. AFB2 (ng/mL)	Conc. AFG1 (ng/mL)	Conc. AFG2 (ng/mL)
1	79,200	98,688	125,57	79,104
2	39,600	49,344	62,784	39,552
3	19,800	24,672	31,392	19,776
4	9,900	12,336	15,696	9,888
5	4,752	5,921	7,534	4,746
6	2,376	2,961	3,767	2,373
7	0,4752	0,592	0,753	0,475

## 2.5 Performance da metodologia analítica para as aflatoxinas

Para avaliar as características de desempenho da metodologia analítica para as aflatoxinas por CLAE, amostra de arroz, isenta de aflatoxinas, foi contaminada, em duplicata, em 5 concentrações de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Contaminação por fungos filamentosos

A tabela 2 apresenta a frequência fúngica em subgrupos de amostras de arroz analisados.

**Tabela 2** Frequência de contaminação fúngica em subgrupos de arroz

Subgrupo/classe/tipo	Total/amostras	Nºamostras contaminadas	Frequência de grãos contaminados
Polido/ lf/ 1 e 2	48	43	1 a 42%
Integral	7	5	0 a 32%
Parboilizado	3	3	5 a 13%
Orgânico parb.pol.	2	1	5%
Orgânico parb.integ.	3	1	100%

Nunes et al. (2003) estudando amostras de arroz observaram que o subgrupo mais contaminado foi o polido em relação ao parboilizado e ao integral.

Segundo Amato et al. (2002), em relação à contaminação fúngica, o arroz parboilizado possui uma vantagem, pois, durante o encharcamento, devido à ausência de ar através da imersão total em água evita-se que as espécies aflatoxigênicas proliferem. A única desvantagem é que no processo de gelatinização, como os grãos sofrem uma soldagem, pode ocorrer uma internalização da contaminação fúngica, pois, os microrganismos tendem a se

acumular junto à fratura. Em arroz integral, devido à presença enriquecida de nutrientes, a proliferação fúngica pode ser mais evidenciada, principalmente se os princípios básicos de secagem e armazenamento não forem devidamente realizados. Em alimentos orgânicos, tal como o arroz, de acordo com Bourn & Prescott (2002), não há nenhuma evidência que possam ser mais susceptíveis a contaminação microbiológica que alimentos convencionais, embora, neste trabalho o maior índice de contaminação fúngica encontrado nas amostras de arroz tenha sido detectado em orgânico. Pelo fato de não ser permitido o uso de fungicidas sintéticos no sistema orgânico, poderia haver uma maior possibilidade de produção de micotoxinas. Todavia, de acordo com Kouba (2002), estudos realizados até o momento não permitem afirmar que na agricultura orgânica a produção de micotoxinas seja maior. Nos dois sistemas (orgânico e convencional) o uso de boas práticas culturais e de estocagem dos alimentos permite reduzir o risco de contaminação com micotoxinas. As formas de evitar as contaminações fúngicas nos vários subgrupos de arroz residem primordialmente na adoção de boas práticas agrícolas de secagem e armazenamento conforme Pitt (2000).

### **3.2 Incidência de fungos**

A Tabela 3 descreve os resultados obtidos após a identificação das espécies. Foram identificados 184 isolados, predominando as espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. *A. flavus* se destaca por ter sido isolado dos quatro tipos de amostras.

**TABELA 3** Frequência das espécies contaminantes em amostras de arroz

Gênero/espécie	Amostras contaminadas	Tipos/ amostras	N. isolados identificados
<i>A. candidus</i>	8	Polido (7) e Integral (1)	22
<i>A. carbonarius</i>	1	Polido (1)	1
<i>A. flavus</i>	17	Polido (14); Orgânico (1) Integral (1) e Parboilizado.(1)	31
<i>A. foetidus</i>	10	Polido (9) e integral(1)	12
<i>A. niger</i>	7	Polido (5), Integral (1) e Orgânico(1)	14
<i>A. oryzae</i>	8	Polido (5) e Integral (3)	10
<i>A. parasiticus</i>	11	Polido (9) Integral (2)	17
<i>A. versicolor</i>	3	Integral (1),Orgânico.(1) e Polido.(1)	6
<i>A. fumigatus</i>	1	Polido (1)	1
<i>A. niger</i> Agregados	10	Polido (8) e Integral (2)	14
<i>A. ostianus</i>	3	Polido (2) Integral (1)	6
<i>A. sulphureus</i>	1	Polido (1)	1
<i>A. tamari</i>	2	Polido (1) Integral (1)	2
<i>Alternaria alternata</i>	1	Polido (1)	1
<i>Aspergillus</i> .spp (Seção <i>Circumdati</i> )	1	Polido (2)	2
<i>Aspergillus</i> .spp (Seção <i>Nigri</i> )	1	Orgânico (1)	1
<i>Cladosporium</i>	1	Polido (1)	1
<i>Emericella nidulans</i>	4	Polido (2) Integral (2)	6
<i>Eurotium</i>	1	Polido (1)	2
<i>Fusarium</i> spp	3	Polido (1) e Integral (2)	3
<i>P. aurantiogriseum</i>	1	Polido (1)	1
<i>P. brevicompactum</i>	1	Polido (1)	1
<i>P. citrinum</i>	4	Polido (4)	4
<i>P. funiculosum</i>	1	Polido (1)	1
<i>P. glabrum</i>	2	Polido (2)	3
<i>P. sclerotiorum</i>	1	Polido (1)	4
<i>P. solitum</i>	2	Polido (2)	2
<i>Penicillium</i> <i>griseofulvum</i>	3	Polido (2) e Integral (1)	3
<i>Rhizopus</i> spp.	3	Polido (1) Integral (2)	7
<i>Trichoderma</i> spp.	3	Polido (3)	3

Nem todos os fungos identificados são toxigênicos. A contaminação fúngica é importante não apenas sob o ponto de vista sensorial, mas também pelo perigo que a produção de micotoxinas representa para o consumidor. (Muninbazi & Bullerman, 1996).

As espécies identificadas têm sido detectadas em diferentes tipos de arroz, de acordo com Pitt & Miscamble (1994), Chandra & Sarbhoy (1997), Lima et al. (2000) e Park et al. (2004). Hussaini et al. (2007) analisaram um total de 1062 isolados fúngicos identificados de 196 amostras de arroz da Nigéria e as principais espécies foram: *Penicilium spp*, *A.flavus*, *A.parasiticus*, *A. niger* e *Rhizopus spp*.

### **3.3 Avaliação do potencial toxigênico por Plug Ágar**

A avaliação do potencial aflatoxigênico pelo teste Plug Agar demonstrou que de 17 isolados de *A. parasiticus* testados, 14 (82,35%) foram produtores de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, representando um número muito elevado. Dos 31 isolados de *A. flavus* testados, 8 (25,80%) foram produtores de aflatoxinas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>. Estas espécies de *A. flavus* aflatoxigênicas estavam presentes em 6 amostras testadas, enquanto isolados de *A.parasiticus* aflatoxigênicos estavam presentes em 11 amostras testadas. Apesar de nem todas as linhagens de uma dada espécie serem capazes de produzir micotoxinas, a produção é bastante consistente em cultura pura, desde que se utilizem condições ótimas de produção.

## **3.4 Características de Desempenho da Metodologia Analítica**

### **3.4.1 Linearidade**

A linearidade foi avaliada na faixa de 0,4752 ng mL<sup>-1</sup> a 79,2 ng mL<sup>-1</sup> para B<sub>1</sub>; 0,592 a 98,7 ng mL<sup>-1</sup> para B<sub>2</sub>; 0,753 a 125,57 ng mL<sup>-1</sup> para G<sub>1</sub> e 0,475 a 79,1 ng mL<sup>-1</sup> para G<sub>2</sub>, e calculada a partir da equação da regressão linear, determinada pelo método dos mínimos quadrados. Foi utilizado o coeficiente de correlação

linear ( $R^2$ ) como indicador da reta como modelo matemático. Os valores sempre foram maiores que 0,99, como recomendado por Green (1996).

### 3.4.2 Recuperação e Coeficiente de Variação

Os valores determinados de recuperação e coeficientes de variação, a partir de amostras artificialmente contaminadas, são mostrados nas Tabelas 3 a 6.

**TABELA 3** Valores de recuperação e coeficientes de variação para aflatoxina B1 adicionada em arroz e quantificada por CLAE

Nível de contaminação ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Resultados ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Média ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Desvio padrão	Coeficiente de variação (%)	Recuperação (%)
0,165	0,152 0,128	0,140	0,017	12,1	84,6
0,495	0,441 0,426	0,434	0,011	2,4	87,6
1,650	1,472 1,456	0,464	0,011	0,8	88,7
2,475	1,749 1,765	0,757	0,011	0,6	71,0
8,250	7,010 6,782	0,896	0,161	2,3	83,6

**TABELA 4** Valores de recuperação e coeficientes de variação para aflatoxina B2 adicionada em arroz e quantificada por CLAE

Nível de contaminação (µg/kg)	Resultados encontrados (µg/kg)	Média (µg/kg)	Desvio padrão	Coefficiente de variação (%)	Recuperação (%)
0,206	0,159 0,133	0,146	0,018	12,6	84,6
0,617	0,532 0,584	0,558	0,037	6,6	90,5
2,056	1,853 1,858	0,855	0,004	0,2	90,2
3,084	2,453 2,476	0,459	0,008	0,4	79,9
10,28	9,216 8,895	0,055	0,227	2,5	88,1

**TABELA 5** – Valores de recuperação e coeficientes de variação para aflatoxina G1 adicionada em arroz e quantificada por CLAE

Nível de contaminação (µg/kg)	Resultados encontrados (µg/kg)	Média (µg/kg)	Desvio padrão	Coefficiente de variação (%)	Recuperação (%)
0,262	0,175 0,167	0,171	0,006	3,3	65,4
0,785	0,628 0,569	0,599	0,042	7,0	76,3
2,616	2,329 2,216	0,272	0,080	3,5	86,9
3,924	2,832 2,783	0,808	0,035	1,2	71,6
13,0	10,602 10,142	0,4	0,325	3,1	80,0

**TABELA 6** Valores de recuperação e coeficientes de variação para aflatoxina G2 adicionada em arroz e quantificada por CLAE.

<b>Nível de contaminação (µg/kg)</b>	<b>Resultados encontrados (µg/kg)</b>	<b>Média (µg/kg)</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Coefficiente de variação (%)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
0,165	0,199 0,130	0,165	0,049	29,6	99,8
0,494	0,475 0,420	0,448	0,039	8,7	90,4
1,648	1,522 1,473	0,498	0,035	2,3	90,8
2,472	1,986 1,912	0,949	0,052	2,7	78,8
8,24	6,814 6,556	0,685	0,182	2,7	81,1

Os resultados de recuperação obtidos, em todos os níveis de fortificação efetuados, revelaram que a metodologia empregada está de acordo com o estabelecido pela Lei N°401/2006 de 23/2/2006 da Commission Regulation (2006) (EC) descrita abaixo na tabela 7.

**TABELA 7** Valores de Recuperação recomendados pela Legislação Européia

Aflatoxinas	Contaminações padrão	Recuperação padrão	Recuperação obtida (%)
AFB1 AFB2 AFG1 AFG2	< 1 µg/kg	50 a 120	65,4 a 99,8
AFB1 AFB2 AFG1 AFG2	1-10 µg/kg	70 a 110	70,9 a 90,8
AFB1 AFB2 AFG1 AFG2	> 10 µg/kg	80 a 110	80 a 88,1

Em relação aos coeficientes de variação, de acordo com Horwitz et al. (1980) devem ser menores que 30% para indicarem eficiência do método. Assim, como descrito nas Tabelas 3 a 6, todos estão dentro do padrão.

O limite de detecção baseado em 3 vezes o ruído da linha de base do aparelho é de  $0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$  e o limite de quantificação 3 vezes o limite de detecção ( $0,3 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). O limite de detecção especificamente baseado em 3 vezes o ruído do sinal foi de  $0,05 \mu\text{g kg}^{-1}$  para G2,  $0,04$  para G1,  $0,02$  para B2 e  $0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$  para B1. Os limites de quantificação foram considerados 10 vezes o ruído do sinal: G2:  $0,16 \mu\text{g kg}^{-1}$ ; G1:  $0,11 \mu\text{g kg}^{-1}$ ; B2:  $0,05 \mu\text{g kg}^{-1}$  e B1  $0,07 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Esses valores atendem à Resolução n.34/76 do Ministério da Saúde, que estabelece o limite máximo de  $30 \mu\text{g kg}^{-1}$  para a soma de B1 e G1 (Brasil, 1977).

### 3.5 Aflatoxinas em arroz

De acordo com a Tabela 8, das 36 amostras de arroz somente uma estava contaminada com aflatoxina B1 (1,2  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ ). A presença de espécies potencialmente produtoras de aflatoxinas não indicou necessariamente a detecção de aflatoxinas nas amostras analisadas. Estes resultados sugerem que as espécies aflatoxigênicas não tiveram condições favoráveis para a produção de aflatoxinas. Este fato pode ser devido a alguns fatores como: a) boas práticas agrícolas e industriais; b) antagonismo fúngico reduzindo o potencial aflatoxigênico das espécies; c) presença de compostos fenólicos no arroz com atividade antifúngica sobre os fungos *A.flavus*, além da atividade antimicotoxigênica sobre a produção de aflatoxina B1 conforme Oliveira (2005).

De acordo com Klich (2007) no campo há redução na produção de aflatoxinas por *A.flavus* quando *A.niger* está presente.

**TABELA 8** Contaminação com fungos toxigênicos e aflatoxina B1

Amostras	Resultado	Fungos aflatoxigênicos
Amostra 1 a 3	ND	-
Amostra 4	ND	<i>A.parasiticus</i>
Amostra 5	ND	<i>A.parasiticus</i>
Amostra 6	ND	<i>A.parasiticus</i>
Amostra 7 e 8	ND	-
Amostra 9	ND	<i>A.parasiticus</i>
Amostra 10	ND	-
Amostra 11	ND	<i>A.parasiticus</i>
Amostra 12	ND	<i>A.parasiticus</i> e <i>A.flavus</i>
Amostra 13 a 15	ND	-
Amostra 16	ND	<i>A.parasiticus</i>
Amostra 17 a 20	ND	-
Amostra 21	ND	<i>A.flavus</i>
Amostra 22 a 34	ND	-
Amostra 35	B1 = 1,2 $\mu\text{g/kg}$	<i>A.parasiticus</i>
Amostra 36	ND	<i>A.flavus</i>

ND: Não Detectado; Limite de Detecção: 0,1  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; Limite de Quantificação: 0,3  $\mu\text{g/kg-l}$

Em estudos realizados na Índia por Reddy & Muralidharan (2009) das 1200 amostras analisadas, 67,8% estavam contaminadas com níveis que variaram de 0.1 a 308  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ . Segundo Bandara et al. (1991) no Sri Lanka encontraram níveis de AFB1 e AFG1 mais elevados em arroz parboilizado do que no arroz cru moído. A maior taxa de AFB1 foi 185  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  e AFG1 de 963  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ . A procedência dessas amostras é de uma região de umidade relativa 78% e temperatura média anual de 27°C.

Outros resultados têm demonstrado níveis mais baixos de contaminação. Conforme Park et al. (2004) na Coreia AFB1 estava presente em (5) das (88) amostras com níveis na faixa de 1,8 a 7,3  $\text{ng/Kg}^{-1}$ .

De acordo com Simionato et al. (2003), em Araraquara, de 68 amostras de arroz, duas do subgrupo polido e tipo 1 continham AFB1 na faixa de 6 e 9  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  e uma das amostras apresentou traços de aflatoxina B2. Silva (2005) analisando amostras provenientes do 5º Batalhão de suprimento do Exército Brasileiro em Curitiba (PR) observou que de um total de 26 amostras analisadas, 6 (23,07%) apresentaram positividade para aflatoxina B1 com níveis variando entre 0,54 a 2,04  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  e 1 (3,84%) apresentou presença de aflatoxina B2 com 1,4  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ .

No Brasil, conforme o procedimento descrito por Soares & Rodrigues-Amaya (1988) não houve detecção de aflatoxinas em arroz por Prado et al. (1989), Coelho et al. (1999) e Furlong et al. (1999).

A análise da presença e quantificação de aflatoxina B1 neste estudo demonstra que o arroz beneficiado e comercializado em Lavras e região sul do estado de Minas Gerais apresentou baixo índice de contaminação por aflatoxinas. Estes resultados coincidem com os níveis encontrados no Brasil conforme Silva (2005), e em relação aos mundiais conforme análise realizada por Hussaini et al. (2007) e Reddy & Muralidharan (2009) em algumas amostras de arroz os valores excedem a legislação em vigor do país podendo comprometer a vida da população. A completa eliminação dos fungos da cadeia alimentar é impossível, pois, não

existem medidas preventivas que inviabilizem o desenvolvimento fúngico e a produção de micotoxinas em alimentos conforme Amato et al. (2002). Entretanto, muitos recursos visando à prevenção fúngica estão sendo utilizados como o cultivo de espécies biocompetidoras e o cultivo de variedades resistentes aos ataques fúngicos de acordo com Brown et al. (1998). De forma que, estes cuidados não dispensam o uso de boas práticas agrícolas e industriais.

#### **4 CONCLUSÃO**

A metodologia empregada foi considerada adequada, tendo apresentado boa exatidão e precisão, demonstrando a viabilidade do método na quantificação de aflatoxinas em arroz. É baixa a contaminação com aflatoxinas em arroz comercializado em algumas cidades de Minas Gerais. A presença de fungos toxigênicos em arroz reforça a necessidade de monitorar permanentemente a qualidade do produto em toda a cadeia produtiva.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

ALDRED, D.; MAGAN, N.; OLSEN, M. Micotoxins in food: detection and control. In: \_\_\_\_\_. **The use of HACCP in the control of mycotoxins**: the case of cereals. Sweden: Woodhead, 2004. cap.7, p.73-139.

AMATO, G.W.; CARVALHO, J.L.V.; SILVEIRA, F.S. **Arroz parboilizado**: tecnologia limpa, produto nobre. Porto Alegre: R. Lenz, 2002. 240p.

ARNOLDS, E.J.M. Biogeography and conservation. In: \_\_\_\_\_. **The mycota**: environmental and microbial relationships. Berlin: Springer-Verlag, 1997. v.4, p.115-131.

BANDARA, J.M.R.S.; VITHANEGER, A.K.I.; BEAN, G.A. Occurrence of aflatoxins in parboiled rice in Sri Lanka. **Mycopathologia**, Netherlands, v.116, p.65-70, 1991.

BOURN, D.; PRESCOTT, J. A comparison of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced foods. **Critical Review Food Science Nutrition**, v.42, n.1, p.1-34, Jan. 2002.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Resolução 34/76 da Comissão de Normas e Padrões para Alimentos. Fixa padrões de tolerância para as aflatoxinas em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, pt.1, p.710, 19 jan. 1977. Seção I.

BROWN, R.L.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T.E.; CARY, J.W. Recent advances in preharvest prevention of mycotoxin contamination. In: SINHA, K.K.; BHATNAGAR, D. **Mycotoxins in agriculture and food safety**. New York: M. Dekker, 1998. p.351-379.

CHANDRA, R.; SARBHOY, A.K. Production of aflatoxins and zearalenone by the toxigenic fungal isolates obtained from stored food grains of commercial crops. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.50, p.458-468, 1997.

COELHO, C.S.P.; FURLONG, E.B.; ALMEIDA, T.L. Migração de micotoxinas durante a parboilização do arroz. **Brazilian Journal of Food Technology**, São Paulo, v.1, n.2, p.39-44, 1999.

COMMISSION REGULATION. EC n. 401/2006 of 23 february 2006: laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, v.70, p.12-34, 2006.

FILTENBORG, O.; FRISVAD, J.C. A simple screening method for toxigenic moulds in pure cultures. **Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie Lebens Wiss Technology**, Berlin, v.13, p.128-130, 1980.

FRISVAD, J.C.; SAMSON, R.A. Filamentous fungi in foods and feeds: ecology, spoilage and mycotoxin production. In: ARORA, D.K.; MUKERJI, K.G.; MARTH, E.H. **Handbook of applied mycology: foods and feeds**. New York: M. Dekker, 1991. v.3, p.31-68.

FRISVAD, J.C.; SKOUBOB, P.; SAMSON, R.A. Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambelli* sp. **Systematic and Applied Microbiology**, London, v.28, p.442-453, 2005.

FURLONG, E.B.; SOARES, L.A.S.; VIEIRA, A.P.; DADALT, G. Aflatoxinas, Ocratoxina e Zearalenona em alimentos da região sul do Rio Grande do Sul. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.58, p.105-111, 1999.

GREEN, J.M. A practical guide to analytical method validation. **Analytical Chemistry News & Features**, v.68, n.9, p.305-309, 1996.

HORWITZ, W.; KAMPS, L.R.; BOYER, K.W. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents. **Journal Association Official and Analytical Chemists**, Washington, v.63, p.1344-1354, 1980.

HUSSAINI, A.M.; TIMOTHY, A.G.; OLUFUNMILAYO, H.A.; SALAKO, E.A. GODWIN, H.O. Fungi and some mycotoxins contaminating rice (*Oriza sativa*) in Niger State, Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.6, n.2, p.99-108, 2007.

KLICH, M.A. **Identification of Common Aspergillus species**. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelculture, 2002.116p.

KLICH, M.A. Environmental and developmental factors influencing aflatoxin production by *Asp.flavus* and *Asp. parasit*. **Mycoscience**, Tokyo, v.48, p.1-80, 2007.

KOUBA, M. Qualité des produits biologiques d'origine animale. **INRA Productions Animales**, Paris, v.15, n.3, p.161-169, 2002.

LIMA, C.A.; ORSI, R.B.; DILKIN, P.; CORRÊA, B. Mycoflora and aflatoxigenic in derivatives of milled rice. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, v.20, n.1, p.37-39, 2000.

MUNINBAZI, C.; BULLERMAN, L. Molds and mycotoxins in foods from Burundi. **Journal Food Protect**, Washington, v.59, n.8, p.869-875, 1996.

NUNES, I.L.; MAGAGNI, G.; BERTOLIN, T.E.; FURLONG, E.B. Arroz comercializado na região sul do Brasil. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, v.23, n.2, p.190-194, maio/ago. 2003.

OLIVEIRA, M. **Inibição do crescimento fúngico e sua produção de micotoxinas por compostos fenólicos presentes em vegetais e seus resíduos**. 2005. 121p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PARK, J.W.; KIM, E.K.; KIM, Y.B. Estimation of the daily exposure of Koreans to aflatoxin B1 through food consumption. **Food Additives and Contaminants**, London, v.21, p.70-75, 2004.

PITT, J.I. **A laboratory guide to common *Penicillium* species**. 3.ed. Melbourne: Food Science, 2000.

PITT, J.I. Toxigenic fungi: which are important? **Medical Mycology**, v.38, n.1, p.17-22, 2000.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food Spoilage**. 2. ed. Cambridge: Chapman & Hall, 1997. 593 p

PITT, J.I.; MISCAMBLE, B.F. Water relations of *Aspergillus flavus* and closely related species. **Journal Food Protect**, Washington, v.58, n.1, p.86-90, 1994.

PRADO, G.; MATTOS, S.V.M.; PEREIRA, E.C. Níveis de aflatoxinas em alguns alimentos consumidos em Belo Horizonte no período a 1988. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.9, n.2, p.138-147, jul./dez. 1989.

REDDY, K.R.N.; MURALIDHARAN, K. Detection of *Aspergillus spp.* and aflatoxin B1 in rice in India. **Food Microbiology**, London, v.26, n.1, p.27-31, 2009.

SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C.; FILTENBORG, O. **Introduction to food-borne fungi**. 4.ed. Baarn Deft: Centralalbureau voor Schimmelcultures, 2000.

SILVA, J.O. da. **Ocorrência de aflatoxina B1 em arroz consumido por militares do exército brasileiro por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência**. 2005. 101p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba. Disponível em: <[http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/3458/1/disserta%  
c3%a7%  
c3a3Ojaderpdf%5b2%5d.pdf](http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/3458/1/disserta%c3%a7%c3a3Ojaderpdf%5b2%5d.pdf)>. Acesso em out. 2008.

SIMIONATO, E.M.R.; ASTRAY, R.M.; SILOS, C.M. Ocorrência de ocratoxina A e aflatoxinas em arroz. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.62, n.2, p.123-130, 2003.

SOARES, L.M.V.; RODRIGUES-AMAYA, D.B. Survey of aflatoxins, Ochratoxin A, Zearalenone, and Sterigmatocystin in some brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. **Journal Association Official and Analytical Chemists**, Washington, v.72, n.1, p.22-25, 1988.

STROKA, J.; CHRISTOPH, V.H.; ANKLAM, E.; REUTTER, M. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste, and paprika powder: collaborative study. **Journal Association Official and Analytical Chemists International**, Washington, v.83, n.2, p.320-340, 2000.

Artigo científico baseado nesse capítulo encaminhado ao periódico Ciência e  
Agrotecnologia

ROSILANE APARECIDA DE CARVALHO<sup>1</sup>  
LUÍS ROBERTO BATISTA<sup>2</sup>  
GUILHERME PRADO<sup>3</sup>  
BIBIANE RESENDE DE OLIVEIRA<sup>4</sup>  
DAIANI MARIA DA SILVA<sup>5</sup>

1. Discente de Mestrado do Curso de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Lavras – Departamento de Ciência dos Alimentos – Cx. Postal 3037 – 37200-000 – Lavras, MG.( [rosilane\\_aparecida1976@yahoo.com.br](mailto:rosilane_aparecida1976@yahoo.com.br) )

2. Professor Doutor do Departamento de Ciência dos Alimentos – UFLA Universidade Federal de Lavras – Departamento de Ciência dos Alimentos – Cx. Postal 3037 – 37200-000 – Lavras, MG.( [luisrb@ufla.br](mailto:luisrb@ufla.br) )

3. Pesquisador Doutor da Fundação Ezequiel Dias – FUNED (Fundação Ezequiel Dias)- Núcleo de Micologia e Micotoxinas, Belo Horizonte, MG. ([gui@funed.mg.gov.br](mailto:gui@funed.mg.gov.br)).

4. Discente de Engenharia de Alimentos da UFLA Universidade Federal de Lavras – Departamento de Ciência dos Alimentos – Cx. Postal 3037 – 37200-000 – Lavras, MG. ([bibiane\\_reoli@yahoo.com.br](mailto:bibiane_reoli@yahoo.com.br)).

5. Discente de Mestrado do Curso de Microbiologia Agrícola – Universidade Federal de Lavras – Departamento de Ciência dos Alimentos – Cx. Postal 3037 – 37200-000 – Lavras, MG, ([daiani.silva@bol.com.br](mailto:daiani.silva@bol.com.br))