

Analise de Desoxinivalenol e Nivalenol em trigo e farinha de trigo

Analysis of Deoxynivalenol and Nivalenol in wheat and wheat flour

Lucas Dalaqua Ribeiro

lucasr.1999@alunos.utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil

Elisabete Hiromi Hashimoto

elisabete@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

Elisa Yoko Hiroka

hirooka@uel.br

Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

Gervasio Hitoshi Saito

gervasiosaito@gmail.com

Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

RESUMO

Por ser um cereal de grande importância para a alimentação e economia mundial, o trigo vem sendo estudado devido a sua contaminação por fungos produtores de micotoxinas. Desoxinivalenol (DON) e Nivalenol (NIV) são tricotocenos produzidos pelo fungo *Fusarium graminearum* que se desenvolve em baixa temperatura e alta umidade. Após a ingestão de alimentos contaminados com DON, os humanos podem desenvolver sintomas como vômito e anorexia, já a ingestão de NIV pode reduzir a proliferação de linfócito. As análises foram desenvolvidas com amostras de Trigo e Farinha de Trigo de uma empresa situada no estado de Santa Catarina, aplicando CLAE-UV para analisar a coocorrência de DON e NIV nas amostras e se apresentava contaminação de Desoxinivalenol acima do limite tolerado pela legislação brasileira. Foi detectado a co-ocorrência em 6 amostras de grão de trigo e em 2 amostras de farinha de trigo. Duas amostras de farinha de trigo apresentaram níveis de DON acima do LMT pela legislação Brasileira.

PALAVRAS-CHAVE: Tricotocenos. Trigo. Coocorrência.

ABSTRACT

As a cereal of great importance for food and the world economy, wheat has been studied due to its contamination by mycotoxin-producing fungi. Deoxynivalenol (DON) and Nivalenol (NIV) are trichothecenes produced by the fungus *Fusarium graminearum* that develops in low temperature and high humidity. After ingestion of food contaminated with DON, humans may develop symptoms such as vomiting and anorexia, since ingestion of IVN may reduce lymphocyte proliferation. The analyses were developed with Wheat and Wheat samples from a company located in the state of Santa Catarina, applying CLAE-UV to analyse the co-occurrence of DON and NIV in the samples and presented contamination of Deoxynivalenol above the limit tolerated by Brazilian legislation. Co-occurrence was detected in 6 samples of wheat grain and in 2 samples of wheat flour. Two samples of wheat flour showed levels of DON above the LMT by Brazilian legislation.

KEYWORDS: Trichothecenes. Wheat. Co-occurrence.

Recebido: 31 ago 2018.

Aprovado: 04 out 2018.

Direito autoral:

Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

O Trigo se destaca na economia mundial por seu um dos três cereais mais cultivados. Os dados divulgados pela Conab da safra de 2017/2018 mostra que o Brasil tem 61,7 milhões de hectares com plantio de grãos, destes 61,7 milhões, 2 milhões são destinados ao trigo. A produção no ano safra de 2017/2018 foi de 6,72 milhões de toneladas, desta produção o estado do Paraná foi o maior produtor produzindo aproximadamente 3,5 milhões de toneladas. (CONAB,2018).

Os fungos compõem um grupo de microrganismos de fácil adaptação sendo encontrados em ambientes variados mais de 500 toxinas produzidas por diferentes fungos (as micotoxinas) já foram catalogadas, as três classes de toxinas de maior importância são: as ocratoxinas, aflatoxinas e as fusariotoxinas, dentro desta está contida as zearalenona, os tricotocenos e as fumonisinas (MALMANN,2003).

A fusariosose ou giberela está associada a condições ambientais específicas, sendo uma doença que afeta principalmente o trigo, a intensidade da doença está relacionada a condição climática no estabelecimento da doença, sendo temperatura e chuva as variantes responsável pela instabilidade da doença em cada ano (CASA, 2004).

O fungo *F. graminearum* é capaz de produzir as micotoxinas do grupo dos tricotocenos Desoxinivalenol e Nivalenol, os tricotocenos são citotoxinas capazes de desencadear sintoma gastrointestinal, dermatotoxina, imunotoxina, hematotoxina e apoptose (CONKOVÁ,2003). Na alimentação humana a contaminação de DON causa particularmente anorexia e vomito (PESTKA,2005). Já NIV pode causar erosão gastrointestinal, nefropatia, anorexia e citotoxicidade em animais, enquanto pode reduzir a proliferação de linfócito em humano (KONGKAPAN,2016).

Sobre a legislação entidades governamentais internacionais, ministérios da Saúde e da Agricultura, tem recomendado os limites permitidos, visando o controle de micotoxinas (ATANDA,2012). Os limites máximos tolerados (LMT)segundo a RDC nº 138, de 8 de Fevereiro de 2017, para DON em trigo e milho em grãos para posterior processamento é de 3000 ($\mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$), para trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada é de 1250 ($\mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$), e para farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada é de 1000 ($\mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$) (BRASIL,2011).

As consequências da contaminação de alimentos por micotoxinas é um grande problema tanto do ponto de vista econômico, quanto de saúde, a perda econômica acontece devido a somatória de diversos fatores tais como perda na compra e na venda do produto, perda dos animais que se alimentam do produto, custos com o sistema de controle, rejeição dos produtos pelo mercado importador entre outros. Causando ainda prejuízos ao agricultor, comerciante e tesouro nacional devido à exportação (SCUSSEL,1998).

Este trabalho tem como objetivo avaliar a coocorrência de DON e NIV, em grão e farinha de trigo para consumo humano, assim como analisar e comparar os níveis das amostras com o permitido pela legislação.

METODOLOGIA

As 7 amostras de trigo e farinha de trigo foram coletadas de uma empresa no Estado de Santa Catarina, os moinhos fornecedores se localizavam nos estados do Paraná (região Norte e Sul), Rio Grande do Sul (Centro) e em Paraguai.

As amostras de grão de trigo (1,2 kg) foram coletadas em armazém à granel, enquanto a farinha correspondente de *big bags* (1200 kg) mantidos em armazém. As amostras foram acondicionadas em embalagens de plástico e encaminhadas ao laboratório e o volume foi imediatamente reduzidos pelo método de Quarteamento (redução aproximada de 250 g), embalados e armazenadas em câmara fria à -20 °C.

A extração foi realizada com 100 g de grão e farinha, com 30 mL de solução (85:15) acetonitrila: água, em ultrassom por 10 minutos e homogeneizado à 200 rpm por 30 minutos. O extrato foi centrifugado a 2000 xg por 5 minutos o sobrenadante foi filtrado, e após a filtração foi aplicado em coluna de limpeza multifuncional hidrofóbica não-ionica para tricocenos. Após o descarte de 3 mL iniciais, procedeu-se a coleta de 5 mL em tubo Falcon, sendo 4 mL transferido para um tubo de ensaio á 40 °C em centrifuga evaporadora acoplado a um compressor.

O resíduo seco foi dissolvido em 1,0 mL de solução com água:metanol:acetonitrila (80:5:5) e uma alíquota de 50 µL injetado em CLAE-UV (220 nm) para a análise de DON e NIV.

O sistema de análise por CLAE-UV consistiu de bomba modelo LC-10AD com sistema de injeção automático por programa computacional LC *solution*. A coluna C18 Octadecylsilane - ODS (Shim-pack – 5 µm, 150 mm x 6,0 mm) acoplado ao forno CTO-10A, foi mantido a 40°C. A fase móvel consistiu de Água:Metanol:Acetonitrila (90:5:5 v/v) sob fluxo de 1mL.min⁻¹ e, a leitura foi realizada a 220 nm.

RESULTADOS

Um total de 6 amostras de grão de trigo apresentaram positividade para DON, com níveis variando de 71 e 2044 µg.kg⁻¹, com média de 1057,5 µg.kg⁻¹. Já para NIV 6 amostras de grão de trigo apresentaram positividade, com níveis variando de 94,5 e 1348 µg.kg⁻¹ com média de 428 µg.kg⁻¹.

A presença de DON foi identificada em todas as amostras de farinha analisadas, com variação de 169 e 2016 µg.kg⁻¹, com média de 857 µg.kg⁻¹. Já a presença de NIV foi detectada em 2 amostras com variação de 30 e 133 µg.kg⁻¹, com média de 81,5 µg.kg⁻¹. A coocorrência (DON + NIV) foi detectado em 6 amostras de grão de trigo, e em 2 amostras de farinha de trigo.

Segundo a legislação brasileira (RDC N°138 de 2017) as amostras de grão apresentaram uma concentração abaixo do limite máximo tolerado (LMT). Embora as amostras não são destinadas à exportação, em relação às legislações internacionais, a concentração de DON apresentou superior ao LMT em duas amostras (Sul do PR e RS) segundo a legislação Europeia (EC n° 1881, 2006) com LMT (750 µg.kg⁻¹ cereais destinados para consumo humano direto).

Duas amostras de farinha de trigo apresentaram níveis de DON acima da LMT pela legislação brasileira (Amostra Sul do PR e RS). Para a legislação Europeia (EC

nº 1881, 2006), duas amostras apresentaram níveis acima do Limite permitido (Sul do PR e RS).

CONCLUSÃO

A coocorrência de DON e NIV foi detectada em 6 amostras de grão de trigo e em 2 amostras de farinha de trigo, 2 amostras de trigo e 2 duas de farinha de trigo apresentaram a presença de DON acima do limite permitido para exportação para Europa.

REFERÊNCIAS

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. A Cultura do Trigo. Disponível em; <https://www.conab.gov.br/institucional/publicacoes/outras-publicacoes/item/2903-2017-a-cultura-do-trigo>>. Acesso em 23 de Julho de 2018.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Estimativa da produção de grãos é de 228,6 milhões de toneladas.** Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/2481-estimativa-da-producao-de-graos-e-de-228-6-milhoes-de-toneladas>>. Acesso em: 25 de Agosto de 2018.

MALMANN, C.A.M. et al. **Avaliação da contaminação por desoxinivalenol em trigo utilizado na alimentação humana.** In Congresso Brasileiro de Farmácia 1. São Paulo: Resumos. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/gerenciador/painel/trabalhosversaofinal/SAL173.pdf> >, 2003 Acesso em 17 de agosto de 2018.

SCUSSEL, Vildes Maria. **Micotoxinas em alimentos.** Florianópolis: Insular, 1998. p, 55-68.

CASA, R.T.; REIS, E.M.; BLUM, M.M.C.; BOGO, A.; SCHEER, O.; ZANATA, T. Danos causados pela infecção de *Gibberella zeae* em trigo. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.289- 293, 2004.

CONKOVÁ, E.; LACIAKOVÁ, A.; KOVÁČ, G.; SEIDEL, H. Fusarial toxins and their role in animal diseases. *The Veterinary Journal*, v.165, p. 214-220, 2003.

PESTKA, J.J.; SMOLINSKI, A.T. Deoxynivalenol: Toxicology and Potential Effects on Humans. **Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews**, v.8, p.39-69, 2005.



ATANDA, S. A.; AINA, J. A. ; AGODA, S. A.; USANGA, O. E.; PESSU P. O. Mycotoxin Management in Agriculture: a Review. J. Anim. Sci. Adv., n. 2 (Suppl. 3.1), p. 250-260, 2012.

KONGKAPAN, J., GIORGI, M., POAPOLATHEP, S., ISARIYODOM, S., POAPOLATHEP, A. Toxicokinetics and tissue distribution of nivalenol in broiler chickens. Toxin, vol. 111, p. 31-36, 2016.

BRASIL. Agencia nacional de vigilância sanitária ANVISA. Resolução de Diretoria Colegiada- RDC Nº 138, de 8 de Fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Diário Oficial da União, 09 de fevereiro de 2011. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3219534/RDC_138_2017_.pdf/b36e60b0-5112-43dc-9142-932f502fc46b?version=1.0> Acesso em: 25 de Agosto de 2018.

COMUNIDADE EUROPEIA. Jornal oficial da União Europeia. Regulamento (CE) Nº 1881/2006 DA COMISSÃO de 19 de Dezembro de 2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos gêneros alimentícios. Disponível em : <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=en>>. Acesso em: 26 de Agosto de 2018.

AGRADECIMENTOS

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Araucária, Universidade Estadual de Londrina e Universidade Tecnológica Federal do Paraná.