

OCORRÊNCIA DE AFLATOXINA EM FARELOS DE AMENDOIM (*Arachis hypogaea* L.) NA REGIÃO PAULISTA NOVA, DO ESTADO DE SÃO PAULO *

HOMERO FONSECA **

RESUMO

No presente trabalho foram estudadas, a ocorrência das aflatoxinas B e G, em 116 amostras de farelo de amendoim provenientes de 17 fábricas de óleo da região Paulista Nova, bem como uma possível correlação na produção de ambas.

As amostras foram coletadas em quatro épocas, representando material proveniente da industrialização de duas safras distintas, a saber: março e maio — safra das «águas» e julho e setembro — safra da «seca».

Dos resultados concluiu-se que: a) a incidência de aflatoxina foi geral na região, pois todas as amostras estavam tóxicas; b) o nível de toxidez encontrado foi elevado (valores de 0,1 a 20,0 ppm) sendo bem mais elevado na safra das «águas» — média de 5,50 ppm, contra 1,76 na «seca»; c) apenas 10,35% do material examinado estaria em condições de ser utilizado na alimentação animal; d) houve uma correlação fracamente positiva entre a produção das aflatoxinas B e G, estatisticamente significativa.

INTRODUÇÃO

A história da aflatoxina começou a ser contada quando STEVENS *et al.* (1960) descreveram o aparecimento de uma nova doença em peruzinhos, nas granjas inglesas. As aves morriam geralmente dentro de uma semana sendo, seus sintomas, a perda de apetite, diminuição da mobilidade, fraqueza das asas, das pernas, etc. e provocando lesões necróticas no fígado. Não tendo sido possível identificar nenhum agente infeccioso, os autores suspeitaram que ela deveria ser de origem nutricional, pois que, mudando a alimentação muitas vezes cessava a mortalidade. Quase ao mesmo tempo esta doença foi descrita também por SWARBRICK (1960), WANNOP (1960), BLOUNT (1960) e WILEY (1960).

Veterinários e pesquisadores ingleses batizaram-na de doença «X» dos perús e foi responsabilizada pela morte de mais de 100.000 peruzinhos entre maio e agosto de 1960 (BLOUNT, (1961).

* Entregue para publicação em 28/12/73.

** Professor de Disciplina, Departamento de Tecnologia Rural da ESALQ.

Verificou-se, posteriormente, que uma partida de torta de amendoim, proveniente do Brasil, era o fator comum a todos os surtos de envenenamento (ASPLIN & CARNAGHAN, 1961), ao mesmo tempo que, entre nós, AMARAL (1961) relacionava a morte de suínos com alimentos contendo torta de amendoim.

Isolado o princípio tóxico verificou-se que ele era composto de quatro substâncias às quais foram dadas o nome genérico de aflatoxina pois verificou-se que eram metabólitos tóxicos produzidos pelo fungo **Aspergillus flavus** Link (SARGEANT, et al., 1961) que se desenvolvia sobre o amendoim, após a colheita, sob condições favoráveis de umidade do amendoim e de temperatura e umidade relativa do ar.

As quatro substâncias foram denominadas de B1, B2, G1 e G2 pois produziam fluorescência azuis e verdes («blue» e «green») sob a luz ultra-violeta. Hoje são conhecidos outros metabólitos do grupo das aflatoxinas, ou sejam, as M1 e M2 (De IONGH et al., 1964 e ALLCROFT et al., 1966), as B2a e G2a (DUTTON & HEATHCOTE, 1966) e as B3 e GM1 (DUTTON & HEATHCOTE, 1969).

A aflatoxina é produzida pelo **A. flavus**, **A. parasiticus** e outros fungos, em quase todo o mundo, e em praticamente todos os substratos. RICHMOND et al. (1962a e 1962b) demonstraram que os efeitos tóxicos se reproduziam em marrecos quando alimentados com soja, feijão («runner bean»), semente de algodão e trigo, sobre os quais tinha crescido o **A. flavus**.

A importância do problema tem preocupado os governos de muitos países no sentido de conhecerem a ocorrência de aflatoxina em seus países, quer no amendoim, quer nas tortas e farelos. Já em 1961 na Nigéria, Mc DONALD & HARKNESS (1963) fizeram uma investigação da presença da aflatoxina amendoim colhido em duas regiões distintas: Riverain e do Norte. Das 40 amostras analisadas muitas se apresentaram isentas da toxina, outras com valores até 0,5 ppm, apenas 3 ultrapassando este limite.

McDONALD & A'BROOK (1963), no norte da Nigéria, pesquisaram a presença da aflatoxina em amendoim proveniente de vários experimentos de secagem nas safras de 1961 e 1962 e não encontraram valores acima de 0,5 ppm.

SELLSCHOP et al. (1965) relataram um levantamento efetuado na África do Sul por uma equipe de técnicos que, em 1963/1964, examinou a ocorrência de aflatoxina em cerca de 2.000 amostras de amendoim e sub-produtos provenientes das províncias do Transvaal, do Natal e do Cabo, e do Estado Livre de Orange. As amostras de 1963 mostraram toxidez bastante elevada tendo, algumas partidas, apresentado 75% das amostras com mais de 2,0 ppm. Já em 1964 o número de amostras tóxicas, bem como o nível de toxidez decresceu, que, segundo aqueles autores, deve ter sido em virtude de medidas restritivas na aceitação de amendoim mofado.

PEERS (1965) apresentou uma das melhores pesquisas efetuadas neste campo ao relatar o trabalho por ele feito em Vom, no norte da Nigéria, durante os anos de 1963 a 1965, em dez partidas de amendoim provenientes da

região de Zaria. Seu trabalho visou o controle da aflatoxina em tortas e farelos resultantes daquele amendoim e destinados à composição do Arlac*, bem como verificar o efeito das medidas de melhoria das condições de secagem, armazenamento e seleção do amendoim. Estes estudos revelaram que a toxidez das primeiras partidas em 1963 foi em média de 0,34 ppm e que, com as melhorias introduzidas, a toxidez foi baixando até estabilizar-se, nas duas últimas partidas, em cerca de 0,02 ppm.

CROWTHER (1966), no período de fins de 1965 a meados de 1966, examinou 186 amostras de amendoim e farelos de amendoim provenientes de várias amostras em Gâmbia, cujos resultados variaram bastante. Na primeira partida 53% das amostras eram de toxidez «negativa», 19% «média» e 28% «alta», não se registrando nenhuma na categoria «muito alta». Todavia, em partidas de outra região, constatou farelos de toxidez muito elevada chegando até 40 ppm de B₁ e 30 ppm de G₁.

LIM & YEAP (1966) levaram a efeito na Malásia em 1965 um pequeno levantamento em vários produtos como, amendoim descascado e tortas de amendoim, de gergelim, de côco, de soja e de milho importados e também do próprio país, num total de 69 amostras. Verificaram que apenas 25 estavam isentas, e das tóxicas, com predominância da aflatoxina G₁ sobre a B₁, muitas estavam ao nível de 2,0 ppm.

TOURY (1966) no Senegal, determinou aflatoxina em dez lotes de 246 amostras de amendoim e 9 de torta de amendoim, representando cerca de 200 toneladas de material. Apenas 16% das amostras de amendoim estavam tóxicas e destas apenas 2 tinham mais de 1,0 ppm. Quanto às tortas, todas estavam tóxicas porém, estavam na categoria «média», pois variavam de 0,05 a 0,12 ppm.

Entre nós MENEZES et al. (1966), em trabalho que consideraram preliminar, determinaram aflatoxina em amendoim, tortas e farelos procedentes de várias fábricas do Estado de São Paulo. Mais de 90% da torta e farelo apresentaram teores elevados de aflatoxina tendo, os autores, considerado que apenas 3% delas estariam em condições de serem utilizadas na alimentação animal.

TANGO et al. (1967), trabalhando com amendoim das «águas» e da «seca» investigaram, entre outros, a incidência de aflatoxina e o grau de infestação de fungos. Os resultados mostraram uma maior incidência de aflatoxina na safra das «águas» com 59% das amostras nas categorias «Alta» e «Muito Alta». Inversamente, encontraram um maior grau de infestação de fungos, na safra da «seca».

As propriedades carcinogênicas da aflatoxina foram constatadas em trutas (ASHLEY et al., 1964) ratos (WOGAN, 1965) e marrecos (SCHOENTAL, 1967).

(*) Concentrado proteico destinado à infância no qual o farelo de amendoim entrava na proporção de 33%.

Com relação ao homem, os primeiros indícios, de sua ação tóxica foram constatados por ZUCKERMAN & FULTON (1966).

Sendo a aflatoxina um problema de grande importância, que pode atingir o homem tanto direta, pelo consumo de produtos contendo amendoim contaminado, como indiretamente através do leite produzido por animais que eventualmente se alimentem de farelos tóxicos, resolvemos investigar sua ocorrência em nosso Estado, através do farelo de amendoim, sub-produto da indústria de extração de óleo. Nesta investigação procurou-se esclarecer principalmente, os seguintes pontos: a) nível de toxidez dos farelos; b) variação da toxidez entre épocas de coleta das amostras e das fábricas, e c) possível correlação entre a produção das aflatoxinas B e G.

Incluiu-se este último item por nada termos encontrado na literatura, com relação a ele, em trabalhos desta natureza.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O material utilizado para execução deste trabalho constou de 116 amostras de farelo de amendoim da safra de 1966/67 coletadas em 17 fábricas de óleo, localizadas na região servida pela Companhia Paulista de Estradas de Ferro, compreendida entre Bauru e Adamantina, no Estado de São Paulo.

As amostras foram coletadas em quatro épocas a saber: março e maio, representando material proveniente da safra das «águas» num total de 68 amostras e julho e setembro, representando material da safra da «seca», num total de 48 amostras visto que, nesta safra, apenas 12 fábricas trabalharam.

De cada fábrica foi retirada uma amostra de cerca de 1 kg representativa de todo o material existente na fábrica e recolhida em sacos plásticos.

As fábricas foram identificadas por números e as épocas de coleta com os nomes dos meses em que a amostra foi retirada.

As análises foram efetuadas nos dias imediatos após o término das coletas.

Métodos

Preparo das amostras

As amostras foram trituradas passando-se quatro a cinco vezes em moinho de discos («Disc mill», modelo 4E, The Straub Co., Philadelphia, EEUU.) para obtenção da finura adequada para a análise sendo, posteriormente, passadas em peneiras de crivo de 841 micra (20 «mesh»). Em seguida as amostras foram divididas em duas sub-amostras: a e b, que foram novamente guardadas em sacos plásticos, até o momento de serem analisadas.

Extração da toxina

De cada sub-amostra, daqui para frente denominadas simplesmente de amostra, foram tomados 20 g, dos quais foi extraída a toxina com clorofór-

mio, de acordo com o método de LEE (1965). O filtrado obtido foi denominado de solução **X**. Desta foram tomadas 8 ml e diluídos a 100 ml com clorofórmio: solução **Y**.

Preparo das cromatoplaças

Placas de vidro de 10x20 cm, com camada de 500 micra de silicagel-G, foram preparadas segundo a técnica de COOMES & FEUELL (1965).

Cromatografia do extrato

A 2 cm da base das cromatoplaças foram colocadas as seguintes alíquotas: 20 μ l da solução **X** e 25, 10, 5 e 2,5 μ l da solução **Y**, além de uma alíquota de concentração conhecida, para comparação, e desenvolvidas com o solvente clorofórmio-metanol (95:5), até 10 cm acima do local das amostras, em câmaras saturadas.

Determinação do teor de aflatoxina e sua correspondente toxidez

As placas, após a cromatografia, foram examinadas em câmara escura, a distância de 30 cm de uma lâmpada ultra-violeta Philips tipo HPW, 125 watt, com emissão máxima em 365 nm e observada a presença ou ausência de manchas fluorescentes azul-violeta, das aflatoxinas B1+B2 num Rf = 0,50 — 0,55 e esverdeada, das aflatoxinas G1 + G2 num Rf = 0,45 — 0,50.

O cálculo da concentração foi efetuado segundo COOMES & FEUELL (1965). Este sistema forneceu resultados entre dois limites de concentração. Assim, a menor alíquota em que foi observada fluorescência, nos forneceu o limite inferior. Para o limite superior foi tomada a alíquota seguinte em que não foi observada fluorescência. Nos casos em que foi observada fluorescência na menor das alíquotas, a solução **Y** foi rediluída e recromatografada para verificarmos o limite superior. Estes limites, em função da menor alíquota em que foi observada fluorescência, foram:

Alíquota	B1 + B2	G1 + G2
20 μ l sol. X	0,10 — 1,00	0,075 — 0,75
25 μ l sol. Y	1,00 — 2,50	0,75 — 1,87
10 μ l sol. Y	2,50 — 5,00	1,87 — 3,75
5 μ l sol. Y	5,00 — 10,00	3,75 — 7,50
2,5 μ l sol. Y	10,00 — 20,00	7,50 — 15,00

Para avaliação da toxidez das amostras os resultados foram enquadrados nas categorias de toxidez estabelecidas pelo TROPICAL PRODUCTS INSTITUTE (1962) e que consta do QUADRO 1.

Quadro 1 — Relação entre a concentração de aflatoxina B₁ e toxidez do material.

Categoria de toxidez	Nível de aflatoxina B ₁
Muito Alta	Acima de 1,00 ppm
Alta	Entre 0,25 e 1,00 ppm
Média	Entre 0,05 e 0,25 ppm
Baixa ou Negativa	Abaixo de 0,05 ppm

A nossa escala de categorias foi ligeiramente modificada para maior facilidade dos trabalhos de análise. Além disso, quando do início dos nossos trabalhos, verificamos que os valores encontrados eram bastante elevados e por isso resolvemos esmiuçar mais a categoria «Muito Alta» ou seja, farelos com mais de 1,00 ppm. Por esse motivo subdividimo-la em quatro níveis.

Análise estatística

Para a computação das médias foi usado o centro dos intervalos dos níveis (PEERS, 1965) com as variáveis transformadas em $\log(x+1)$ de acordo com SNEDECOR (1956) e STEEL & TORRIE (1960).

O cálculo da correlação entre as aflatoxinas B e G, foi feito conforme SNEDECOR (1956) também com as variáveis transformadas em $\log(x+1)$.

Para a análise da variância dos dados foi considerado o modelo:

$$Y = u + f_i + s_j + (fs)_{ij} + m_{k(j)} + (fm)_{ik(j)} + a_{l(ijk)}$$

onde: $i = 1, 2, 3, \dots, 17.$

$j = 1, 2.$

$k = 1, 2.$

$l = 1, 2.$

tendo os efeitos, todos aleatórios, o seguinte significado:

f = efeito de fábricas

s = efeito de safras

(fs) = efeito da interação fábrica x safra

m = efeito do mês (ou época) dentro da safra

(fm) = efeito da interação fábrica x mês dentro da safra

a = efeito da amostra.

A análise da variância foi feita para estimar as variâncias relativas a cada efeito. Os dados também foram transformados em $\log(x+1)$.

A esperança matemática dos quadrados médios foi computada conforme BENNETT & FRANKLIN (1954).

O centro dos intervalos dos níveis, com os quais foram feitos os cálculos acima referidos foram os seguintes:

Aflatoxina B			Aflatoxina G		
Intervalo	Centro		Intervalo	Centro	
0,00 – 0,05	0,025		0,00 – 0,075	0,0375	
0,05 – 0,10	0,075		0,075 – 0,75	0,4125	
0,10 – 1,00	0,55		0,75 – 1,87	1,31	
1,00 – 2,50	1,75		1,87 – 3,75	2,81	
2,50 – 5,00	3,75		3,75 – 7,50	5,625	
5,00 – 10,00	7,50		7,50 – 15,00	11,25	
10,00 – 20,00	15,00		– –	–	

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados

Os resultados das análises são os constantes das quadros de números 2 a 15.

Discussão

Neste trabalho os resultados são apresentados em níveis de toxidez, pois pela sua natureza, um levantamento, desejou-se saber apenas a extensão e o nível de incidência da toxina. Esta forma de apresentação é comum entre os autores como pode ser observado em PEERS (1965), SELLSCHOP *et al.* (1965), LIM & YEAP (1966), TOURY (1966), MENEZES *et al.* (1966) e TANGO *et al.* (1967).

Os níveis de toxidez estão intimamente relacionados com os testes biológicos em marrequinhos de um dia pois, é evidente que os números absolutos do conteúdo de aflatoxina não darão qualquer informação de sua toxidez a não ser quando relacionados com seus efeitos nos referidos testes.

Conforme pode-se observar nos quadros de números 2 a 5, a aflatoxina esteve presente em todas as amostras e variou entre os limites de 0,1 e 20,0 ppm para as aflatoxinas B e entre 0,075 e 7,5 ppm para as G.

Baseado nos resultados apresentados para as aflatoxinas B podemos verificar, pelo QUADRO 11, que não temos nenhuma incidência nas categorias «Baixa ou Negativa» e «Média», que 10,35% estão na categoria «Alta» e que 89,65% estão na «Muito Alta».

A toxidez dos farelos foi como se vê, bastante elevada. Para que se tenha uma idéia do significado dos resultados encontrados pode-se citar que a concentração de aflatoxina B₁ no farelo que ocasionou a mortandade de peruzinhos na Inglaterra em 1960, estava entre 2,0 e 5,0 ppm. Como pode-se observar, ainda com dados do QUADRO 11, 65,51% das amostras estavam com mais de 2,5 ppm. Estes resultados estão de acordo com os encontrados entre nós por MENEZES et al. (1966) e por TANGO et al. (1967).

Tomando por base a recomendação de instituições que pesquisaram extensivamente o assunto (ANÔNIMO, 1969), pela qual os farelos ou tortas com mais de 1,00 ppm praticamente não podem ser utilizados na formulação de rações animais em nenhuma proporção, não poderíamos aproveitar mais do que 10,35% do material examinado.

A situação em outros países é bastante variável, conforme pode-se observar nos trabalhos de McDONALD & HARKNESS (1963) e Mc DONALD & A'BROOK (1963), ambos na Nigéria, SELLSCHOP et al. (1965) na África do Sul, PEERS (1965) em Vom no norte da Nigéria, TOURY (1966) no Senegal, além de outros. Todavia pode-se constatar facilmente que o nível de toxidez dos farelos por nós examinados foi bem mais elevado que o encontrado naqueles países, com algumas exceções.

Pela análise da variância dos resultados pode-se verificar que não houve diferença de comportamento entre as fábricas, tanto para as aflatoxinas B como para as G. Houve influência da safra, significativa ao nível de 1% de probabilidade apenas com relação às aflatoxinas B. A distribuição das incidências por safras e por níveis para os dois grupos de aflatoxinas pode ser vista nos quadros de números 13 e 14 os quais mostram que essa distribuição realmente variou.

Pode-se notar claramente pelas médias calculadas (QUADRO 15) que houve uma grande diferença entre as «águas» e a «seca».

A época ou mês de coleta dentro de uma mesma safra também não variou significativamente. A interação mês vs. fábrica dentro de uma mesma safra variou significativamente ao nível de 1% para as aflatoxinas B e ao nível de 5% para as G. Isto significa um comportamento bastante irregular das amostras entre as fábricas de uma época de coleta para outra dentro da mesma safra. A interação fábrica vs. safra não variou significativamente com relação às aflatoxinas B mas sim com relação às G, ao nível de 5%.

Pelos quadros de números 8 e 9 pode-se verificar que, com relação às aflatoxinas B, o maior fator de variação foi realmente a safra, com 62,94% do total, ao passo que com as G os fatores de variação estiveram mais distribuídos.

A maior variação devida à safra já era mais ou menos esperada pois, nas «águas» as condições são muito mais favoráveis ao desenvolvimento de fungos, e em particular do *A. flavus*, do que na «seca». Embora o valor médio das «águas» tenha sido bem mais elevado, e o da «seca» também esteve num nível alto.

Todos os farelos examinados eram tóxicos e apresentaram ambos os grupos de aflatoxinas. Os valores encontrados para as B foram sempre mais elevados que os das G na mesma amostra e por isso ocorreu-nos investigar também se havia qualquer correlação entre a produção daqueles metabólitos visto que, em trabalhos de campo, não há referência na literatura sobre o assunto. O resultado obtido no estudo dessa possível correlação (QUADRO 10) mostrou ter havido uma correlação fracamente positiva, estatisticamente significativa.

CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos no presente trabalho pôde-se tirar as seguintes conclusões:

- 1) A incidência da aflatoxina foi geral na região Paulista Nova pois todas as amostras estavam tóxicas.
- 2) O nível de toxidez foi, no geral, muito elevado, com algumas amostras chegando a 20,0 ppm.
- 3) Os farelos da safra das «águas» apresentaram toxidez bem maior (média de 5,50 ppm) que os da «seca» (média de 1,76 ppm).
- 4) Apenas 10,35% do material analisado poderia ser utilizado na alimentação animal pois o restante enquadrou-se na categoria «Muito Alta» com mais de 1,0 ppm.
- 5) Houve uma correlação fracamente positiva entre as aflatoxinas B e G.

SUMMARY

OCCURRENCE OF AFLATOXIN IN PEANUT FLOUR IN THE REGION PAULISTA NOVA, IN THE STATE OF SÃO PAULO.

In the present work, the occurrence of aflatoxins B and G as well as a possible correlation between both were studied in 116 samples of peanut flour from 17 oil mills of the region Paulista Nova, in the State of São Paulo.

The samples were obtained in four collections representing material from two crops in two different seasons: March and May in the rainy season and July and September in the dry season.

From the results it was concluded that: a) the occurrence of aflatoxin was generalized in that region, for all the samples were toxic; b) the toxicity level was found to be very high (figures from 0.1 to 20.0 ppm) being much higher in the rainy season-average of 5.50 ppm — against 1.76 ppm in the dry season; c) it was considered that only 10.35% of the material examined could be utilized for admixturing in feedstuffs; d) it was found a weakly positive correlation in the production of the aflatoxins B and G.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à FAPESP pelo auxílio financeiro concedido para a realização desta pesquisa e à UNICEF pelo auxílio em drogas e aparelhos. Agradecemos também ao prof. Roland Vencovsky e ao acadêmico de agronomia Isaias O. Geraldi pela execução das análises estatísticas.

LITERATURA CITADA

- ALLCROFT, R., H. ROGERS, G. LEWIS, J. NABNEY & P. E. BEST, 1966 — Metabolism of aflatoxin in sheep: excretion of the milk toxin. *Nature*, 209 (5019): 154-155.
- AMARAL, L. B. S., 1961 — Torta de amendoim e morte de suínos. *O Biológico*, 27 (3): 63.
- ANÔNIMO, 1969 — Informationsdienst Futter und Fütterung. Ed. Fachverband der Futtermittelindustrie e. V., Hamburg.
- ASHLEY, L. M., J. E. HALVER & G. N. WOGAN, 1964 — Hepatoma and aflatoxicosis in trout. *Fed Proc.* 23: 105.
- ASPLIN, F. D. & R. B. A. CARNAGHAN 1961 — The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect on ducklings and chickens. *Vet. Rec.*, 73: 1215-1219.
- BENNETT, C. A. & N. L. FRANKLIN, 1963 — Statistical Analysis in Chemistry and the Chemical Industry. John Wiley & Sons, Inc., N. York, 724 pp.
- BLOUNT, W. P., 1960 — Disease of turkey poults. *Vet. Rec.*, 72 (38): 786.
- BLOUNT, W. P., 1961 — Turkey "X" disease. *Turkeys*, 9(2): 52, 55-58, 61, 67.
- COOMES, T. J. & A. J. FEUELL, 1965 — Recommended procedures for the detection of aflatoxin B₁ in groundnuts and groundnut materials. *Trop. Prod. Inst. Report*. n.º G13. London, 24 pp.
- CROWTHER, P. C., 1966 — Report of the Produce Chemist, 4th november 1965 — 4th may 1966. The Laboratory, Dept. of Agriculture, Yundum Experimental Station, The GAMBIA. 15 pp.
- De IONGH, H., R. O. VLES & J. G. Van PELT, 1964 — Milk of mammals fed an aflatoxin — containing diet. *Nature*, 202: 466-467.
- DUTTON, M. F. & J. G. HEATHCOTE, 1966 — Two new aflatoxins. *Biochem. J.* 101: 21P-22P.
- DUTTON, M. F. & J. G. HEATHCOTE,, 1969 — Some interesting relationship between the new aflatoxins and their associated metabolites. *The J. South African Chem. Inst.*, XXII: 5107-5118.
- LEE, W. V., 1965 — Quantitative determination of aflatoxin in groundnut products. *Analyst (Lond.)* 90 (1070): 305-307.
- LIM, H. K. & G. S. YEAP, 1966 — The occurrence of aflatoxin in Malayan imported oil cakes and groundnut kernels. *The Malaysian Agric. J.*, 45 (3): 232-244.
- McDONALD, D. & J. A'BROOK, 1963 — Growth of *Aspergillus flavus* and production of aflatoxin in groundnuts. Part. III. *Trop. Sci.*, 5 (4): 208-214.
- McDONALD, D. & C. HARKNESS, 1963 — Growth of *Aspergillus flavus* and production of aflatoxin in groundnuts. Part. II. *Trop. Sci.*, 53 (3): 143-154.

- MENESES, T. J. B., J. S. TANGO, F. A. S. COELHO & C. G. TEIXEIRA, 1966 — Ocorrência do *Aspergillus flavus* e da aflatoxina em sementes e farelo de amendoim. Apresentado à XVIII Reunião Anual da S. B. P. C., Blumenau, S.C. 1966.
- PEERS, F. C., 1965 — Summary of the work done at Vom (Northern Nigeria) on aflatoxin levels in groundnut flour and Arlac. Nutr. Docum. Aflatoxin/8. WHO/FAO/UNICEP — P. A. G. 1965 Meeting, Rome.
- RICHMOND, J. W., N. H. SUTCLIFFE, N. W. R. DANIELS, P. W. RUSSELL-EGGITT & J. B. M. COPPOCK, 1962a — Factors other groundnut relating to "turkey X disease". Vet. Rec., 74 (18): 544-545.
- RICHMOND, J. W., N. H. SUTCLIFFE, N. W. R. DANIELS, P. W. RUSSELL-EGGITT & J. B. M. COPPOCK, 1962b — Factors other than groundnut in the production of aflatoxin. Vet. Rec., 74 (35) 962.
- SARGEANT, K., A. SHERIDAN, J. O'KELLY & R. B. A. CARNAGHAN, 1961 — Toxicity associated with certain samples of groundnuts. Nature, 192: 1096-1097.
- SCHOENTAL, R., 1967 — Aflatoxins. In: Annual Rev. Pharmac. 7: 343-356.
- SELLSCHOP, J. P. F., N. P. J. KRIEK & J. C. G. du PREEZ, 1965 — Distribution and degree of occurrence of aflatoxin in groundnuts and groundnut products. Symp. Mycotoxins Foodstuffs, Agric. Aspects, Febr. 1965, Pretoria, South Africa: 9-17.
- SNEDECOR, G. W., 1956 — Statistical Methods. The Iowa State College Press, Ames, Iowa, EUA., 5^a Ed., 534 pp.
- STEEL, R. G. D. & J. H. TORRIE, 1960 — Principles and Procedures of Statistics. McGraw Hill Book Co., Inc., N. York, 481 pp.
- STEVENS, A. J., C. N. SAUNDERS, J. B. SPENCE & A. G. NEWHAM, 1960 — Investigations into "diseases" of turkey poults. Vet. Rec. 72: (31) 627-628.
- SWARBRICK, O., 1960 — "Disease" of turkey poults. Vet. Rec. 72 (33): 671.
- TANGO, J. S., T. J. B. MENEZES & C. G. TEIXEIRA, 1967 — Levantamento da ocorrência da aflatoxina em sementes de amendoim nas safras das águas e da seca de 1965. Apresentado à XIX Reunião Anual da S. B. P. C., Rio de Janeiro, 1967.
- TOURY, J., 1966 — Rapport sur l'Operation Exagraf. In "Rapport sur les recherches effectuées sur l'aflatoxine au cours de l'année 1965 — 1966. O.R.A.N.A., Dakar, Senegal, 12 pp.
- TROPICAL PRODUCTS INSTITUTE, 1962 — Aflatoxin in groundnuts and groundnut products. Interpretation of physico-chemical and biological test results. T.P.I., Ministry of Overseas Development, Londres, 1 p.
- WANNOP, C. C., 1960 — Disease of turkey poults. Vet. Rec., 72 (33): 671-672.
- WILEY, J. R., 1960 — "Disease" of turkey poults. Vet. Rec., 72 (38): 786-787.
- WOGAN, G. N., 1965 — Experimental toxicity and carcinogenicity of aflatoxins. In "Mycotoxins in Foodstuffs". Ed. G. N. Wogan, The M. I. T. Press, Cambridge, Mass. EE.UU., p. 163-173.
- ZUCKERMAN, A. J. & F. FULTON, 1966 — Acute toxic effects of aflatoxin on human embryo liver cells in culture. Brit. Med. J: 2 90-91.

Quadro 2 – Ocorrência das aflatoxinas B e G em amostras da safra das "águas" – MARÇO (expresso em ppm)

Fá- bri- ca n.º	Amostra a		Amostra b	
	B	G	B	G
1	5,0 – 10,0	0,75 – 1,87	5,0 – 10,0	0,75 – 1,87
2	2,5 – 5,0	0,075– 0,75	2,5 – 5,0	0,075– 0,75
3	10,0 – 20,0	1,87 – 3,75	5,0 – 10,0	1,87 – 3,75
4	2,5 – 5,0	0,075– 0,75	2,5 – 5,0	0,075– 0,75
5	2,5 – 5,0	0,075– 0,75	2,5 – 5,0	0,075– 0,75
6	5,0 – 10,0	1,87 – 3,75	5,0 – 10,0	1,87 – 3,75
7	2,5 – 5,0	0,075– 0,75	2,5 – 5,0	0,075– 0,75
8	1,0 – 2,5	0,075– 0,75	1,0 – 2,5	0,075– 0,75
9	2,5 – 5,0	0,075– 0,75	2,5 – 5,0	0,075– 0,75
10	5,0 – 10,0	0,075– 0,75	2,5 – 5,0	0,075– 0,75
11	5,0 – 10,0	0,075– 1,87	5,0 – 10,0	0,075– 0,75
12	2,5 – 5,0	0,75 – 0,75	5,0 – 10,0	0,75 – 1,87
13	5,0 – 10,0	0,075– 0,75	5,0 – 10,0	0,075– 0,75
14	5,0 – 10,0	0,075– 0,75	5,0 – 10,0	0,075– 0,75
15	2,5 – 5,0	0,075– 0,75	5,0 – 10,0	0,075– 0,75
16	5,0 – 10,0	1,87 – 3,75	5,0 – 10,0	1,87 – 3,75
17	2,5 – 5,0	0,075– 0,75	2,5 – 5,0	0,075– 0,75

Quadro 3 — Ocorrência das aflatoxinas B e G em amostras da safra das “águas” — MAIO (expresso em ppm)

Fábri- ca nº	Amostra a		Amostra b	
	B	G	B	G
1	10,0 — 20,0	3,75 — 7,50	10,0 — 20,0	1,87 — 3,75
2	1,0 — 2,5	0,075— 0,75	2,5 — 5,0	0,075— 0,75
3	5,0 — 10,0	1,87 — 3,75	5,0 — 10,0	1,87 — 3,75
4	2,5 — 5,0	0,075— 0,75	5,0 — 10,0	0,075— 0,75
5	10,0 — 20,0	1,87 — 3,75	5,0 — 10,0	1,87 — 3,75
6	5,0 — 10,0	1,87 — 3,75	5,0 — 10,0	1,87 — 3,75
7	5,0 — 10,0	0,75 — 1,87	5,0 — 10,0	0,75 — 1,87
8	5,0 — 10,0	0,75 — 1,87	5,0 — 10,0	1,87 — 3,75
9	5,0 — 10,0	0,075— 0,75	5,0 — 10,0	0,075— 0,75
10	2,5 — 5,0	0,075— 0,75	2,5 — 5,0	0,075— 0,75
11	10,0 — 20,0	0,075— 0,75	5,0 — 10,0	0,075— 0,75
12	2,5 — 5,0	0,75 — 1,87	2,5 — 5,0	0,75 — 1,87
13	1,0 — 2,5	0,075— 1,87	2,5 — 5,0	0,075— 0,75
14	2,5 — 5,0	0,075— 0,75	2,5 — 5,0	0,075— 0,75
15	2,5 — 5,0	0,075— 0,75	2,5 — 5,0	0,00 — 0,075
16	5,0 — 10,0	1,87 — 3,75	2,5 — 5,0	0,075— 0,75
17	2,5 — 5,0	0,075— 0,75	2,5 — 5,0	0,075— 0,75

Quadro 4 – Ocorrência das aflatoxinas B e G em amostras da safra da "seca" – JULHO (expresso em ppm)

Fábri- ca nº	Amostra a		Amostra b	
	B	G	B	G
2	0,1 – 1,0	0,075– 0,75	1,0 – 2,5	0,075– 0,75
3	1,0 – 2,5	0,75 – 1,87	1,0 – 2,5	0,75 – 1,87
8	1,0 – 2,5	0,75 – 1,87	2,5 – 5,0	1,87 – 3,75
9	2,5 – 5,0	0,75 – 1,87	2,5 – 5,0	0,075– 0,75
10	0,1 – 1,0	0,075– 0,75	1,0 – 2,5	0,075– 0,75
11	2,5 – 5,0	0,75 – 1,87	2,5 – 5,0	0,075– 0,75
12	0,1 – 1,0	0,075– 0,75	0,1 – 1,0	0,075– 0,75
13	2,5 – 5,0	0,075– 0,75	5,0 – 10,0	0,075– 0,75
14	1,0 – 2,5	0,075– 0,75	0,1 – 1,0	0,075– 0,75
15	1,0 – 2,5	0,075– 0,75	1,0 – 2,5	0,075– 0,75
16	1,0 – 2,5	0,075– 0,75	1,0 – 2,5	0,075– 0,75
17	1,0 – 2,5	0,075– 0,75	1,0 – 2,5	0,075– 0,75

Obs. – As fábricas de nºs. 1, 4, 5, 6 e 7 não trabalharam com a safra da "seca".

Quadro 5 — Ocorrência das aflatoxinas B e G em amostras da safra da “seca” — SETEMBRO (expresso em ppm)

Fábrica nº	Amostra a		Amostra b	
	B	G	B	G
2	0,1 — 1,0	0,075— 0,75	0,1 — 1,0	0,075— 0,75
3	0,1 — 1,0	0,075— 0,75	1,0 — 2,5	0,075— 0,75
8	2,5 — 5,0	0,075— 0,75	1,0 — 2,5	0,075— 0,75
9	2,5 — 5,0	0,075— 0,75	1,0 — 2,5	0,075— 0,75
10	1,0 — 2,5	0,075— 0,75	2,5 — 5,0	0,075— 0,75
11	1,0 — 2,5	0,075— 0,75	1,0 — 2,5	0,075— 0,75
12	1,0 — 2,5	0,75 — 1,87	2,5 — 5,0	0,075— 0,75
13	1,0 — 2,5	0,075— 0,75	1,0 — 2,5	0,075— 0,75
14	0,1 — 1,0	0,075— 0,75	0,1 — 1,0	0,075— 0,75
15	0,1 — 1,0	0,075— 0,75	0,1 — 1,0	0,075— 0,75
16	1,0 — 2,5	0,075— 0,75	1,0 — 2,5	0,075— 0,75
17	2,5 — 5,0	0,075— 0,75	1,0 — 2,5	0,075— 0,75

Obs. — As fábricas de nºs. 1, 4, 5, 6 e 7 não trabalharam com a safra da “seca”.

Quadro 6 – Análise da variância das aflatoxinas B

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Fábricas (F)	11	0,795257	0,072296	1,35 n.s.
Safras (S)	1	2,815658	2,815658	35,96**
Interação F x S	11	0,587214	0,053383	1,08 n.s.
Mes dentro de safra (M)	2	0,052574	0,026287	0,53 n.s.
M x F dentro de S	22	1,088657	0,049484	4,06**
Amostragem	48	0,584540	0,012178	
T O T A L	95	5,923900	—	—

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Quadro 7 – Análise da variância das aflatoxinas G

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Fábricas (F)	11	0,745436	0,067767	1,84 n.s.
Safras (S)	1	0,086983	0,086983	1,84 n.s.
Interação F x S	11	0,404412	0,036765	2,57*
Mes dentro safra (M)	2	0,036464	0,018232	1,27 n.s.
M x F dentro de S	22	0,315163	0,014326	2,85*
Amostragem	48	0,241096	0,005023	
T O T A L	95	1,829554	—	—

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro 8 — Estimativa da variância de cada fator de variação para as aflatoxinas B

Fator de variação	σ^2		%
Fábricas (F)	σ^2_f	0,002364	2,56
Safras (S)	σ^2_s	0,058030	62,94
F x S	σ^2_{fs}	0,000974	1,06
Meses d. safra (M)	σ^2_m	-0,000966	0,00
M x F dentro de S	σ^2_{mf}	0,018653	20,23
Amostragem	σ^2_a	0,012178	13,21
T O T A L	—	0,092199	100,0

Quadro 9 — Estimativa da variância de cada fator de variação para as aflatoxinas G.

Fator de variação	σ^2		%
Fábrica (F)	σ^2_f	0,003875	19,10
Safras (S)	σ^2_s	0,000964	4,75
F x S	$\sigma^2_{f s}$	0,005609	27,65
Meses d. safra (M)	σ^2_m	0,000162	0,80
M x F dentro de S	$\sigma^2_{m f}$	0,004651	22,93
Amostragem	σ^2_a	0,005023	24,76
T O T A L	—	0,020284	100,00

Quadro 10 — Correlação entre as aflatoxinas B e G

$r = 0,37^*$

Quadro 11 – Distribuição do número de incidências das aflatoxinas B, por níveis e respectivas categorias de toxidez (expressa em números absolutos (n) e percentagens)

Níveis	n	%	Categoria de toxidez
0,0 – 0,05	0	0,00	Baixa ou Negativa
0,05 – 0,1	0	0,00	Média
0,1 – 1,0	12	10,35	Alta
1,0 – 2,5	28	24,14	Muito alta
2,5 – 5,0	40	34,48	
5,0 – 10,0	31	26,72	
10,0 – 20,0	5	4,31	
TOTAL	116	100,00	–

Quadro 12 – Distribuição do número de incidências das aflatoxinas G, por níveis (expressa em números absolutos (n) e percentagens)

Níveis	n	%
0,00 – 0,075	1	0,86
0,075 – 0,75	82	70,70
0,75 – 1,87	16	13,79
1,87 – 3,75	16	13,79
3,75 – 7,50	1	0,86
7,50 – 15,00	0	0,00
TOTAL	116	100,00

Quadro 13 — Distribuição do número de incidências das aflatoxinas B, por níveis e por safras

Nível	“Águas”		“Secas”	
	n	%	n	%
0,0 — 0,05	0	0,00	0	0,00
0,05 — 0,1	0	0,00	0	0,00
0,1 — 1,0	0	0,00	12	25,00
1,0 — 2,5	4	5,88	24	50,00
2,5 — 5,0	29	42,65	11	22,92
5,0 — 10,0	30	44,12	1	2,08
10,0 — 20,0	5	7,35	0	0,0
T O T A L	68	100,00	48	100,00

Quadro 14 — Distribuição do número de incidências das aflatoxinas G, por níveis e por safras

Nível	“Águas”		“Secas”	
	n	%	n	%
0,00 — 0,075	1	1,47	0	0,00
0,075 — 0,75	41	60,29	41	85,42
0,75 — 1,87	10	14,71	6	12,50
1,87 — 3,75	15	22,06	1	2,08
3,75 — 7,50	1	1,47	0	0,00
7,50 — 15,00	0	0,00	0	0,00
T O T A L	68	100,00	48	100,00

Quadro 15 – Médias dos valores encontrados para as aflatoxinas B e G, por safra e geral (expressas em partes por milhão)

Aflatoxinas	"Águas"	"Seca"	Geral
B	5,50	1,76	3,24
G	0,92	0,53	0,72