

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

HOMERO FONSECA **

RESUMO

No presente trabalho foram estudadas a ocorrência das aflatoxinas B e G em 48 amostras de farelo de amendoim provenientes de 8 fábricas de óleo da região Noroeste, bem como uma possível correlação na produção dos dois grupos de aflatoxina.

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 conclui-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 4,34 ppm, contra 1,83 ppm na «seca»; c) foi considerado que apenas 8,33% do material examinado estaria em condições de ser utilizado na alimentação animal; d) houve uma fraca correlação positiva entre as aflatoxinas B e G, não estatisticamente significativa.

INTRODUÇÃO

Em 1960 as granjas inglesas foram surpreendidas por uma mortandade de perús, causada por uma doença ainda desconhecida e que foi inicialmente descrita por STEVENS et al. (1960). 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, 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 foi dado 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 fluorescências azuis e verdes («blue» e «green») sob a luz ultravioleta. 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 no 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 — 1962 e não encontram 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 e 1964, examinou a ocorrência de aflatoxina em cerca de 2.000 amostras de amendoim e sub-produtos provenientes do Tranvaal, 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, bem como o nível de toxidez decresceu o 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 da Zaria. Seu trabalho visou o controle da aflatoxina em tortas e fa-

relos 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).

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

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

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 trabalho desta natureza.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O material utilizado para realização deste trabalho constou de 48 amostras de farelo de amendoim da safra de 1966/67 coletadas em 8 fábricas de óleo, localizadas na região servida pela Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, da R. F. F. S. A., compreendida entre Bauru e Guararapes, 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 32 amostras e julho e setembro, representando material da safra da «seca» num total de 16 amostras visto que, nesta safra apenas 4 fábricas trabalharam.

De cada fábrica foi retirada uma amostra de cerca de 1 Kg representativa de todo o material existente na fábrica e recolhido 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 4 E, The Straub Co., Philadelphia, E.E.U.U.) 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 tomados 8 ml e diluídos a 100 ml com clorofórmio: solução **Y**.

Preparo das cromatoplasmas

Placas de vidro de 10 x 20 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 cromatoplasmas 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 distancia de 30 cm de uma lâmpada ultra-violeta Phillips 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 da 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 sol. X	0,10	— 1,00	0,075 — 0,75
25	μ sol. Y	1,00	— 2,50	0,75 — 1,87
10	μ sol. Y	2,50	— 5,00	1,87 — 3,75
5	μ sol. Y	5,00	— 10,00	3,75 — 7,50
2,5	μ 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 no QUADRO 1.

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

Categoria de toxidez	Nível de aflatoxina B1
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 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 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: $i = 1, 2, 3, \dots, 8$.

$j = 1, 2$.

$k = 1, 2$.

$l = 1, 2$.

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 BNNETT & FRANKLIN (1954).

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

Aflatoxinas B				Aflatoxinas 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 dos QUADROS 2 a 15.

Discussão

Neste trabalho os resultados são apresentados em níveis de toxidez pois desejou-se saber apenas a extensão e o nível de incidência da toxina, não sendo necessária uma determinação mais acurada. Este procedimento é comum em trabalhos desta natureza como pode-se observar 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 pois, é evidente que, os números absolutos do conteúdo de aflatoxina não fornecerão qualquer informação de sua toxidez a não ser quando confrontados com seus efeitos nos referidos testes.

Como pode-se observar nos QUADROS de números 2 a 5, todas as amostras acusaram aflatoxina que variou entre os limites de 0,1 a 20,0 ppm. para as aflatoxinas B e entre cerca de 0,075 até 7,5 ppm. para as G .

Consultando o quadro 11 pode-se observar que não temos nenhuma incidência nas categorias «Baixa ou Negativa» e «Média», que 8,33% estão na categoria «Alta» e que 91,67% estão na «Muito Alta».

A toxidez dos farelos como se depreende, foi bastante elevada. Para que se possa avaliar melhor o significado dos resultados encontrados pode-se citar que o conteúdo de aflatoxina B1 no farelo que provocou a morte dos peruzi-

nhos na Inglaterra em 1960 estava entre 2,0 e 5,0 ppm. Como pode-se verificar, ainda com os dados do QUADRO 11, 68,75% das amostras estavam com mais de 2,5 ppm. Estes resultados vêm confirmar 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 1,0 ppm. não devem ser utilizadas na formulação de rações animais em nenhuma proporção, não poderíamos aproveitar mais do que 8,33% do material examinado.

A situação em outros países é bastante variável, como pode-se observar pelos trabalhos de McDONALD & HARKNESS (1963) e McDONALD & 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. Entretanto pode-se verificar facilmente que o nível de toxicidade dos farelos constantes deste trabalho foi bem mais elevado que o encontrado naqueles países, com algumas exceções.

Pela análise da variância dos resultados pode-se verificar que só houve diferença de comportamento na interação de meses vs. fábrica dentro de uma mesma safra, estatisticamente significativa ao nível de 5% de probabilidade para as aflatoxinas B e ao nível de 1% para as G. As demais causas de variação comportaram-se de uma maneira mais homogênea, à exceção da safra que acusou uma maior variação. Os QUADROS 13 e 14, onde está a incidência por safra e por níveis dos dois grupos de aflatoxinas, mostram que realmente houve uma razoável variação. Também pelas médias calculadas (QUADRO 15) pode-se notar que houve diferença entre as duas safras.

Pelos QUADROS 8 e 9 verifica-se que com relação às aflatoxinas B o fator safra foi realmente a maior fonte de variação em 44,94% do total, ao passo que para as G a maior fonte de variação foi a interação meses vs. fábrica dentro de uma mesma safra.

A variação das aflatoxinas B entre as duas safras já era de se esperar pois nas «águas» as condições climáticas são muito mais favoráveis ao desenvolvimento de fungos, e em particular o *A. flavus*, do que na «seca». E, embora o valor médio das «águas» (4,43 ppm) tenha sido bastante elevado, o valor da «seca» (1,83 ppm) também esteve num nível alto.

Todos os farelos examinados eram tóxicos e apresentaram ambos os grupos de aflatoxina. Os valores encontrados para as B foram sempre mais elevados que os das G. O cálculo da correlação entre ambos os grupos mostrou alguma correlação positiva porém, não estatisticamente significativa.

CONCLUSÕES

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

- 1) A incidência da aflatoxina foi geral na região Noroeste, pois todas as amostras continham aflatoxina.

- 2) O nível de toxidez foi, no geral, bastante elevado, com uma amostra chegando a 20,0 ppm.
- 3) Os farelos da safra das «águas» apresentaram toxidez bem maior (média de 4,43 ppm) que os da «seca» (média de 1,83 ppm).
- 4) Apenas 8,33% do material analisado poderia ser utilizado na alimentação animal pois o restante tinha mais de 1,0 ppm.
- 5) Houve uma certa correlação, estatisticamente não significativa entre as aflatoxinas B e G.

SUMMARY

OCURRENCE OF AFLATOXIN IN PEANUT FLOUR IN THE REGION NÔROESTE, 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 48 samples of peanut flour from 8 oil mills of the region Noroeste, 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 higher in the rainy season average of 4.34 ppm, against 1.83 ppm in the dry season; c) it was considered that only 8.33% of the material examined could be utilized for admixturing in feedstuffs; d) it was found a weakly positive correlation, not statistically significant, in the production of the aflatoxins B and G.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à FAPESP pelo auxílio financeiro concedido para a realização deste trabalho e à UNICEF pelo auxílio em drogas e aparelhos. Agradecemos também ao prof. Roland Vencovsky, do Departamento de Genética da ESALQ 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, 1955 — 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 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.
- MENEZES, 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. G., 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-EGITT & J. B. M. COPPOCK, 1962b — Factors other than groundnut in the relating to "turkey X disease". *Vet. Rec.*, 74 (18): 544-545.
- RICHMOND, J. W., N. H. SUTCLIFFE, N. W. R. DANIELS, P. W. RUSSELL-EGITT & J. B. M. COPPOCK, 1962b — Factors other than groundnut in the production of aflatoxin. *Ve. 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.

- 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.
- 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.
- 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 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)

Fábrica Número	A m o s t r a a		A m o s t r a b	
	B	G	B	G
1	1,0 – 2,5	0,00 – 0,075	2,5 – 5,0	0,075 – 0,75
2	1,0 – 2,5	0,075 – 0,75	2,5 – 5,0	0,075 – 0,75
3	2,5 – 5,0	0,75 – 1,87	2,5 – 5,0	0,75 – 1,87
4	2,5 – 5,0	0,75 – 1,87	5,0 – 10,0	1,87 – 3,75
5	1,0 – 2,5	0,75 – 1,87	2,5 – 5,0	0,75 – 1,87
6	5,0 – 10,0	0,075 – 0,75	5,0 – 10,0	0,75 – 1,87
7	2,5 – 5,0	0,75 – 1,87	5,0 – 10,0	0,75 – 1,87
8	1,0 – 2,5	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)

Fábrica Número	A m o s t r a a		A m o s t r a b	
	B	G	B	G
1	2,5 – 5,0	0,075 – 0,75	2,5 – 5,0	0,075 – 0,75
2	2,5 – 5,0	0,075 – 0,75	2,5 – 5,0	0,075 – 0,75
3	2,5 – 5,0	1,87 – 3,75	5,0 – 10,0	3,75 – 7,50
4	2,5 – 5,0	0,075 – 0,75	2,5 – 5,0	0,075 – 0,75
5	10,0 – 20,0	0,75 – 1,87	5,0 – 10,0	0,75 – 1,87
6	5,0 – 10,0	0,075 – 0,75	5,0 – 10,0	0,075 – 0,75
7	5,0 – 10,0	0,75 – 1,87	2,5 – 5,0	0,75 – 1,87
8	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)

Fábrica Número	A m o s t r a a		A m o s t r a b	
	B	G	B	G
3	0,1 – 1,0	0,075 – 0,75	0,1 – 1,0	0,075 – 0,75
4	1,0 – 2,5	0,075 – 0,75	1,0 – 2,5	0,075 – 0,75
5	2,5 – 5,0	0,75 – 1,87	2,5 – 5,0	0,75 – 1,87
8	1,0 – 2,5	0,075 – 0,75	1,0 – 2,5	0,075 – 0,75

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

Fábrica Número	A m o s t r a a		A m o s t r a b	
	B	G	B	G
3	0,1 – 1,0	0,075 – 0,75	0,1 – 1,0	0,075 – 0,75
4	1,0 – 2,5	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
8	1,0 – 2,5	0,075 – 0,75	1,0 – 2,5	0,075 – 0,75

Obs. — As fábricas de N^{os} 1, 2, 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)	3	0,353145	0,117715	1,68 n.s.
Safras (S)	1	0,609987	0,609987	5,33 n.s.
Interação F x S	3	0,210676	0,070225	1,94 n.s.
Mês dentro de safra (M)	2	0,101946	0,050973	1,41 n.s.
M x F dentro de S	6	0,216989	0,036165	3,11*
Amostragem	16	0,186121	0,011633	
TOTAL	31	1,678864		

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro 7 — Análise da variância das aflatoxinas G

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Fábricas (F)	3	0,177358	0,059119	1,14 n.s.
Safras (S)	1	0,212405	0,212405	4,40 n.s.
Interação F x S	3	0,156214	0,052071	1,24 n.s.
Mês dentro de safra (M)	2	0,011543	0,005772	0,14 n.s.
M x F dentro de S	6	0,252560	0,042093	12,85**
Amostragem	16	0,052415	0,003276	
TOTAL	31	0,862495		

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Quadro 8 – Estimativa de variância de cada fator de variação para as aflatoxinas B.

Fator de variação	σ^2		%
Fábricas (F)	σ_F^2	0,005936	8,13
Safras (S)	σ_S^2	0,032809	44,94
F x S	σ_{fs}^2	0,008515	11,66
Meses dentro de safra (M)	σ_m^2	0,001851	2,54
M x F dentro de S	σ_{mf}^2	0,012266	16,80
Amostragem	σ_a^2	0,011633	15,93
TOTAL		0,073010	100,00

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

Fator de variação	σ^2		%
Fábricas (F)	σ_F^2	0,000881	2,30
Safras (S)	σ_S^2	0,012290	32,05
F x S	σ_{fs}^2	0,002494	6,50
Meses dentro de safra (M)	σ_m^2	0,004540	0,00
M x F dentro de S	σ_{mf}^2	0,019408	50,61
Amostragem	σ_a^2	0,003276	8,54
TOTAL		0,038349	100,00

Quadro 10 – Correlação entre as aflatoxinas B e G

$$\bar{r} = 0,42 \text{ n.s.}$$

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 Média Alta
0,05 — 0,1	0	0,00	
0,1 — 1,0	4	8,33	
1,0 — 2,5	11	22,92	Muito Alta
2,5 — 5,0	23	47,92	
5,0 — 10,0	9	18,75	
10,0 — 20,0	1	2,08	
TOTAL	48	100,0	

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	2,08
0,075 — 0,75	30	62,50
0,75 — 1,87	14	29,17
1,87 — 3,75	2	4,17
3,75 — 7,50	1	2,08
7,50 — 15,00	0	0,00
TOTAL	48	100,00

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

(expressa em números absolutos (n) e percentagens)

Níveis	“Águas”		“Seca”	
	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	4	25,00
1,0 – 2,5	4	12,50	7	43,75
2,5 – 5,0	18	56,25	5	31,25
5,0 – 10,0	9	28,13	0	0,00
10,0 – 20,00	1	3,12	0	0,00
TOTAL	32	100,00	16	100,00

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

(expressa em números absolutos (n) e percentagens)

Níveis	“Águas”		“Seca”	
	n	%	n	%
0,00 – 0,075	1	3,125	0	0,00
0,075 – 0,75	16	50,00	14	87,50
0,75 – 1,87	12	37,50	2	12,50
1,87 – 3,75	2	6,25	0	0,00
3,75 – 7,50	1	3,125	0	0,00
7,50 – 15,00	0	0,00	0	0,00
TOTAL	32	100,00	16	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	4,43	1,83	2,92
G	0,88	0,50	0,68