

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia  
de Alimentos da Universidade Estadual de  
Campinas para a obtenção do Título de Doutor  
em Tecnologia de Cereais

EFEITO DA INTERAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRUSÃO  
E DA AMÔNIA E/OU METILAMINA NA DEGRADAÇÃO DA  
AFLATOXINA EM FARINHAS DE ARROZ

Celina Raquel de Oliveira Camargo  
Eng<sup>o</sup> Alimentos

07/86

Prof. Dr. Homero Fonseca  
Orientador

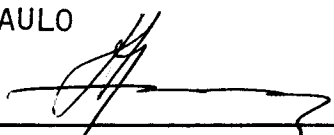
Parcer  
Este exemplar corresponde a redação final  
da Tese defendida por Celina Raquel de Oli-  
veira Camargo e aprovada pela Comissão Julga-  
dora em 19.05.86.

Campinas, 19 de maio de 1986.

CAMPINAS, SÃO PAULO

1986

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

  
Presidente da Banca

## AGRADECIMENTOS

Desejamos consignar nossos agradecimentos.

Ao orientador *Prof. Homero Fonseca* pela sua orientação e amizade.

Ao co-orientador *Prof. Cesar F. Ciacco* pela sua ajuda e amizade.

Ao *Prof. Sebastião Amorim* e ao *Paulo Jacoe* pela ajuda prestada na análise estatística.

Aos professores *Adhemar Purchio*, *Débora Q. Tavares*, *Délia B. Rodríguez-Amaya* e *Roberto H. Moretti* pelas sugestões na redação final da tese.

Ao *Eduardo San Martín* e ao *Valdeci P. Santos* pela colaboração nos ensaios de extrusão.

A *Srta. Ivani Valarini* pelo apoio e amizade.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos-UNICAMP pelas facilidades proporcionadas.

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ onde foram realizadas as análises de aflatoxina.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro a pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico a Pesquisa (CNPq) pela ajuda econômica facultada ao autor.

À Associação Brasileira da Indústria da Alimentação  
(ABIA) pela colaboração na impressão da tese.

Ao *Artur Bellini* pelo apoio, estímulo e carinho.

E a meus pais, irmãos e amigos a minha maior grati-  
dão.

## ÍNDICE

	Página
RESUMO .....	vii
SUMMARY .....	ix
LISTA DE QUADROS .....	i
LISTA DE FIGURAS .....	v
I - INTRODUÇÃO .....	01
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	04
A - Aflatoxina: tipos, estrutura química e efeitos tóxicos .....	04
B - Prevenção da formação das aflatoxinas em alimentos .....	05
C - Remoção da aflatoxina em alimentos .....	07
1. Remoção física da aflatoxina .....	07
2. Remoção química da aflatoxina .....	11
D - Degradação da aflatoxina em alimentos ...	15
1. Degradação física de aflatoxina .....	15
a- Degradação térmica .....	15
b- Degradação por irradiação .....	18
2. Degradação química da aflatoxina .....	20
a- Ácidos .....	20
b- Bases .....	22
c- Agentes oxidantes .....	29
d- Uso do bissulfito .....	31

3. Degradação biológica da aflatoxina ...	32
E - 0 processo de extrusão .....	34
1. Definição .....	34
2. Elementos básicos .....	35
3. Uso e vantagens .....	36
III - MATERIAIS E MÉTODOS .....	40
A - Material .....	40
1. Matéria-prima .....	40
2. Reagentes .....	40
3. Equipamentos e aparelhos .....	40
B - Métodos Analíticos .....	42
1. Umidade .....	42
2. Proteína .....	42
3. Lipídeos .....	42
4. Cinzas .....	42
5. Fibra bruta .....	42
6. Carboidratos .....	43
7. pH .....	43
8. Distribuição do tamanho de partículas.	43
9. Viscosidade .....	44
10. Índice de absorção de água (IAA) .....	45
11. Índice de solubilidade em água (ISA)..	46
12. Determinação das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> ..	46
a- Extração das aflatoxinas .....	47

b-	Purificação do extrato .....	47
c-	Partição líquido-líquido .....	47
d-	Concentração .....	48
e-	Cromatografia em camada delgada ...	48
i -	Preparo das placas .....	48
ii-	Aplicação dos extratos das amostras e do padrão nas placas .....	48
iii-	Desenvolvimento das placas ....	49
iv-	Quantificação dos extratos ....	49
v-	Cálculo da concentração das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> no ex- trato .....	49
C -	Métodos Experimentais .....	50
1.	Preparo da matéria-prima .....	50
1.1	- Beneficiamento do arroz .....	50
1.2	- Preparo das farinhas conta- minadas .....	50
2.	Testes de extrusão .....	51
2.1	- Matéria-prima .....	51
2.2	- Condicionamento da farinha .....	51
2.3	- Equipamento .....	52
2.4	- Delineamento experimental .....	52
Ensaio I	.....	53
Ensaio II	.....	53
Ensaio III	.....	53
Ensaio IV	.....	54

2.5 - Secagem dos produtos extrudados .....	54
2.6 - Moagem dos produtos extrudados .....	54
3. Extração do amido .....	58
D - Análise estatística .....	58
IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	61
A - Caracterização da matéria-prima .....	61
1. Composição química .....	61
2. Características físicas .....	61
2.1 - Granulometria .....	61
2.2 - Viscosidade .....	63
2.3 - Índice de Absorção de Água e Índice de Solubilidade em água ..	63
B - Extrusão da farinha de arroz .....	64
1. Efeito da umidade inicial da farinha (FAA), da temperatura de extrusão e da rotação da rosca (ENSAIO I) .....	65
a- Aparência dos produtos extrudados ..	65
b- Torque .....	65
c- Degradação das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> ..	68
d- Torque x Degradação das aflatoxi- nas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> .....	82
2. Efeito da umidade inicial da farinha (FAA) e da temperatura de extrusão na degradação das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> (ENSAIO II) .....	85

3. Efeito da umidade inicial da farinha (FMA) na degradação das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> (ENSAIO III).....	91
4. Efeito do teor de umidade inicial das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> presentes nas farinhas de arroz FAA, FMA e FBA na degradação das mesmas.....	95
5. Efeito do tratamento da farinha de arroz (FBA) com amônia e/ou metilamina (ENSAIO IV).....	97
a- Degradação das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> .....	97
b- Características viscoamilográficas das farinhas extrudadas.....	110
c- Índice de Absorção de Água (IAA) e Índice de Solubilidade em Água....	114
C - Processo de extração do amido. Efeito do processamento de extração do amido de arroz no teor das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> nessa fração.....	116
V - CONCLUSÕES.....	117
VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	119



## LISTA DE QUADROS

Página

- QUADRO 1. Temperatura de extrusão (°C), rotação da rosca (rpm) e umidade da farinha (%) nos 27 tratamentos de extrusão estabelecidos no ENSAIO I, usando farinha de arroz com alto teor em aflatoxinas (FAA) ..... 55
- QUADRO 2. Temperatura de extrusão (°C), rotação da rosca (rpm) e umidade da farinha (%) nos 5 tratamentos de extrusão estabelecidos no ENSAIO II, usando farinha de arroz com alto teor em aflatoxinas (FAA) ..... 56
- QUADRO 3. Temperatura de extrusão (°C), rotação da rosca (rpm) e umidade da farinha (%) nos 3 tratamentos de extrusão estabelecidos no ENSAIO III, usando farinha de arroz com teor médio em aflatoxinas ..... 56
- QUADRO 4. Concentrações de amônia e/ou metilamina usadas nos 13 tratamentos de extrusão relativos ao ENSAIO IV, usando farinha de arroz com baixo teor em aflatoxinas ..... 57

<u>QUADRO 5.</u> Composição química do arroz polido .....	62
<u>QUADRO 6.</u> Distribuição do tamanho de partícula da farinha de arroz .....	62
<u>QUADRO 7.</u> Influência da temperatura, rotação da rosca e umidade inicial da farinha nos valores de torque, nos 27 tratamentos do ENSAIO I .....	67
<u>QUADRO 8.</u> Teor inicial das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> na farinha de arroz (FAA) antes da extrusão nas condições do ENSAIO I .....	71
<u>QUADRO 9.</u> Efeito da extrusão nas condições no ENSAIO I no teor residual das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> .....	72
<u>QUADRO 10.</u> Efeito da extrusão nas condições do ENSAIO I na porcentagem de redução das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> .....	73
<u>QUADRO 11.</u> Análise de variancia dos resultados da redução da aflatoxina B <sub>1</sub> nos 27 tratamentos do ENSAIO I, conforme equação de regressão I .....	76

<u>QUADRO 12.</u> Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina B <sub>1</sub> nos 27 tratamentos do ENSAIO I, conforme equação de regressão II .....	79
<u>QUADRO 13.</u> Análise de variância dos valores das porcentagens de redução das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> em relação aos tratamentos do ENSAIO I .....	83
<u>QUADRO 14.</u> Análise de variância dos resultados do torque médio em relação à redução da aflatoxina B <sub>1</sub> .....	84
<u>QUADRO 15.</u> Análise da variância dos resultados do torque médio em relação à redução da aflatoxina G <sub>1</sub> .....	84
<u>QUADRO 16.</u> Efeito da umidade e da temperatura de extrusão da farinha na redução das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> nos produtos extrudados nas condições do ENSAIO II .....	86
<u>QUADRO 17.</u> Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina B <sub>1</sub> em função da umidade e temperatura .....	88

<u>QUADRO 18.</u> Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina G <sub>1</sub> em função da umidade e temperatura .....	89
<u>QUADRO 19.</u> Efeito da umidade da farinha de arroz na degradação das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> nos produtos extrudados nas condições do ENSAIO III .....	94
<u>QUADRO 20.</u> Efeito do teor inicial das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> em farinhas de arroz na porcentagem de redução das toxinas após extrusão, nas mesmas condições .....	96
<u>QUADRO 21.</u> Efeito do tratamento da farinha de arroz (FBA) com amônia e/ou metilamina no teor residual das aflatoxinas B <sub>1</sub> e G <sub>1</sub> e nas suas porcentagens de redução após extrusão .....	98
<u>QUADRO 22.</u> Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina B <sub>1</sub> em relação a adição de amônia e/ou metilamina .....	103
<u>QUADRO 23.</u> Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina G <sub>1</sub> em relação a adição de amônia e/ou metilamina .....	104

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<u>FIGURA 1.</u> Estruturas químicas das principais aflatoxinas .....	06
<u>FIGURA 2.</u> Esquema completo da reação de amoniação da molécula de aflatoxina B <sub>1</sub> .....	28
<u>FIGURA 3.</u> Comportamento viscoamilográfico da farinha de arroz crua .....	64
<u>FIGURA 4.</u> Aparência dos produtos extrudados nos 27 tratamentos do ENSAIO I .....	66
<u>FIGURA 5.</u> Influência da umidade inicial da farinha e da rotação da rosca do extrusor às temperaturas de 150°C (a), 200°C (b) e 250°C (c), nos valores do torque médio .....	69
<u>FIGURA 6.</u> Influência da umidade inicial da farinha à rotação da rosca de 100, 130 e 160 rpm às temperaturas de 150°C (a), 200°C (b) e 250°C (c), na porcentagem de redução das aflatoxinas B <sub>1</sub> + G <sub>1</sub> .....	74

<u>FIGURA 7.</u> Influência da umidade inicial da farinha e da temperatura de extrusão à rotação da rosca de 100 rpm (a), 130 rpm(b) e 160 rpm(c), na porcentagem de redução das aflatoxinas B <sub>1</sub> + G <sub>1</sub> .....	75
<u>FIGURA 8.</u> Influência da temperatura e da umidade da farinha antes da extrusão na porcentagem de redução da aflatoxina B <sub>1</sub> , conforme equação de regressão II (ENSAIO I) .....	81
<u>FIGURA 9.</u> Efeito da temperatura e da umidade inicial da farinha antes da extrusão na porcentagem de redução das aflatoxinas B <sub>1</sub> (a) e G <sub>1</sub> (b) .....	90
<u>FIGURA 10.</u> Imagens "Bootstrap" correspondentes à superfícies de respostas relativas a redução da aflatoxinas B <sub>1</sub> em função da umidade da farinha e da temperatura de extrusão.....	92
<u>FIGURA 11.</u> Imagens "Bootstrap" correspondentes à superfícies de respostas relativas a redução da aflatoxina G <sub>1</sub> , em função da umidade da farinha e da temperatura de extrusão .....	93

## RESUMO

*Neste trabalho foi estudada a possibilidade de degradação das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  presentes em farinha de arroz, pelo processo de extrusão e pela adição de amônia e/ou metilamina.*

*Preliminarmente foi avaliada a influência da umidade inicial da farinha, da temperatura de extrusão e da rotação da rosca, na degradação das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  presentes em farinha de arroz altamente contaminada. Cada variável foi experimentada a três níveis, de acordo com o delineamento fatorial  $3^3$ . A temperatura de extrusão e a umidade inicial tiveram influência significativa na redução do teor de aflatoxinas, ao passo que o efeito da rotação foi não significativo.*

*A adição de amônia ou metilamina foi feita nos níveis de 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0%. Foram feitos também ensaios com 1% de amônia mais 0,25, 0,50, 0,75 e 1,0% de metilamina. O uso de 1% de metilamina ou de 1% de amônia + 0,75% de metilamina reduziu os teores de aflatoxina nos produtos extrudados a níveis não detectáveis. O uso de metilamina na extrusão foi mais efetivo na degradação das toxinas do que a amônia.*

*A quantificação das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  presente nas farinhas de arroz e nos produtos extrudados foi feita por cromatografia em camada delgada.*

*Foi aplicada a metodologia de superfície resposta para a análise dos dados e para se ter uma idéia da variabilidade*

associada às estimativas feitas, foi usado um procedimento recentemente desenvolvido, o "Bootstrap". As superfícies de resposta mostraram que as maiores porcentagens de redução de  $B_1$  e  $G_1$  foram de 75%, obtidas na extrusão de farinha de arroz altamente contaminada, à umidade de 17 à 20%, com temperatura moderada (140-200°C). A rotação, sem influência significativa, foi fixada em 130 rpm. O teor inicial de aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  nas farinhas de arroz teve influência na porcentagem de degradação das mesmas.

As farinhas extrudadas com amônia e/ou metilamina apresentaram maiores valores de viscosidade inicial, em relação aos tratamentos sem adição de bases. O mesmo ocorreu em relação aos valores da viscosidade a frio e a quente. A adição de amônia e/ou metilamina praticamente não afetou os valores do índice de absorção de água, porém provocou a redução dos valores do índice de solubilidade em água, principalmente com o uso de metilamina.

A extração do amido de farinhas altamente intoxicadas parece ser uma forma de reaproveitamento do produto, visto que não foram detectadas as aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  nessa fração, obtida pelo processo alcalino.



## SUMMARY

*In this research, the possibility of aflatoxins B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> in rice flours being degraded using the extrusion process with and without the prior addition of ammonium hydroxide and/or methylamine, was studied.*

*Initially, the influence of different combinations of flour moisture, extrusion temperature and screw velocity on the degradation of high levels of aflatoxins B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> present in rice flour, was evaluated. Every parameter was tested at three levels, according to a factorial experimental design 3<sup>3</sup>. The extrusion temperature and the flour moisture content significantly reduced the aflatoxins, whereas the effect of screw velocity was not significant.*

*Ammonium hydroxide and/or methylamine were added at levels of 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0%. The use of 1.0% ammonium hydroxide together with 0.25, 0.50, 0.75 and 1.0% methylamine was also tested. The use of 1.0% methylamine or 1% ammonium hydroxide plus 0.75% methylamine reduced the aflatoxin contents of extruded products to undetectable levels. In general, the use of methylamine in the extrusion process was more effective than ammonia in degrading toxins.*

*The quantification of aflatoxins B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> in rice flours and extruded products was performed by thin layer chromatography.*

Surface response methodology was applied to analyse the data, and the recently developed Bootstrap procedure was used to obtain an idea of the variability associated with the estimates thus obtained. The surface response showed that the highest rate of reduction of aflatoxins  $B_1$  and  $G_1$  was 75%, this being obtained using the extrusion of highly contaminated rice flour containing 17 to 20% moisture content, and a moderate extrusion temperature (140-200°C). Due to its insignificant influence, the screw rotation was fixed at 130 rpm. The initial contents of aflatoxins  $B_1$  and  $G_1$  in the rice flours, influenced their degradation rates.

The rice flour extruded using ammonia and/or methylamine showed higher initial viscosities than that extruded without the addition of these bases. The some results were obtained for cold and hot viscosities. The addition of ammonia and/or methylamine had virtually no effect on the water absorption index, but caused a reduction in the water solubility index, especially using methylamine.

The extraction of starch from highly contaminated rice flour using the alkaline process might be a means of using such products, since the aflatoxins  $B_1$  and  $G_1$  were not detected in this fraction.

## I. INTRODUÇÃO

O arroz figura, indiscutivelmente, entre os mais importantes cereais em nosso país, tendo sido sua produção média, nos últimos 5 anos, de aproximadamente 9.0 milhões de toneladas anuais, o que representa cerca de 30% da produção de cereais (32).

A parte externa dos cereais e grãos apresenta uma microflora variável, podendo ser encontrados fungos do grupo de *Aspergillus flavus*, onde se incluem várias linhagens capazes de produzir metabólitos tóxicos denominados aflatoxinas.

A primeira informação sobre o efeito tóxico da aflatoxina foi a morte de um grande número de peruzinhos ocorrida em 1960 na Inglaterra, devido à ingestão de farelo de amendoim importado do Brasil.

As normas brasileiras estabelecem em 30 ppb o nível máximo de aflatoxinas ( $B_1 + G_1$ ) em produtos destinados à alimentação humana. Em outros países esse limite varia entre 50 ppb e zero (31).

O problema da aflatoxina no Brasil assume um caráter sério porque infelizmente não temos condições adequadas e suficientes para a limpeza e a secagem dos grãos imediatamente após a colheita e também para seu armazenamento em boas condições. Estes fatores são essenciais para minimizar o problema da proliferação da toxina na estocagem.. É grande, portanto, o risco da perda de elevadas quantidades de alimentos contaminados com

aflatoxina, os quais não podem ser usados para consumo humano, nem animal.

Para o aproveitamento do produto contaminado é de grande importância desenvolver procedimentos práticos para remover ou degradar as aflatoxinas.

Vários processos, incluindo extração com solvente, tratamentos térmicos, químicos e microbiológicos, têm sido amplamente estudados, mas nenhum deles mostrou-se efetivo devido à dificuldade de remoção e da resistência à degradação térmica da aflatoxina. Além disso, a maioria desses procedimentos parecem ser comercialmente impraticáveis devido a sua complexidade, a redução da qualidade nutricional do produto ou ainda por serem economicamente inviáveis (36).

O cozimento de alimentos por extrusão é uma tecnologia com características únicas, muito versátil e que vem sendo empregado para controlar e desativar fatores antinutricionais e enzimas e também para pasteurizar e esterilizar produtos alimentícios (72).

Com base nesses antecedentes, propusemo-nos a estudar a possibilidade de se destoxificar arroz contaminado com aflatoxina, através do processo de extrusão.

Dentro deste contexto, objetivamos:

1. Determinar, preliminarmente, as condições de extrusão (temperatura, rotação da rosca e umidade da farinha) que possibilitassem uma maior degradação das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> em farinha de arroz.

2. Estudar a degradação das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> contidas nas farinhas de arroz, em relação às concentrações iniciais, conforme as condições de extrusão estabelecidas em 1.
3. Investigar a influência da adição da amônia e/ou metilamina no pH da farinha e na degradação das toxinas, conforme as condições de extrusão estabelecidas em 1.
4. Extrair o amido da farinha de arroz intoxicada e verificar a influência do processamento no teor residual das toxinas, nesta fração.

## II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### A - Aflatoxina: tipos, estrutura química e efeitos tóxicos

No início da década de 60, foi evidenciado o potencial de alguns fungos para a produção de metabólitos tóxicos em alimentos. Após a identificação do fungo como sendo o *Aspergillus flavus* Link ex Fries, a substância tóxica recebeu o nome de Aflatoxina (*A. flavus* toxina).

Estudos subsequentes sobre os processos de purificação e dosagem, revelaram dois tipos de aflatoxinas, denominadas de aflatoxina B (de "blue" = azul) e aflatoxina G (de "green" = verde) devido às cores de suas fluorescências à luz ultravioleta.

Posteriormente foi verificado que a aflatoxina B correspondia a duas frações que foram denominadas de B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, e que a G, também a outras duas denominadas de G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>. Foi verificado também que elas eram produzidas na proporção de 40:1:50:1, respectivamente, para B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> (31), embora hoje se saiba que essa proporção é muito variável.

Vários trabalhos citam a existência das aflatoxinas M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub>, excretadas no leite e na urina de animais alimentados com farelos tóxicos, apresentando toxidez praticamente igual às das B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, respectivamente. Foram também isoladas as aflatoxinas B<sub>2a</sub> e G<sub>2a</sub> com toxicidades de 60 a 100 vezes inferior as das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>, das quais derivaram (24). As estru

turas químicas das principais aflatoxinas são apresentadas na Figura 1.

As aflatoxinas são tóxicas e carcinogênicas para animais domésticos e de laboratório. Obviamente, não foram realizados experimentos diretamente com seres humanos, mas para macacos, uma dose diária de 0,05 mg/kg (peso corporal), mostrou-se letal no curso de 1 a 3 meses, segundo CAMPBELL e STOLOFF (12). Na Tailândia, entre várias pessoas que se alimentaram com arroz mofado, 25 delas ficaram doentes e 3 crianças morreram, conforme estudo de TUNG e LING ( 81 ).

Foi determinada a  $DL_{50}$  das quatro frações em marre-  
quinhos de um dia, com média de 50g de peso vivo, verificando-se que eram 18,2, 39,2, 84,8 e 172,5 microgramas, respectivamente para as aflatoxinas  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$  e  $G_2$  ( 31 ). Nos animais, o órgão atacado, por excelência, é o fígado que pode apresentar-se hemorrágico, com cirrose ou com carcinomas. Os rins podem apresentarem-se congestionados e hemorrágicos, além da necrose do parên-quima hepático e proliferação das células dos canais biliares (31).

#### B - Prevenção da formação das aflatoxinas em alimentos

A infecção do *A. flavus* em alimentos foi reconhecida como uma fonte de contaminação de micotoxinas. Tendo em vista que esses fungos ocorrem naturalmente nos alimentos, os métodos de prevenção da formação de aflatoxina baseiam-se, fundamentalmente, na inibição da proliferação do *A. flavus* (21).

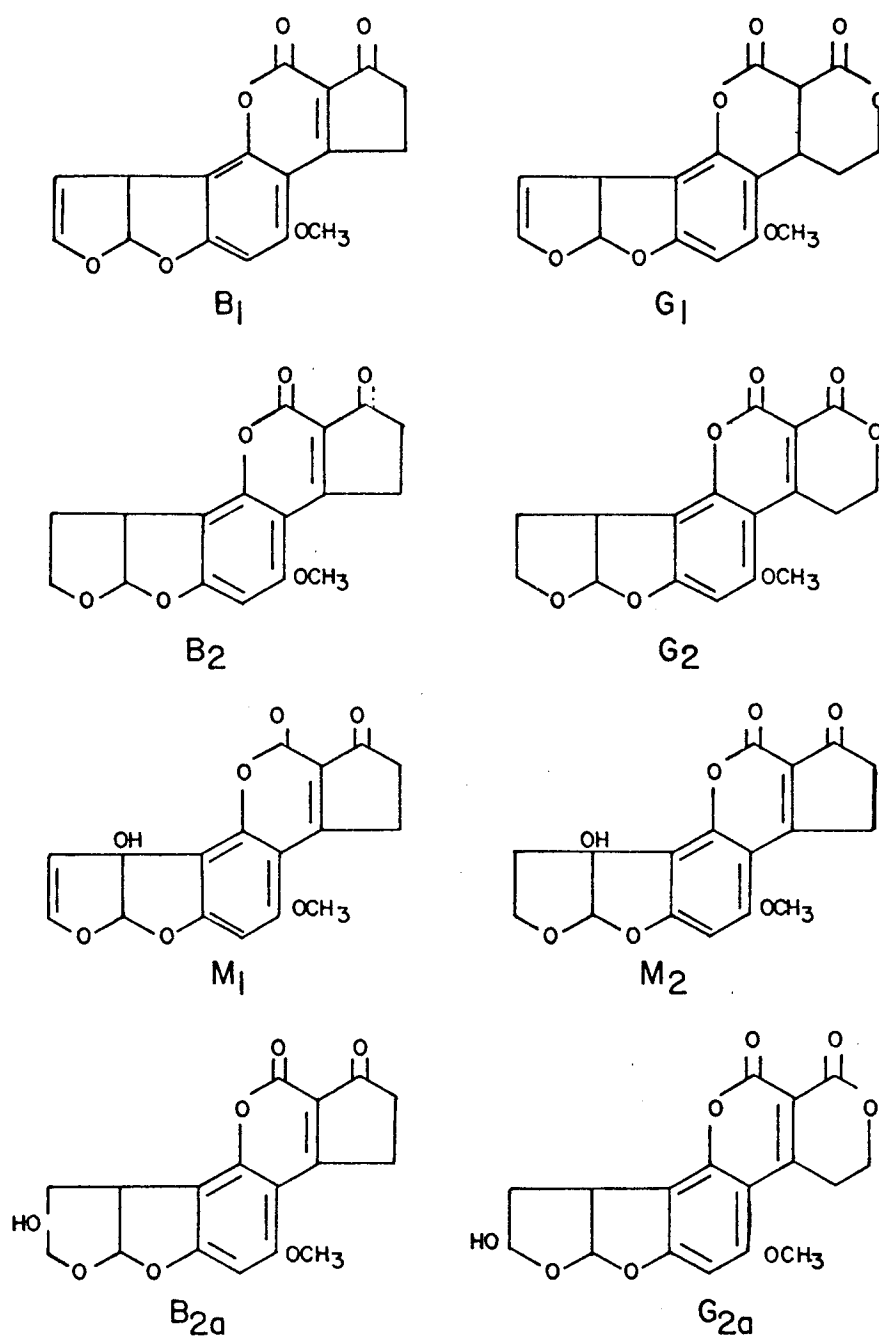


FIGURA 1. Estruturas químicas das principais aflatoxinas.



O controle das práticas agrícolas usadas no plantio, cultivo, colheita e secagem dos produtos e o controle das condições de armazenamento dos mesmos, são os principais fatores relacionados com a prevenção da contaminação da aflatoxina em alimentos.

Não obstante os grandes esforços direcionados à prevenção, a contaminação de aflatoxinas em alimentos pode ocorrer, especialmente nos anos em que chove muito durante a colheita. Por isso outros caminhos devem ser pesquisados visando deixar os alimentos livres de aflatoxina, porém tendo sempre em mente que eles poderão ser aplicados somente se as medidas preventivas falharem, e nunca como uma alternativa às boas práticas de cultura e de estocagem.

## C - Remoção da aflatoxina em alimentos

### 1 - Remoção física da aflatoxina

Os métodos de remoção física usados são basicamente relacionados com o peso, tamanho, côr, exame microscópico e moagem dos grãos.

A razão fundamental para a remoção física das sementes contaminadas por aflatoxina, é baseada no reconhecimento que as toxinas são frequentemente encontradas em pequena porcentagem de sementes do material adulterado (73). O acúmulo de aflatoxinas em alguns grãos de amendoim alcançou níveis elevados como 1 mg de toxina/g de amendoim, conforme relatado por LEE (43).

Os resultados obtidos por WOGAN ( 86 ) em amostras de amendoim contendo 150 ppb de aflatoxina mostraram que, através de sucessivas separações, 0,7% da amostra original, rejeitada por separação mecânica em peneiras apresentou 2.500 ppb de aflatoxina. As separações seguintes, usando célula fotoelétrica, seguida de separação manual, rejeitaram respectivamente, 30 e 150 a -375 ppb de aflatoxina. O produto final, representando 83.7% de toda a amostra, apresentou quantidades negligenciáveis de aflatoxina (<3 ppb). Outros autores, citados por DETROY *et alii* (21), também obtiveram resultados similares usando a seleção de amendoins por separação mecânica, eletrônica e manual.

Entretanto, BREKKE *et alii* (8) mostraram que vários métodos de separação física que incluíram a limpeza úmida e seca dos grãos e a separação manual, não foram efetivas no decréscimo do conteúdo de aflatoxina em lotes de milho naturalmente contaminados, contendo de 10 a 450 ppb de toxina. A fragmentação sob condições de impacto, seguida da separação dos grãos inteiros por peneiragem também mostrou-se insatisfatória. Entretanto CUCULU *et alii* ( 19 ) mostraram que apesar da separação física contribuir para a redução dos níveis de aflatoxina em amendoins contaminados, grãos intactos e aparentemente saudáveis podem conter aflatoxina porque o fungo pode desenvolver-se entre os cotilédones da semente e não ser perceptível do lado externo do grão inteiro. Para superar esse problema, foi sugerido que o processo de seleção final fosse feito nos grãos partidos ao meio ( 36 ).

As sementes de algodão contaminadas com aflatoxina não podem ser distinguidas das não contaminadas sob luz ordinária. Foi observado uma alta correlação entre a fluorescência amarelada esverdeada, sob luz ultravioleta, de sementes comprometidas, com seus conteúdos de aflatoxina (36). Com base nisso, ASHWORTH *et alii* (4) propuseram um equipamento para separação eletrônica das sementes fluorescentes das não fluorescentes. Apesar do custo ser proibitivo em grande escala, não oferecendo uma solução prática ao problema, a seleção eletrônica pode ser facilmente adaptada para a identificação de aflatoxina em grandes lotes de algodão, através de amostragem adequada, possibilitando desta forma, uma segregação prévia.

As características de densidade das sementes de algodão têm sido também usadas para discriminar sementes contaminadas das não contaminadas, através da utilização de um aparelho de projeção. As sementes sadias e maduras são projetadas a uma maior distância que as sementes contaminadas devido à sua maior densidade. Em testes iniciais, sementes de algodão contendo 40-80 ppb de aflatoxina B<sub>1</sub> apresentaram mais de 63% da toxina B<sub>1</sub> concentrada em 6% das sementes, enquanto que 85% da toxina poderia ser obtida de 25% das sementes, conforme citado por GOLDBLATT (36). Entretanto, testes posteriores usando essa técnica, indicaram que o método era inconsistente.

Conforme trabalho de AUSTWICK e AYERST (5), o exame de amendoins em pequeno aumento microscópico facilitou a identificação do talo do *A. flavus*, devido a certas características morfológicas. Além disso, foi constatada por DICKENS e

WELTY (22), uma correlação significativa entre amendoins com aflatoxina e a rápida identificação do *A. flavus* pelo microscópio.

Em estudos de laboratório conduzidos por YAHL *et alii* (86) sobre a moagem úmida de milho, contendo níveis de aflatoxina de 120 a 638 ppb, foi observado que a água de maceração apresentou a maior parte da aflatoxina (39-42%), enquanto que a fibra, o glúten e o germe apresentaram respectivamente 30-38%, 14-17% e 6-10% da toxina original. Na fração amilácea foi recuperada cerca de 1% da aflatoxina contida originalmente no milho e 80 a 90% na água de maceração, na fibra e no germe.

Em estudo feito em planta-piloto por BREKKE *et alii* (10) foi determinada a distribuição da aflatoxina entre as várias frações obtidas na moagem seca do milho naturalmente contaminado. Os resultados obtidos mostraram que o germe, a casca ou a fração de finos degerminados apresentaram os mais altos teores de aflatoxina, enquanto que os grits, farelo e farinha de baixo teor de gordura, tiveram os mais baixos valores.

SCHROEDER *et alii* (74) estudaram a efetividade do processo de beneficiamento do arroz na remoção da aflatoxina. Primeiramente foi inoculada no arroz em casca, uma linhagem de *A. parasiticus* produtora de toxina, o qual foi estocado em atmosfera úmida (cerca de 100% de umidade relativa) à 30°C. Desta forma, após 15 a 33 dias foram obtidas amostras de arroz em casca com concentrações máximas de aflatoxina, as quais foram submeti

das ao processo de beneficiamento. Os resultados obtidos mostraram que uma média de 60 a 80% das toxinas, com base em peso, foram encontradas no farelo e na fração de polimento do grão, o que representou uma concentração 10 vezes superior à encontrada nos grãos polidos.

Apesar da contaminação de aflatoxina em lotes de grãos ser geralmente encontrada em apenas uma pequena porção dos mesmos, comumente inferior a 1%, os métodos de separação e remoção física dos grãos contaminados são, em muitos casos, pouco eficientes e de uso prático limitado. Entretanto, a seleção manual pode contribuir para uma remoção considerável de aflatoxinas em determinados produtos como por exemplo, o amendoim para consumo humano, onde esse tipo de seleção é usualmente empregado.

## 2 - Remoção química da aflatoxina

Vários tratamentos químicos têm sido propostos com a finalidade de reduzir o conteúdo de aflatoxina de farelos e farinhas.

A possibilidade de remoção da aflatoxina através de uma simples lavagem dos grãos com água ou álcali diluído tem sido objeto de muita discussão. Foi verificado que grãos de amendoim com alto teor de aflatoxina apresentaram grande parte da toxina profundamente difundida no interior do grão, impossibilitando uma remoção efetiva da mesma pela simples lavagem dos

grãos inteiros ou partidos ao meio (19). LEE (43) também verificou que a distribuição da toxina no interior do grão torna a extração da aflatoxina em sementes intactas, um método não prático.

Por outro lado, um bom potencial para remover aflatoxina é oferecido pela extração do óleo de várias sementes oleaginosas, tais como o algodão e o amendoim, com o uso de solventes. As práticas correntes de processamento por esmagamento mecânico ou extração com hexana comercial, deixam na torta desengordurada a grande maioria da aflatoxina presente na semente. O óleo bruto obtido pode conter quantidades variáveis de aflatoxina, dependendo da matéria-prima e das condições usadas no processamento. Entretanto, a refinação alcalina convencional, a lavagem e o branqueamento do óleo contaminado com toxina reduziram os níveis de aflatoxina no óleo para menos de 1 µg toxina/kg (36).

Vários trabalhos foram feitos visando a extração com solventes das aflatoxinas presentes em produtos contaminados. A adição de 1% de bicarbonato de sódio à torta de amendoim contaminada, após extração do óleo, removeu completamente a toxina, mas 33% da proteína foi também extraída. O uso de uma solução aquosa de cloreto de cálcio a 1% mostrou-se promissor, retirando 80% da toxina e apenas 6% da proteína (77).

GARDNER *et alii* (34) obtiveram bons resultados, a nível de laboratório usando um sistema de solventes terciário contendo 54% de acetona, 44% de hexana e 2% de água (peso/peso), re

movendo simultaneamente o óleo (12-15%) e a aflatoxina (100-300 ppb) da torta de amendoim ou algodão pré-prensada inicial. O teor residual de lipídeos da torta foi de 0,5-1,2%, eliminando 85 à 95% da aflatoxina B<sub>1</sub> inicialmente presente. A efetividade da mistura terciária de acetona-hexana-água foi também citada por ROBERTSON *et alii* (70), usando torta de amendoim ou amendoim moído.

Os solventes puros como a acetona, o benzeno, o clorofórmio, não permitiram a remoção quantitativa da toxina do produto contaminado, como foi mostrado por FEUELL (29). Entretanto foram obtidos bons resultados utilizando esses solventes em misturas binárias à base de água. Desta forma, a mistura acetona-água (90 + 10), proposta por GARDNER *et alii* (34), ou acetona-água (70 + 30) preconizado por PONS e EAVES (65), permitiram eliminar cerca de 85% da toxina presente.

A remoção de aflatoxina de tortas usando álcool e água foi estudado por RAYNER e DOLLEAR (68). O uso de isopropanol aquoso à 80% foi efetivo na remoção da aflatoxina de tortas contaminadas de algodão e de amendoim. A extração com 6 estágios, à 60°C resultou em remoção completa de aflatoxinas, em ambas as tortas. Em condições similares de extração, a mistura azeotrópica isopropanol-água (87,7% isopropanol em peso) removeu 88% e 79% das aflatoxinas totais da torta de amendoim e algodão, respectivamente. O uso de temperaturas mais baixas foi menos efetivo em ambos sistemas de solventes. Foi também obtida boa redução no conteúdo de aflatoxina em tortas de algodão e

amendoim contaminadas, através da extração à 75°C com metanol aquoso à 95,6% (67).

Misturas de hexana-metanol, hexana-etanol, hexana-etanol-água e hexana-acetona-água usadas por VORSTER (83) reduziram consideravelmente a porcentagem de aflatoxina de torta de amendoim, usando o aparelho de Soxhlet, em escala de laboratório. As maiores reduções foram obtidas com hexana-acetona-água e hexana-metanol.

Segundo GOLDBLATT (36), vários sistemas podem ser adequados para remoção de aflatoxinas de farelos ou farinhas, especialmente os sistemas baseados em álcoois como o isopropanol e o etanol, ou em acetona. Tais sistemas de solventes têm a vantagem de, sob condições adequadas, remover essencialmente todas as aflatoxinas, com pouca probabilidade de formação de produtos derivados da mesma com atividade fisiológica adversa, e também sem uma redução apreciável do conteúdo de proteína ou da sua qualidade nutricional.

Entretanto, para se considerar a remoção de aflatoxina de tortas usando solventes é preciso computar o custo adicional do processamento, a necessidade de uma extração especial, equipamentos para recuperação de solvente e a perdas de alguns componentes da torta solúveis em água, principalmente carboidratos. Também no caso de solventes contendo acetona pode ser notado efeitos adversos no sabor e odor (29).

Portanto, considerando-se estes aspectos, a extração com solvente, como um instrumento na destoxificação prática, ne



cessita ainda de maiores estudos. Entretanto, a sugestão de que as tortas contaminadas com aflatoxina sejam destinadas a fertilizantes fica como um impulso para posteriores desenvolvimentos neste campo.

#### D - Degradação da aflatoxina em alimentos

A degradação da aflatoxina pode ser obtida por meios físicos, químicos ou microbiológicos. Qualquer um desses tratamentos deve não apenas degradar as aflatoxinas mas também reter o valor nutritivo do material processado, sem deixar resíduos nocivos.

##### 1 - Degradação física da aflatoxina

Embora as aflatoxinas sejam muito estáveis a altas temperaturas, vários trabalhos foram feitos visando sua degradação através de tratamentos térmicos dos produtos contaminados.

Devido à sensibilidade das aflatoxinas à luz ultravioleta e aos raios gama, alguns investigadores estudaram a possibilidade de sua degradação em produtos contaminados, usando essas radiações.

##### a - Degradação térmica

Na ausência de água, as moléculas de aflatoxina são muito estáveis termicamente, o que explica os resultados pouco efetivos obtidos em tortas e em grãos de amendoim tratados por calor seco (63).

Em ensaios de destruição por cozimento em meio seco, as aflatoxinas isoladas mostraram-se estáveis até seu ponto de fusão (250°C). De fato, a destruição das moléculas de aflatoxina é iniciada pela hidrólise da lactona, o que implica, necessariamente, além da energia térmica, a presença de água (7).

Estudos de MANN *et alii* (51) confirmaram essa relação entre a taxa de umidade do substrato tratado e a taxa de destruição da toxina pelo calor. Os resultados mostraram que, torta de algodão aquecida à 100°C por 1 hora, com teor de umidade de 6.6%, apresentou uma taxa de destruição de aflatoxina B<sub>1</sub> não superior à 25%, porém, quando o teor de umidade aumentou para 30%, a taxa de destruição foi próxima à 80%. Resultados similares foram também obtidos por COOMES *et alii* (18) com tortas de amendoim tratadas em autoclave. Os testes biológicos indicaram que a aflatoxina no farelo autoclavado foi convertida em produtos não tóxicos.

LEE *et alii* (46) avaliaram o efeito da torração a seco e com óleo de pequenas amostras de amendoins contendo níveis de aflatoxinas totais de 130, 260, 2560 e 6300 µg/kg. As torrações foram feitas em cinco condições de tempo-temperatura, simulando aquelas usadas na indústria de amendoim torrado. A redução média no conteúdo de aflatoxina variou de 45 a 83%, dependendo das condições de torração e do nível inicial de toxina na amostra. Houve uma redução total de 65% em B<sub>1</sub> e 62% em G<sub>1</sub> na torração com óleo e 69% em B<sub>1</sub> e 67% em G<sub>1</sub> na torração a seco. O grau de redução no conteúdo de aflatoxina foi maior nos níveis

de contaminação mais elevados, para ambas as torrações usadas. Outras pesquisas, usando amendoins e pecãs também demonstraram que a torração pode baixar acentuadamente a concentração de aflatoxina. Os níveis de aflatoxina B<sub>1</sub> foram reduzidos em aproximadamente 50 a 70%, dependendo da concentração inicial da toxina e do tipo e temperatura de torração (28, 84). Estudos anteriores feitos por LEE *et alii* (47) mostraram reduções médias das aflatoxinas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> de 70% e 45%, respectivamente, após a torração.

CONWAY *et alii* (17) usando dois tipos de torradores contínuos obtiveram reduções de 40 a 80% no teor de aflatoxina em milho através de uma única passagem pelo torrador. Entretanto, o tratamento prévio do milho contaminado, acondicionando-se à 20% de umidade com solução aquosa de amônia, por 3 horas seguido pela torração, provocou reduções superiores a 90% em relação ao teor de aflatoxina original do mesmo.

A destruição da aflatoxina em arroz por diferentes métodos de cozimento foi estudado por REHANA *et alii* (69). Os resultados mostraram que a cocção normal destrói 49% da aflatoxina e os cozimentos sob pressão e com excesso de água destroem aproximadamente 73 e 82% das toxinas, respectivamente.

A efetividade da torração por microondas na redução da contaminação das aflatoxinas em amendoim foi estudada por LUTER *et alii* (50). Aos níveis de potência de 1,6 kW por 16 minutos ou 3,2 kW por 5 minutos, foi observada uma redução de no mínimo 95%. Em ambos os tratamentos, o grau de torração resultante foi satisfatório, e os teores de proteína e gordura não fo-

ram afetados. Foi notado que em todos os casos a temperatura final foi 150°C ou superior, e os níveis de aflatoxina foram reduzidos a 5 ppb.

Pelos trabalhos discutidos nesse parágrafo, foi evidenciado que, parece difícil pretender chegar-se a uma destoxificação total, por um simples tratamento térmico. Além disso, essa técnica acarretou o prejuízo da qualidade das proteínas no substrato tratado.

#### b - Degradação por radiação

O uso da irradiação como um método de inativação de material contaminado com aflatoxina tem sido considerado por diversos grupos de pesquisa (21).

Vários investigadores têm observado que as aflatoxinas são sensíveis a luz ultra-violeta, conforme citado por MARTH e DOYLE (53). Foi observado a formação de fotoprodutos da irradiação ultra-violeta das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> em placas de cromatografia de camada delgada ou em soluções metanólicas, enquanto que pouca modificação foi notada em tratamento análogo da aflatoxina sólida ou de soluções de aflatoxina em clorofórmio ou em clorofórmio-metanol (95:5). O principal fotoproduto de B<sub>1</sub> foi marcadamente menos tóxico que o material original (3). Foi observada a conversão da aflatoxina B<sub>1</sub> a derivados metoxilados de B<sub>2</sub>, em soluções metanólicas irradiadas com ultra-violeta, conforme citado por DETROY *et alii* (21).

Foi feito um estudo extensivo sobre os efeitos da irradiação ultra-violeta na destruição da aflatoxina B<sub>1</sub> em benzeno, clorofórmio, etanol e metanol (21). A toxicidade dessas soluções de aflatoxina foram fortemente reduzidas, após a irradiação ultra-violeta, conforme mostraram os testes biológicos. A fotossensibilidade da molécula de aflatoxina aos raios ultra-violetas dependeu muito da natureza do solvente no qual se encontraram as aflatoxinas. A inativação da aflatoxina foi devido a uma interação entre certos solventes e as moléculas da toxina, sendo a reação catalizada pela radiação ultra-violeta (3).

WEI e CHU (85), estudaram a influência destas radiações sobre as aflatoxinas B e G em solução de diversos solventes. Foi mostrado que a luz ultra-violeta cataliza as reações de adição das moléculas de álcool e de água na dupla ligação do anel furânico, o que explica a sensibilidade estrita das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> a essa radiação.

FEUELL (29) fez uma avaliação do uso prático da radiação ultra-violeta na degradação da toxina. Nesse estudo, camadas finas de 10cm de torta de amendoim contaminada com aflatoxina foram expostas durante 8 horas a luz ultra-violeta, não resultando em mudanças aparentes na fluorescência da toxina e no grau de toxicidade das mesmas. Resultados similares foram obtidos pela exposição da torta a raios gama na dosagem de 2,5Mrad.

Outros trabalhos mostraram que as aplicações de radiação gama em baixas dosagens como as normalmente usadas na agricultura (50-100 Krads) produziram aumento pronunciado na

síntese de aflatoxinas. Entretanto, o uso de altas doses (400-600 Krads) garantiram a eliminação total do crescimento do fungo e a formação das toxinas mas infelizmente, causaram a deterioração da qualidade do grão (37).

De uma forma geral, apesar da fotodegradação em soluções ter sido demonstrada, a degradação total das moléculas de aflatoxina por irradiação direta de alimentos é muito difícil e inviável como método prático de destoxificação.

## 2 - Degradação química da aflatoxina

A degradação química da aflatoxina em alimentos contaminados requer um sistema capaz de converter a toxina em derivados não tóxicos, sem mudanças prejudiciais no material original. Muitas substâncias químicas tem sido selecionadas como reagentes para tal finalidade, principalmente ácidos, bases e agentes oxidantes.

### a - Ácidos

A ação de degradação que exercem as soluções aquosas de ácidos fortes sobre as aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> é amplamente conhecida. Vários investigadores têm relatado que ácidos fortes catalizam a adição de água ao grupo vinileno da molécula dihidrofurano das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>, produzindo as hidroxiaflatoxi-

nas denominadas aflatoxinas B<sub>2a</sub> e G<sub>2a</sub>, respectivamente (15, 24, 64). Segundo PONS *et alii* (64) a reação de transformação de B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> a B<sub>2a</sub> e G<sub>2a</sub> em meio ácido (pH = 1) foi diretamente relacionada com as condições de temperatura.

Resultados obtidos por CIEGLER e PETERSON (15), mostraram que o tratamento da aflatoxina com uma solução 0,1 molar de ácido cítrico a 28°C, durante dois dias resultou nas aflatoxinas B<sub>2a</sub> e G<sub>2a</sub>, que apresentaram 1/500 da toxicidade da aflatoxina B<sub>1</sub>.

POHLAND *et alii* (62) mostraram que o tratamento de uma solução de aflatoxina B<sub>1</sub> com ácido clorídrico 0,01 N, à uma temperatura de 37°C, apresentou uma taxa de conversão em hidroxiaflatoxina B<sub>2a</sub> muito baixa (4%); entretanto, em soluções de HCl 0,1 N e 0,5 N foram obtidas 30 e 90% de taxa de conversão, respectivamente.

Os tratamentos com soluções ácidas fortes não têm possibilidade de serem usados na destoxificação industrial de produtos agrícolas, por diversas razões. Primeiramente pela necessidade de condições relativamente drásticas para que ocorra a conversão das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> a B<sub>2a</sub> e G<sub>2a</sub>, respectivamente, o que fatalmente acarreta degradação de parte das proteínas. Além disso, as aflatoxinas B<sub>2</sub> e G<sub>2</sub> não são degradadas em meio ácido, e embora sejam menos tóxicas e menos abundantes que a aflatoxina B<sub>1</sub> são também nocivas à saúde dos animais. Enfim, não pode ser esquecida a possibilidade da reação inversa, ou seja, a desidratação das aflatoxinas B<sub>2a</sub> e G<sub>2a</sub>, particularmente

no estômago dos animais, com a re-formação das aflatoxinas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> originais (7).

#### b - Bases

As bases fortes orgânicas ou inorgânicas, reagem com as moléculas de aflatoxina pelo ataque da molécula no anel lactônico. As bases foram consideradas, entre todos os agentes químicos testados em laboratório, como produtoras dos resultados mais promissores na degradação das aflatoxinas (7).

Os óleos comestíveis refinados constituem um exemplo de que o uso de bases pode degradar a aflatoxina (61). O óleo bruto obtido na extração com solvente ou por prensagem apresentou pequenas frações da aflatoxina original (5.500 ppb) presente no amendoim. Entretanto, durante o refinamento alcalino comercial e a lavagem do óleo, 90-95% da aflatoxina presente no óleo bruto foram eliminadas (61). Admite-se que, a solução de NaOH atue no anel lactônico da molécula de aflatoxina, formando um sal de sódio solúvel em água, o que explica a eliminação da maior parte da aflatoxina nas operações de lavagem, após a neutralização (7).

Torta de amendoim contendo 70 ppb de aflatoxina B<sub>1</sub>, 30 ppb de aflatoxina B<sub>2</sub> e 11 ppb de aflatoxina G<sub>1</sub>, foi submetida ao tratamento térmico com hidróxido de sódio (2% do peso da torta) e 30% de umidade, por 2 horas à 100°C, com redução do nível de aflatoxina total a traços da substância. Nas mesmas condições, o uso de metilamina (1,25% do peso da torta) ou de amônia (15



minutos, 15% de umidade,  $73^{\circ}\text{C}$ ,  $43 \text{ lb/in}^2$  e 6,7% de concentração de amônia) foram igualmente efetivos na diminuição da aflatoxina à quantidades traços nas tortas de amendoim tratadas. Porém, o tratamento com gás ozona (umidade de 30%, por 2 horas à  $100^{\circ}\text{C}$ , com um fluxo de 1,5 g/hr) deixou remanescente na torta final, 5 ppb de aflatoxina  $B_1$ , 10 ppb de  $B_2$  e 3 ppm de  $G_1$ . Todas as tortas tratadas foram submetidas a avaliação biológica, não sendo notadas alterações no fígado, em testes com perús. Entretanto, foi observado uma redução na qualidade da proteína das tortas de amendoim submetidas aos vários tratamentos, a qual foi avaliada pelas características físico-químicas e pelo PER. As maiores reduções foram observadas nos tratamentos com hidróxido de sódio e ozona. Os resultados mostraram que o tratamento com amônia produziu uma torta com baixo conteúdo de aflatoxina, no menor tempo de tratamento e com moderada alteração na qualidade das proteínas (23).

O uso de metilamina na degradação das aflatoxinas deu ótimos resultados tanto em tortas de amendoim (23), como em tortas de algodão (52). Os produtos resultantes da reação não apresentaram qualquer toxidez.

Foi descrito um procedimento de destoxificação, combinando a ação de uma base inorgânica não volátil, o hidróxido de cálcio, à de uma base orgânica volátil, a monometilamina. Sabendo que, a destruição da molécula de aflatoxina não é verdadeiramente efetiva, se o pH da torta não atingir 9.5 à 10, GIDDEY *et alii* (35) misturaram 1.5 a 2.0% de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  e 0.4 a 0.6% de monometilamina, com base no peso da torta, elevando o pH a

valores próximos a 10. Em misturador contínuo, à pressão atmosférica, foi feito o tratamento térmico da torta de amendoim à 85°C por 30 minutos. O grau de destoxificação total obtido foi de 96% e os testes toxicológicos efetuados em embriões de frango mostraram que o procedimento usando o hidróxido de cálcio/metilamina não pareceu induzir a novas substâncias tóxicas.

PARK *et alii* (60) trataram torta de amendoim naturalmente contaminada, a qual foi adicionada aflatoxina com carbono marcado, pelo processo metilamina-hidróxido de cálcio. Foi adicionado 2% de  $\text{Ca(OH)}_2$  e 0.5% de metilamina, à torta contendo 24% de umidade, em um misturador aquecido à 100°C por 1 hora. Nessas condições, o conteúdo de aflatoxina foi reduzido de 94 à 100%. Foi observado que 69-86% da radioatividade permaneceu no resíduo após extração com clorofórmio/ $\text{H}_2\text{O}$ , metanol, ácido acético ou água. A digestão enzimática da torta tratada aumentou a quantidade de compostos na extração, mas 38% da radioatividade permaneceu no resíduo. Os produtos obtidos, derivados da aflatoxina, apresentaram menor toxicidade.

Torta de amendoim contaminada com 600 ppb de aflatoxinas foi tratada com formaldeído e/ou hidróxido de cálcio em um reator operado fechado e à pressão atmosférica. Em geral, a adição de hidróxido de cálcio ao formaldeído causou maior inativação das toxinas, em relação ao formaldeído apenas. Os tratamentos com o reator fechado usando 25% de umidade na torta, 0,5% e 1,0% de formaldeído com 2,0% de hidróxido de cálcio, por 1 hora, apresentaram produtos finais com 3 e 1 ppb de aflatoxina, respectivamente. O refluxo à pressão atmosférica com 20% de

umidade, tratamento de 1 hora com 1,0% de hidróxido de cálcio, deram produtos com 5 ppb de aflatoxina (16).

Dentre os métodos de destoxificação de tortas contaminadas com aflatoxina usando base, a amoniação parece ser um dos tratamentos mais eficientes e práticos. Ensaios feitos por GARDNER *et alii* (33) em planta-piloto, usando torta de amendoim contendo 121 ppb de aflatoxina e torta de algodão com 350 ppb de aflatoxina, indicaram que a amoniação inativou as aflatoxinas na torta de amendoim original a níveis não detectáveis, em todos os ensaios e a 4 ppb, na torta de algodão. Foi observado também que o aumento na pressão de amônia ou no conteúdo de umidade inicial da torta resultaram em maior decréscimo de aflatoxina. O uso de torta de algodão tratada com amônia em rações de ruminantes foi aprovada pela "Food and Drug Administration" nos Estados Unidos, desde 1968.

Após amoniação e estocagem em escala de laboratório, de milho condicionado a 17,6% de umidade, a 25°C por 14 dias, o nível de aflatoxina B<sub>1</sub> foi reduzido de 1.000 para 10 ppb. O experimento em escala piloto em milho com 11% de umidade foi tratado com 1,1% de NH<sub>3</sub>, o nível de aflatoxina B<sub>1</sub> no milho foi reduzido de 90 µg/kg a níveis não detectáveis, após 7 meses de estocagem. Os testes de alimentação de suínos usando o milho tratado deu bons resultados. Os experimentos em laboratório, usando NH<sub>3</sub> gasoso ou aquoso foram igualmente efetivos na inativação da aflatoxina no milho (9, 11).

Estudos similares feitos por BAGLEY (6) mostraram a redução do nível de aflatoxina de 600 para menos de 20 ppb em

cerca de 3 semanas à 25°C, e em apenas 3 dias à 38°C, usando 0,5% de NH<sub>3</sub> e 15% de umidade no milho. O processo foi aplicado em grande escala na alimentação de gado, aves e suínos, reduzindo os níveis de aflatoxina de 1000 ppb a valores inferiores a 20 ppb.

Considerando a amoniação como um método efetivo, economicamente viável e comercialmente prático para inativação da aflatoxina em torta de algodão, KOLTUN *et alii* (42) estudaram as condições ótimas de processamento para destruir aflatoxinas com o mínimo decréscimo na solubilidade do nitrogênio. Um reator adequado para amoniação foi modificado para possibilitar a retirada de amostras em cada 5 minutos durante o processo, sem interferir nas suas condições de realização. Desta forma foi possível monitorar o progresso das condições de reação em cada 5 minutos, para acompanhar o processo de inativação das aflatoxinas. Assim, torta de algodão contendo em média 340 ppb de aflatoxinas totais foram tratadas com amônia anidra líquida sob várias condições de tempo, temperatura e concentração, mantendo-se a umidade da torta em 10%. Os resultados obtidos desse estudo mostraram que, a inativação de aflatoxinas em torta de algodão, de acordo com testes químicos, pode ser obtida com sucesso usando-se condições menos rigorosas de tempo/temperatura, pressão e conteúdo de umidade em relação aquelas que os estudos prévios haviam indicado.

Embora a toxicidade das tortas com aflatoxina tratadas com amônia seja grandemente reduzida, em relação às não tra

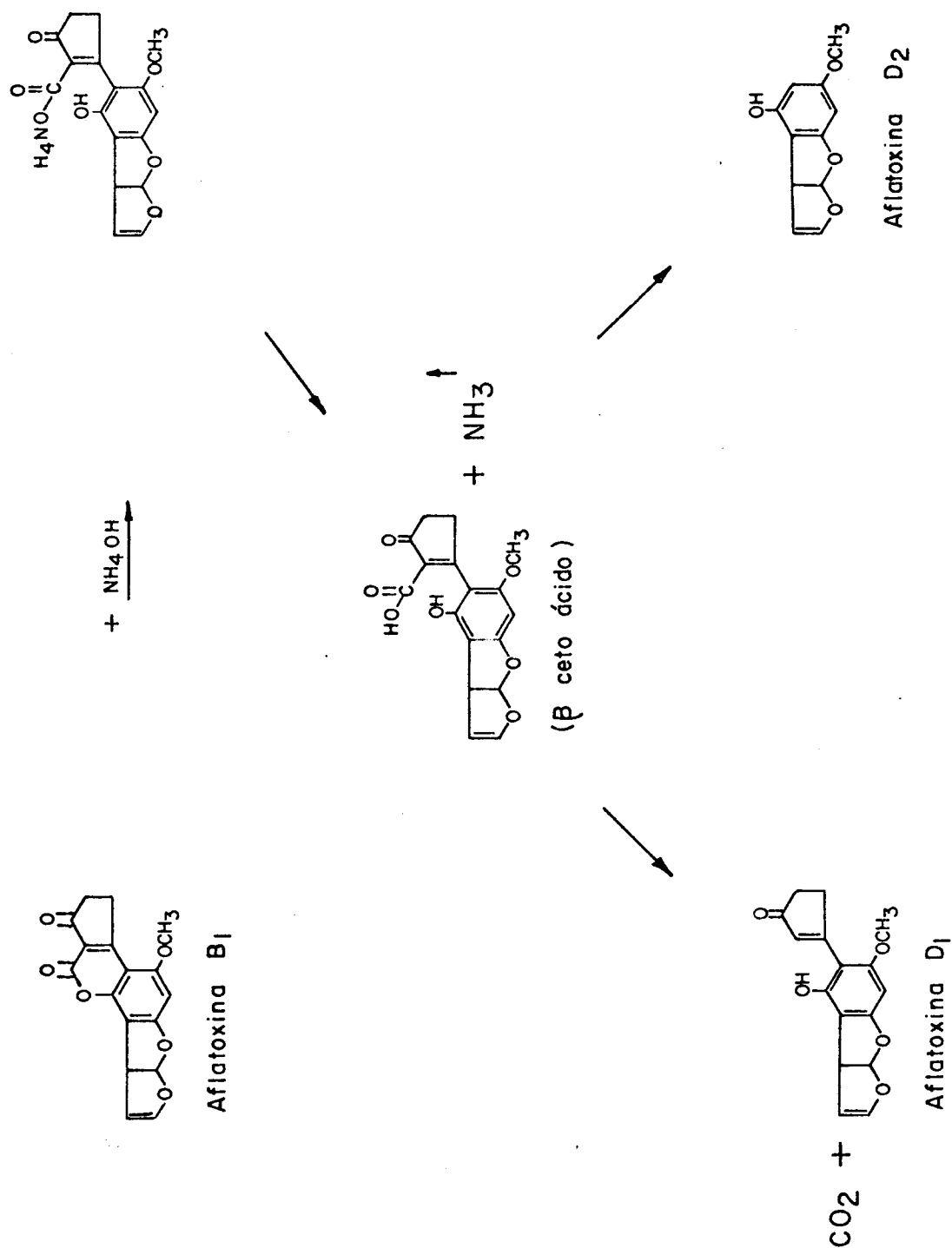
tadas (23, 60) ou mesmo eliminada (37), as modificações químicas que ocorrem na aflatoxina B<sub>1</sub> não estão ainda totalmente esclarecidas.

É sabido que a amônia atua na molécula da aflatoxina B<sub>1</sub> em um primeiro estágio, pela abertura do anel lactônico com formação de um sal de amônio de um β ceto ácido. Na presença de ácido esse sal de amônio pode reformar a molécula inicial de aflatoxina B<sub>1</sub> (7). Entretanto em um segundo estágio do tratamento alcalino ocorrem reações irreversíveis que levam a formação das aflatoxinas D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> (37).

LEE *et alii* (48) que estudaram a reação de amoniação com a aflatoxina B<sub>1</sub> pura, conseguiram isolar, na forma cristalina, um composto fenólico, não fluorescente, de peso molecular 286, tendo por fórmula C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>. Esse composto proveniente da des-carboxilação do β ceto ácido foi denominado de aflatoxina D<sub>1</sub>.

CUCULLU *et alii* (20), isolaram e caracterizaram um segundo composto da reação de amoniação da molécula de aflatoxina B<sub>1</sub>, denominado aflatoxina D<sub>2</sub>. Esse composto fenólico, não fluorescente, de peso molecular 206 é similar a molécula de aflatoxina D<sub>1</sub>, mas tendo perdido o anel ciclopentano. O esquema completo da reação de amoniação da molécula de aflatoxina B<sub>1</sub> é apresentado na Figura 2.

A taxa de conversão da aflatoxina B<sub>1</sub> em aflatoxinas D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> por amoniação foram determinadas por CUCULLU *et alii* (20) usando cromatografia líquida de alta pressão do extrato clorofórmico dos produtos de amoniação da aflatoxina B<sub>1</sub>. Os resul-



206

286

FIGURA 2. Esquema completo da reação de amoniação da molécula de aflatoxina B<sub>1</sub>, segundo CUCULLU (20).

tados obtidos por esses autores mostraram que, após 3 horas de reação, as proporções das aflatoxinas D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> são, respectivamente, 19 e 10%. Ao contrário, os resultados obtidos com tortas de algodão e de amendoim naturalmente contaminadas mostraram que a taxa de conversão da aflatoxina B<sub>1</sub> em D<sub>1</sub> não é superior a 0,40% (45).

### c - Agentes oxidantes

A investigação feita por DOLLEAR *et alii* (23) sobre o desempenho de um grande número de compostos químicos revelou que, além das bases orgânicas e inorgânicas, as substâncias oxidantes são igualmente efetivas na redução da toxicidade das aflatoxinas.

Em 1967, TRAGER e STOLOFF (80) testaram a ação de vários oxidantes fortes com relação aos seus efeitos sobre as aflatoxinas. Alguns desses oxidantes reagiram apenas com as aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> originando a abertura da dupla ligação da molécula furânica terminal, como foi o caso do peróxido de benzoila, tetróxido de ósmio e solução iodeto-iodo. Outros oxidantes como o hipoclorito de sódio, o permanganato de potássio, o borato de sódio e a mistura de 3% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + NaBO<sub>2</sub> (1 + 1) reagiram com as aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, sendo a destoxificação confirmada por experimentos biológicos. Nestes casos a ação desses agentes oxidantes foram relacionados com a abertura do anel lactônico das aflatoxinas (7).

Vários investigadores tem recomendado o uso de hipoclorito de sódio para destoxificação de tortas e de material

contaminado de laboratório, conforme citado no trabalho de MARTH e DOYLE (53).

Os resultados das pesquisas de NATARAJAN *et alii* (58) mostraram que o pH e a concentração de hipoclorito de sódio foram fatores importantes na redução da concentração das aflatoxinas a níveis não detectáveis em isolados protéicos, partindo-se de amendoim e de torta de amendoim desengordurada. O tratamento com 0,4% de hipoclorito de sódio a pH 8 produziu isolados protéicos com quantidades insignificantes das aflatoxinas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, usando amendoim contaminado com 725 ppb de aflatoxina B<sub>1</sub> e com 148 ppb de aflatoxina B<sub>2</sub>. A temperatura e o tempo da reação não afetaram a destruição das aflatoxinas significativamente. O tratamento das aflatoxinas com solução a 5% de hipoclorito de sódio, durante vários segundos, resultou na perda da toxicidade e da fluorescência, conforme relatado por FISCHBACH e CAMPBELL (30). Esses autores também relataram que 90% da toxina na torta foi destruída quando usado cloro gasoso, o qual deixou um odor residual na torta. O cloro, também agiu nas gorduras formando produtos tóxicos (29, 78).

Farelo de amendoim desengordurado foi suspenso em água (10% sólidos) e seu pH foi ajustado para 9,5 com álcali forte. A suspensão foi tratada com diferentes quantidades de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e aquecida a 80°C por 30 minutos. Nessas condições, 97% da toxina foi destruída, como confirmada por testes biológicos usando perus e embriões de marrecos (78).

Tortas de algodão e de amendoim com conteúdo de umidade de 22 a 30%, respectivamente, foram tratadas com ozona a temperaturas de 100°C. Os maiores tempos de tratamento favorece



ram uma maior inativação das toxinas. As aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> foram prontamente destruídas pelo processo de ozonização, enquanto que as aflatoxinas B<sub>2</sub> e G<sub>2</sub> pareceram relativamente resistentes. Na torta de algodão, 91% da aflatoxina total foi destruída em duas horas, à 100°C com decréscimo de 214 a 20 ppb, enquanto que em tortas de amendoim, foi destruído 78%, em 1 hora, com decréscimo de 82 a 18 ppb. Em ambas as tortas, a aflatoxina B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> foram totalmente inativadas nos tempos especificados (25). Os ensaios feitos com patinhos e ratos mostraram perfeita inocuidade dos alimentos tratados com ozona.

A reação de oxidação da aflatoxina por ozona foi catalizada pelo calor, o que provocou a diminuição do teor de lisina disponível no alimento tratado, diminuindo assim o valor nutritivo do mesmo (37).

#### d - Uso do bissulfito

O bissulfito é um composto químico altamente reativo e um aditivo aceito para uso em alimentos. Ele é comumente usado na moagem úmida do milho e no processamento de vinho, sucos de frutas e frutas secas. MARTH e DOYLE (53) demonstraram que o bissulfito pode degradar as aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>. Foi estudada a velocidade de degradação das mesmas durante 96 horas, usando várias concentrações de bissulfito, obtidos pela adição de sulfito de potássio, em pH 5,5. A quantidade de aflatoxina B<sub>1</sub> degradada aumentou a medida que a concentração de sulfito de potássio aumentou. O aumento da temperatura de 25 à 55°C resul-

tou em um aumento marcante na velocidade ao qual o sulfito de potássio (aproximadamente 3.000 ppm de SO<sub>2</sub>) degradou a aflatoxina B<sub>1</sub>. Cerca de 80% da quantidade inicial (200 ppb) foi degradada em 48 horas à 55°C, enquanto que apenas cerca de 30% foi degradada em 96 horas à 25°C. Resultados similares foram obtidos com a aflatoxina G<sub>1</sub>.

### 3 - Degradação biológica da aflatoxina

Foi observado por vários investigadores que culturas toxicogênicas de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* comumente produzem quantidades máximas de aflatoxina após 5-9 dias de incubação, dependendo das condições. A incubação continuada das culturas foi acompanhada invariavelmente pelo decréscimo na quantidade de aflatoxina presente ( 53).

Pela monitoração da produção de aflatoxina em fermentadores, CIEGLER *et alii* ( 14) observaram que concentrações máximas das aflatoxinas foram atingidas em 72 horas, declinando rapidamente a seguir. Esses investigadores concluíram que foi necessária a autólise do micélio para a degradação da aflatoxina pelo fungo.

No estudo realizado por SHIH e MARTH e citado por MARTH e DOYLE ( 53) foi observado que as aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> foram degradadas por micélio de *A. parasiticus* NRRL 2999 após 8 e 16 dias de incubação à 28°C. O micélio após 16 dias, degradou a toxina mais rapidamente.

Outros microrganismos, além de *A. flavus* e de *A. parasiticus* podem também degradar as aflatoxinas. CIEGLER *et alii* ( 14 ) selecionaram aproximadamente 1.000 microrganismos, incluindo leveduras, fungos, bactérias, actinomicetos, algas e esporos de fungos para testar as suas possibilidades com relação à degradação das aflatoxinas. Alguns fungos e esporos de fungos transformaram parcialmente a aflatoxina B<sub>1</sub> em novos compostos fluorescentes, entretanto, apenas uma bactéria, *Flavobacterium aurantiacum* (NRRL B-184) removeu irreversivelmente a aflatoxina B<sub>1</sub> da solução nutriente. A ação dessa bactéria ocorreu também nas aflatoxinas G<sub>1</sub> e M<sub>1</sub>, conforme citado por BLANC (7).

Como resultado de numerosas investigações foi estabelecida a possibilidade da destoxificação biológica completa ou parcial das aflatoxinas. Leite, óleo de milho, pasta de amendoim, amendoim e milho foram completamente destoxificados por células de *F. aurantiacum*. Os testes com perús mostraram que a destoxificação foi completa, não sendo formadas novas substâncias tóxicas. O metabólito formado a partir da aflatoxina B<sub>1</sub> foi identificado como sendo o hidroxidihidro-aflatoxina B<sub>1</sub>. O método de destoxificação com o uso do *Flavobacterium aurantiacum* NRRL B-184 foi patenteado em 1969 por CIEGLER, conforme citado por GOLDBLATT ( 36 ). Todavia, outros métodos baseados na destoxificação biológica não encontraram maior aplicação em escala comercial ( 37 ).

## E - O processo de extrusão

### 1 - Definição

O extrusor de rosca única foi pela primeira vez aplicado no processamento de alimentos em 1935, na extrusão contínua de produtos de pasta. Desde então, seu uso vem crescendo e hoje, extrusores de diferentes desenhos são utilizados na produção de alimentos pré-cozidos, cereais para o desjejum, "snacks", proteínas vegetais texturizadas, bebidas instantâneas em pó, sopas instantâneas, alimentos infantis, farinhas e amidos pré-gelatinizados para fins industriais (71).

O cozimento de alimentos por extrusão pode ser definido como o processo contínuo e unitário no qual produtos amiláceos e/ou proteínáceos, geralmente na forma de farinha ou "grits", são introduzidos em um cilindro aquecido e empurrado, por meio de um parafuso giratório, em direção a uma matriz, que é projetada para dar forma e/ou expansão, secagem ao produto extrudado e contra-pressão.

O princípio básico do processo é a modificação do alimento pela aplicação de umidade, calor, pressão e atrito mecânico. Uma das grandes vantagens da extrusão é a possibilidade da execução das principais funções deste sistema ao mesmo tempo, ou seja, misturar, cozinhar e estruturar o alimento. Como o tempo de processamento é de poucos segundos, o cozimento por extrusão pode ser propriamente classificado como um processo HTST ("High Temperature Short Time").

## 2 - Elementos básicos

O extrusor é basicamente formado pelo cilindro, parafuso e matriz. Em extrusores de cozimento, a parte interna do cilindro é normalmente ranhurada, para evitar o deslizamento da massa, aumentando assim a taxa de cisalhamento. O cilindro é normalmente encamisado, para permitir a circulação de vapor ou água fria. A matriz do extrusor tem a função de moldar o produto na forma desejada e também funciona como um restritor do fluxo, aumentando a pressão nas zonas de cocção do extrusor.

A maior parte dos extrusores de cozimento usa um único parafuso, embora existam os extrusores gêmeos ou de rosca dupla. O parafuso é a parte principal do equipamento e sua geometria tem grande influência no processamento, definindo 3 secções ou zonas; a zona de alimentação, com a principal função de receber o produto e iniciar sua mistura; a zona de transição que possibilita a elevação da temperatura e pressão do material que é bem trabalhado e parcialmente cozido e finalmente a zona de alta pressão, onde ocorrem as maiores intensidades de mistura, taxa de cisalhamento, pressão, temperatura e cozimento.

Quando a massa passa através da matriz, a pressão é rapidamente liberada e a água, superaquecida, evapora instantaneamente, resultando em resfriamento do alimento que se solidifica.

### 3 - Usos e vantagens do processo de extrusão

Os cozedores por extrusão têm baixo custo, pois convertem eficientemente a energia elétrica em térmica e não só a energia, mas também a mão-de-obra e espaços requeridos por quilo de produto cozido são inferiores a qualquer outro método de cocção (49, 76).

A extrusão de alimentos é um método de cozimento muito versátil e de alta capacidade de produção. O processo pode ser controlado em uma grande gama de condições de operação, permitindo produzir numerosos produtos finais com diferentes formatos, texturas, densidades, sabores e aparências.

Outro fator a considerar, durante a extrusão, é a natureza complexa dos sistemas de alimentos, onde ocorrem simultaneamente várias mudanças físicas e químicas. Entretanto, pouco se conhece sobre essas mudanças, devido à dificuldade de isolar a influência de uma delas, a fim de se identificar seu papel específico no processo (27).

A extrusão oferece um meio conveniente para o manuseio contínuo de sólidos, possibilitando uma mistura uniforme dos ingredientes conforme o produto está sendo obtido, mesmo aqueles em pequenas quantidades, como as vitaminas, corantes e aromatizantes.

A brevidade do período à temperatura desejada no sistema "HTST" é de grande importância para o desempenho biológico máximo dos materiais extrudados, já que as proteínas, vitaminas,

aminoácidos podem ser prejudicados pelas temperaturas excessivas e/ou intervalos de tempo prolongados a altas temperaturas. O exame bacteriológico de produtos extrudados, produzidos em sistemas bem operados, revelou ainda um produto com contagem total muito baixa, isentos de patógenos e salmonela e normalmente com longa vida-de-prateleira (76 ).

Foi estudado por MUSTAKAS *et alii* (56, 57) o efeito do processamento por extrusão na qualidade nutricional, no gosto e aroma e na estabilidade durante o armazenamento de farinha de soja integral. Em concordância com resultados de outros trabalhos, a perda de tiamina foi mínima, de 1,07 mg/100g na soja original para 0,85 mg/100g na farinha extrudada. Foi também constatado que o processo de extrusão foi efetivo em remover fatores antinutricionais e inativar enzimas da soja para manter boa estabilidade no armazenamento e bom sabor, mantendo suas propriedades nutricionais. Com 89% de inativação de antitripsina foram alcançadas altas disponibilidades de lisina e valores de PER nas farinhas extrudadas em relação a farinha de soja original.

Além dos fatores antinutricionais, como antitripsina e hemaglutinina encontrados na soja crua, podem também ser eliminados pela extrusão, fatores não palatáveis encontrados em outras leguminosas. O processo pode ainda inibir consideravelmente o desenvolvimento de rancidez oxidativa em cereais e farinhas contendo germe, possibilitando estender a vida-de-prateleira de seus produtos sem refrigeração.

O primeiro estudo referente ao uso do processo de extrusão para a destoxificação de farelo de amendoim contaminado

por aflatoxina foi feito por THIESEN (79). Foi encontrado que o cozimento por extrusão do farelo de amendoim contendo 20% de umidade, e até 2% de hidróxido de amônia, inativou menos que 12% da aflatoxina presente. A extrusão foi feita usando extrusor de rosca única Brabender 20 DN DO CORDER, com matriz de 5 mm, 150 rpm, com taxa de compressão de 1:3 ou 1:2 e com temperaturas de 100 e 120°C. Em contraste, a estocagem da mesma torta na presença de 3-4% de hidróxido de amônia a temperatura ambiente por 11 dias, inativou mais que 99% da aflatoxina, enquanto que a estocagem com 2,1% de NH<sub>3</sub>, na umidade de 15%, apresentou grau de detoxificação de 70 e 90%, em 1 e 11 dias, respectivamente. GIDDEY *et alii* (35) usaram a combinação de hidróxido de cálcio e monometilamina (2 e 0,5% do farelo, respectivamente) no processamento. Foi sugerida a operação à pressão atmosférica a 80-100°C por 30 a 60 minutos em um misturador ou em um extrusor com o conteúdo de umidade de 11-25%, sendo destruídos nessas condições, mais do que 95% da aflatoxina B<sub>1</sub> inicial.

Entretanto, em trabalho recentemente publicado, GRÉHAIGNE *et alii* (38) usaram o extrusor de rosca dupla para estudar a destoxificação de farelo de amendoim com um conteúdo médio de 250 µg de aflatoxina B<sub>1</sub> por kg de matéria seca, na presença de 0 a 2.5% de hidróxido de amônio (peso de NH<sub>3</sub>/torta, base seca). O conteúdo de umidade durante a extrusão variou de 11,5 a 38% (peso água/peso total), a taxa de alimentação de 22,5 a 30 kg de torta/hora, e a temperatura do material antes da matriz de 140 a 185°C; a velocidade de rotação das roscas foi de 29-30 rpm. O conteúdo de aflatoxina B<sub>1</sub> determinado após a extru



são foi reduzido em 23-66% na ausência, e de 40-87% na presença de hidróxido de amônia. Desses experimentos não ficou ainda claro se a extrusão causa a destruição das moléculas de aflatoxina ou sua ligação a outros constituintes do farelo de amendoim.

### III. MATERIAIS E MÉTODOS

#### A - Material

##### 1 - Matéria-prima

A matéria-prima usada neste trabalho foi o arroz em palha variedade IAC-899 fornecida pela Seção de Arroz e Cereais de Inverno do Instituto Agronômico de Campinas (IAC).

##### 2 - Reagentes

Os reagentes usados nas análises da matéria-prima e dos produtos, foram de grau de pureza exigido pelos métodos analíticos.

Os esporos do fungo *A. flavus*, de linhagem desconhecida, foram obtidos no Departamento de Tecnologia Rural da ESALQ/USP, Piracicaba.

##### 3 - Equipamentos e aparelhos

Foram utilizados no trabalho experimental os seguintes equipamentos e aparelhos:

- Moinho de Rolos, marca Brabender, modelo Quadromatic Senior
- Câmara de armazenamento a 30°C
- Moinho de Martelos, marca Tigre, tipo CV2, potência 0.75 C.V., 3.800 rpm

- Extrusor de Laboratório marca Brabender, modelo CNF 1014/2, com parafuso de taxa de compressão 3:1, matriz de 4 mm de diâmetro e alimentador vertical
- Misturador tipo planetário P600s, marca Brabender, modelo 826801
- Estufas com circulação forçada de ar, marca Fanen, modelo 320/2 e 330.
- Determinador de umidade semiautomático, marca Brabender, tipo 890100
- Viscoamilógrafo, marca Brabender, tipo 801300
- Centrífuga, marca Fanen, modelo 204-NR, potência 0,65 KW
- Banho-maria com controle de temperatura, marca Etica, modelo 5002, potência 0,6 KW
- Potenciômetro marca Metrohm Herisau Tipo E-512
- Digestor e destilador para a análise de proteínas
- Mufla com controle de temperatura
- Extrator de gordura
- Extrator e digestor de fibras
- Espalhador Shandon para preparar placas de sílica-gel-G
- Lâmpada de ultra-violeta com pico de emissão de 365 nm, tipo Phillips HPW 125 W

## B - Métodos analíticos

### 1 - Umidade

Na determinação da umidade do arroz e das farinhas de arroz extrudadas usou-se o determinador de umidade Brabender ou a estufa com circulação forçada de ar à temperatura constante de 130°C por 1 hora.

### 2 - Proteína

O teor de proteína foi calculado através da determinação do nitrogênio pelo método KJELDAHL, AACC 46-10 (1), usando-se o fator de 5,95 para a conversão.

### 3 - Lipídeos

Na determinação de lipídeos foi usado o método da AACC 30-20 (1) fazendo uma extração contínua com hexano (p.e.-60-65°C), usando o aparelho Soxhlet.

### 4 - Cinzas

O teor de cinzas foi calculado pela calcinação da amostra à 550° de acordo com o método AACC 08-01 (1).

### 5 - Fibra bruta

A determinação de fibra foi feita de acordo com o método de VAN de KRAMER & VAN GINKEL (81). Foram pesados 2,0 gra

mas de amostra desengordurada e tratadas com 70 ml de ácido acético 70%, 2 g de ácido tricloroacético e 5 ml de ácido nítrico concentrado. Foi então feita a digestão a temperatura de ebulição, com refluxo. Os resíduos foram a seguir filtrados e lavados com água quente em cadinho previamente tarado. Finalmente o material foi secado à 105°C por 3-4 horas e pesado.

#### 6 - Carboidratos

O teor de carboidratos foi estimado por diferença, após as determinações de umidade, proteína, lipídeos, cinzas e fibra bruta.

#### 7 - pH

Os valores de pH das farinhas, antes e depois da extrusão, foram determinados segundo o método da AACC 02-52 (1), à temperatura ambiente (25°C).

#### 8 - Distribuição do tamanho de partícula

A distribuição do tamanho de partícula do arroz foi determinada após moagem na Unidade de Quebra do Moinho Brabender Quadramatic Senior, usando-se o aparelho Produtest, com um conjunto de peneiras com malhas de 297, 210, 149, 105 < 105µm. Amostras de 100 g de farinha de arroz moído foram colocadas na parte superior do aparelho, deixando-se vibrar por 15 minutos. A distribuição do tamanho de partícula foi expresso como porcentagem de material retido em cada peneira.

## 9 - Viscosidade

As viscosidades da farinha de arroz antes e após a extrusão foram determinadas utilizando-se o viscoamilógrafo Brabender. As amostras foram moídas na Unidade de Quebra do Moinho Brabender.

Os testes foram efetuados conforme método AACC 22-10 (1) usando-se uma suspensão de 50 g de farinha (base seca) em 450 ml de solução tampão fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e ácido cítrico, pH 5.3), partindo-se da temperatura inicial de  $30^\circ\text{C}$  até a final de  $95^\circ\text{C}$  no ciclo de aquecimento, aumentando-se a temperatura de  $1,5^\circ\text{C}$  por minuto. Essa temperatura foi mantida constante durante 20 minutos, iniciando a seguir a fase de resfriamento até a temperatura de  $55^\circ\text{C}$ , diminuindo a temperatura de  $1,5^\circ\text{C}$  por minuto. O teste foi programado a rotação constante de 75 rpm.

Para interpretação do viscoamilograma da farinha de arroz, antes da extrusão, foram usados os seguintes parâmetros: Temperatura inicial de pasta - é a temperatura em  $^\circ\text{C}$  correspondente ao ponto onde ocorre o primeiro aumento da viscosidade durante o ciclo de aquecimento.

Viscosidade máxima - é o maior valor da viscosidade da suspensão em unidades amilográficas (U.A.).

Faixa de gelatinização - é a diferença entre as temperaturas de viscosidade máxima e a inicial de pasta.

Viscosidade mínima a temperatura de 95°C - é o menor valor da viscosidade em U.A. da pasta nos 20 minutos a temperatura constante de 95°C.

Viscosidade final a 50°C - corresponde ao valor da viscosidade em U.A., à temperatura de 50°C no ciclo de resfriamento.

As seguintes medidas foram utilizadas para interpretar os amilogramas das farinhas extrudadas:

- a) - Viscosidade inicial: é o valor da viscosidade da suspensão, em Unidades Amilográficas (U.A.), no início do ciclo de aquecimento, após 1 minuto de agitação à temperatura de 30°C.
- b) - Viscosidade à quente: corresponde ao valor da viscosidade em U.A. à temperatura de 95°C.
- c) - Viscosidade a frio: é o valor da viscosidade em U.A. no final da fase de resfriamento (55°C).

#### 10 - Índice de absorção de água (IAA)

O índice de absorção de água das farinhas extrudadas foi determinado pelo método descrito por ANDERSON *et alii* (2) com ligeiras modificações na velocidade e no tempo de centrifugação.

Inicialmente foi pesada uma amostra de 2,5 g de farinha (base seca) e foi feita uma suspensão em 30 ml de água destilada a 30°C, em um tubo de centrífuga previamente pesado. A

suspensão foi mantida a 30°C, em banho-maria durante 30 minutos, sendo agitada intermitentemente nesse período de tempo. Em seguida, a suspensão foi centrifugada a 1700 x G durante 15 minutos, separando-se cuidadosamente o sobrenadante. O resíduo do tubo foi pesado para calcular o índice da absorção de água.

$$IAA = \frac{\text{Peso do resíduo de centrifugação (g)}}{\text{Peso seco da amostra (g) - Peso do resíduo de evaporação (g)}}$$

#### 11 - Índice de solubilidade em água (ISA)

O índice de solubilidade em água das farinhas extrudadas foi feito segundo o método de ANDERSON *et alii* (2). O sobrenadante da centrifugação obtido no teste anterior do IAA foi transferido para placas de Petri previamente pesadas e evaporado em estufa a 100°C com circulação forçada de ar, até peso constante. O índice de solubilidade em água foi expresso como grama de sólidos solúveis por 100 gramas de amostra em base seca.

$$ISA = \frac{\text{Peso do resíduo após evaporação (g)}}{\text{Peso seco da amostra (g)}}$$

#### 12 - Determinação das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>

O método de quantificação das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> usado neste estudo foi o recomendado por JONES (39) para uso em arroz. Essa metodologia foi aplicada na farinha de arroz contaminada e nos produtos após o tratamento da extrusão. Nas fari-



nhas extrudadas usando amônia e/ou metilamina (Ensaio IV) foi ajustado o pH para 4.5, antes da extração das aflatoxinas.

a - Extração das aflatoxinas

A extração das aflatoxinas foi feita em 10 g da amostra moída usando 100 ml de solução acetona-água (70:30, v/v) e agitação mecânica por 30 minutos. A amostra foi então filtrada a vácuo usando papel de filtro Whatman nº 1 ou equivalente.

b - Purificação do extrato

A 50 ml do filtrado obtido no item 1, foram adicionados 10 ml de solução de acetato de chumbo 20% (p/v) e 30 ml de água destilada. Após descanso de cerca de 15 minutos foi feita a filtração usando papel Whatman nº 1 ou equivalente, e a lavagem com 10 ml de solução aquosa de acetona 20% (v/v) e com 10 ml de água destilada.

O filtrado e as 2 lavagens foram coletados em funil de separação.

c - Partição líquido-líquido

A extração das aflatoxinas foi feita com 2 x 25 ml de clorofórmio, recebendo o extrato em cerca de 10 g de sulfato de sódio anidro.

#### d - Concentração

O extrato obtido no item c foi transferido para um balão de destilação de 125 ml e concentrado em evaporador a vácuo tipo Rotavapor até volume aproximado de 5 ml. O extrato concentrado foi transferido quantitativamente para balões volumétricos de 5, 10, 25, 50 ou 100 ml.

#### e - Cromatografia em camada delgada

##### i - Preparo das placas

As placas de camada delgada foram preparadas agitando-se manualmente, por 5 minutos, 40 g de silicagel-G Merck, com 88 ml de água destilada. A sílica foi espalhada uniformemente sobre as placas em camada de espessura de  $508 \mu\text{m} \pm 10 \mu\text{m}$  usando-se o espalhador Shandon. As placas foram deixadas descansando durante 30 minutos e a seguir foram levadas à estufa a  $100^{\circ}\text{C}$  por 1 hora para ativação da sílica.

##### ii - Aplicação dos extratos das amostras e do padrão nas placas

Primeiramente foram feitas duas marcas, uma a 2 e outra a 12 cm da base da placa, correspondendo, respectivamente a altura da aplicação dos extratos e da frente do solvente.

A aplicação dos extratos das amostras e do padrão foi feita com rapidez, usando-se micropipeta de  $5 \mu\text{l}$ , evitando-se que a mancha se espalhasse por diâmetro superior a 5 mm.

### iii - Desenvolvimento das placas

As placas foram desenvolvidas em cuba fechada contendo solvente a uma profundidade não superior a 1 cm. O sistema de solventes usado foi tolueno: acetato de etila: ácido fórmico (25:20:5, v/v/v). A cuba cromatográfica foi prevenida com a devida antecedência (aproximadamente 30 minutos) para que a atmosfera se equilibrasse com o sistema de solvente. A placa foi retirada da cuba e seca com secador, após a frente do solvente correr até a marca de 12 cm.

### iv - Quantificação dos extratos

A placa desenvolvida e seca foi examinada em uma sala escura a 30 cm da lâmpada de ultra-violeta. A quantificação das amostras foi feita visualmente pela técnica de diluição à extinção. Nas condições estabelecidas pelo método, o menor peso de aflatoxina B<sub>1</sub> no limite de visibilidade é de 0,4 ng, enquanto que para a aflatoxina G<sub>1</sub> é de 0,3 ng. Os volumes aplicados foram restringidos a 5, 10, 15, 20 e 25 µl e após uma estimativa preliminar, a concentração do extrato foi ajustada de modo que a extinção obtida fosse com uma mancha equivalente a 15 ou 20 µl.

### v - Cálculo da concentração das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> no extrato

As concentrações da aflatoxina B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> na amostra em µg/kg foram calculadas pelas fórmulas seguintes:

$$\text{aflatoxina B}_1 \text{ (}\mu\text{g/kg)} = \frac{400 \times D}{P \times V}$$

$$\text{aflatoxina G}_1 \text{ (}\mu\text{g/kg)} = \frac{300 \times D}{P \times V}$$

onde:

D = volume total, em mL, necessário para diluir o extrato de modo que a fluorescência seja "apenas visível" em V.

V = volume de amostra aplicado em  $\mu\text{L}$ , onde a fluorescência é "apenas visível".

P = peso em g da amostra utilizada.

## C - Métodos experimentais

### 1 - Preparo da matéria-prima

#### 1.1 - Beneficiamento do arroz

O beneficiamento do arroz foi feito em máquina beneficiadora de arroz marca D'Andrea, obtendo-se assim o arroz polido.

#### 1.2 - Preparo das farinhas contaminadas

As farinhas de arroz, intencionalmente contaminadas com aflatoxina foram preparadas separadamente, em períodos diferentes, pela inoculação dos esporos de *A. flavus* no arroz previamente umidecido a 20% e acondicionados em sacos plásticos. As amostras inoculadas foram armazenadas à 30°C, por cerca de 10 dias, com agitação periódica a cada dois dias.

Após esse período de incubação, o arroz foi transferido para bandejas e colocado para secar em estufa com circulação forçada de ar, a temperatura de 45°C, durante cerca de 16 horas. A moagem do arroz para obtenção da farinha contaminada foi feita na unidade de Quebra do Moinho Brabender.

Foram preparadas 3 farinhas designadas de farinha com alto, médio e baixo teor de aflatoxinas, ou seja, FAA, FMA e FBA, respectivamente.

## 2 - Testes de extrusão

### 2.1 - Matéria-prima

Foram feitos 4 ensaios de extrusão usando-se as farinhas de arroz contaminadas com alto, médio e baixo teores de aflatoxina.

### 2.2 - Condicionamento da farinha

As amostras das farinhas contaminadas foram condicionadas em vários teores de umidade. A adição de água para se atingir os teores de umidade desejados foi feita por aspersão de água na farinha, sob constante agitação, utilizando-se o misturador planetário Brabender. A farinha condicionada foi coletada em sacos plásticos que foram fechados e guardados em geladeira por 16 a 18 horas. As farinhas foram deixadas por duas horas à temperatura ambiente, antes de serem processadas, a fim de promover maior uniformização da umidade. No caso das amostras usadas no Ensaio IV foram feitas primeiramente as misturas da amo

nia e/ou metilamina, nas concentrações usadas, à água de condicionamento.

### 2.3 - Equipamento

Os ensaios de extrusão foram feitos em um extrusor de Laboratório marca Brabender, do tipo rosca sem fim única, com camisa ranhurada, usando-se parafuso de 38 cm de comprimento.

A camisa do extrusor foi aquecida por meio de resistência elétrica até atingir as temperaturas pré-determinadas nas 3 zonas; as duas primeiras zonas aquecem a rosca e a terceira aquece a região da matriz. O controle dessas temperaturas foi feito por circulação de ar comprimido ao redor da camisa, e por circulação de água fria na zona de alimentação a fim de se evitar a perda de umidade da farinha por aquecimento. A alimentação de farinha no extrusor foi feita de modo a se obter um fluxo constante de 80 g/min.

Em todos os ensaios realizados, foram fixadas as seguintes variáveis do processo de extrusão:

- taxa de compressão - 3:1
- taxa de alimentação - 80 min
- matriz com furo cilíndrico de 4mm de diâmetro
- temperatura de 1a. zona - 80°C

### 2.4 - Delineamento experimental

Foram realizados quatro ensaios de extrusão designados por I, II, III e IV.

## ENSAIO I

O ensaio I de extrusão foi conduzido por um delineamento fatorial  $3^3$ , com três variáveis: temperatura de extrusão (150-200 e 250°C), teor de umidade inicial da farinha (17, 22 e 27%) e rotação da rosca (100, 130 e 160 rpm) que resultaram em 27 tratamentos (Quadro 1).

Nesse ensaio foi usada a farinha de arroz altamente contaminada por aflatoxina (FAA).

Foram retiradas amostras da farinha de arroz (FAA) antes da extrusão, as quais foram designadas de  $O_1, O_2, O_3, \dots, O_9$ . A amostra  $O_1$ , condicionada a 27% de umidade foi usada nos tratamentos 1, 2 e 3, enquanto que a  $O_2$ , condicionada a 22% de umidade foi usada nos tratamentos 4, 5 e 6, e assim sucessivamente, até  $O_9$ , conforme mostrado no Quadro 1.

## ENSAIO II

O ensaio II foi feito usando-se a farinha de arroz com alto teor de aflatoxina (FAA), a mesma utilizada no ensaio anterior. As variáveis do processo de extrusão nesse ensaio foram a temperatura de extrusão e a umidade inicial da farinha (Quadro 2). A rotação da rosca do extrusor foi fixada em 130 rpm.

## ENSAIO III

No ensaio III foi utilizada a farinha de arroz com teor médio em aflatoxina (FMA). Foram fixadas a rotação do ex-

trusor em 130 rpm e a temperatura de extrusão em 150°C. As umidades iniciais da farinha usadas foram 17, 22 e 27% (Quadro 3).

#### ENSAIO IV

Para se estudar o efeito de concentração de amônia e/ou metilamina na redução da aflatoxina em farinha de arroz contaminada processadas por extrusão foi delineado o Ensaio IV.

Foram fixadas a temperatura de extrusão em 150°C; a rotação da rosca do extrusor em 130 rpm e o teor inicial de umidade da farinha em 22%.

Foram efetuados 13 processamentos nas condições mostradas no Quadro 4, usando farinha de arroz (FBA).

#### 2.5 - Secagem dos produtos extrudados

As amostras extrudadas foram secas em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 45-50°C, por cerca de 16-18 horas.

#### 2.6 - Moagem dos produtos extrudados

As amostras extrudadas e secas foram moídas, inicialmente em moinho de martelos com chapa perfurada de abertura de 1,5mm de diâmetro e a seguir na unidade de quebra do moinho de rolos Brabender.



QUADRO 1. Temperatura de extrusão ( $^{\circ}\text{C}$ ), rotação da rosca (rpm) e umidade da farinha (%) nos 27 tratamentos de extrusão estabelecidos no Ensaio I, usando farinha de arroz com alto teor em aflatoxinas.

Tratamentos n <sup>o</sup>	Farinha de arroz antes extrusão	Condições de extrusão		
		Temperatura 2 <sup>a</sup> e 3 <sup>a</sup> zona ( $^{\circ}\text{C}$ )	Rotação da rosca (rpm)	Teor de umidade (%)
1		250	160	27
2	O <sub>1</sub>	250	130	27
3		250	100	27
4		250	160	22
5	O <sub>2</sub>	250	130	22
6		250	100	22
7		250	160	17
8	O <sub>3</sub>	250	130	17
9		250	100	17
10		200	160	27
11	O <sub>4</sub>	200	130	27
12		200	100	27
13		200	160	22
14	O <sub>5</sub>	200	130	22
15		200	100	22
16		200	160	17
17	O <sub>6</sub>	200	130	17
18		200	100	17
19		150	160	27
20	O <sub>7</sub>	150	130	27
21		150	100	27
22		150	160	22
23	O <sub>8</sub>	150	130	22
24		150	100	22
25		150	160	17
26	O <sub>9</sub>	150	130	17
27		150	100	17

QUADRO 2. Temperatura de extrusão ( $^{\circ}\text{C}$ ), rotação da rosca (rpm) e umidade da farinha (%) nos 5 tratamentos de extrusão estabelecidas no Ensaio II, usando farinha de arroz com alto teor em aflatoxinas.

Tratamento n <sup>o</sup>	Condições de extrusão		
	Temperatura 2. <sup>a</sup> e 3. <sup>a</sup> zona ( $^{\circ}\text{C}$ )	Teor de umidade (%)	Rotação da rosca (rpm)
1	120	27	130
2	120	22	130
3	135	24,5	130
4	150	27	130
5	150	22	130

QUADRO 3. Temperatura de extrusão ( $^{\circ}\text{C}$ ), rotação da rosca (rpm) e umidade da farinha (%) nos 3 tratamentos de extrusão estabelecidos no Ensaio III, usando farinha de arroz com teor mé dio de aflatoxinas.

Tratamento n <sup>o</sup>	Condições de extrusão		
	Temperatura 2. <sup>a</sup> e 3. <sup>a</sup> zona ( $^{\circ}\text{C}$ )	Teor de umidade (%)	Rotação de rosca (rpm)
1	150	17	130
2	150	22	130
3	150	27	130

QUADRO 4. Concentrações de amônia e/ou metilamina usadas nos 13 tratamentos de extrusão relativos ao Ensaio IV<sup>1</sup>, usando farinha de arroz com baixo teor em aflatoxinas.

Tratamento nº	Amônia (%)	Metilamina (%)
0	-	-
1	0,5	-
2	1,0	-
3	1,5	-
4	2,0	-
5	-	0,5
6	-	1,0
7	-	1,5
8	-	2,0
9	1,0	0,25
10	1,0	0,5
11	1,0	0,75
12	1,0	1,0

<sup>1</sup> Temperatura de extrusão = 150°C

Umidade inicial da farinha = 22%

Rotação da rosca = 130 rpm

### 3 - Extração do amido

O amido foi extraído a partir da farinha de arroz altamente contaminada com aflatoxina (FAA). Após a pesagem da farinha (150 g), foram adicionados 500 ml de solução 0,2% de hidróxido de sódio (p/v), e foi feita a homogeneização com bastão de vidro. A suspensão foi deixada em maceração por cerca de 20 horas em temperaturas de refrigeração. A seguir, a suspensão foi passada em pano, lavando-se o material fibroso retido no pano com cerca de 200 ml da solução alcalina.

A centrifugação do material filtrado foi feita a 2.000 rpm por 15 minutos. Os sobrenadantes dos tubos foram descartados juntamente com a camada de impurezas acima do amido, que foi raspada e eliminada por meio de uma espátula.

O amido foi retirado dos tubos e novamente dispersado em cerca de 300 ml de solução de NaOH a 0,2%, permanecendo em maceração por aproximadamente 5 horas. Após centrifugação, o sobrenadante e a camada de impurezas foram descartadas.

O amido foi transferido para um filtro a vácuo, contendo papel de filtro comum, lavado até pH não alcalino e seco em estufa com circulação forçada de ar a 45°C. O amido seco foi pulverizado em almofariz e homogeneizado para determinação de aflatoxina.

## D - Análise estatística

No estudo da influência dos fatores Temperatura, Rotação e Umidade, na taxa de redução do teor de aflatoxina pela extrusão, adotamos a metodologia estatística de Análise de Superfície de Respostas. Esta metodologia consiste em ajustar aos valores obtidos para a resposta Y, no caso a taxa de redução, um modelo matemático do tipo

$$Y = f(x_1, x_2, x_3) + \epsilon$$

onde  $x_1$ ,  $x_2$  e  $x_3$  são os três fatores considerados, e  $\epsilon$  é um desvio aleatório, com média zero e variância constante, independente dos níveis dos fatores.

Em geral, na análise de superfícies de respostas, procura-se ajustar aos dados um modelo simples, em geral uma forma polinomial de baixa ordem. No nosso caso adotamos tentativamente o modelo polinomial completo de 2a. ordem:

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_3 x_3 + b_{11} x_1^2 + b_{12} x_1 x_2 + b_{22} x_2^2 + b_{23} x_2 x_3 + b_{13} x_1 x_3 + b_{33} x_3^2 + \epsilon$$

O modelo então foi ajustado por mínimos quadrados, testando-se a significância de cada parâmetro. Chegou-se ao modelo final eliminando-se os parâmetros não significativos. Uma análise dos resíduos através do gráfico normal indicou a adequação do modelo empregado.

A variabilidade associada ao modelo ajustado foi determinada empregando-se o "Bootstrap" (26). Retirando-se amostras "Bootstrap" dos resíduos expandidos, reconstituiu-se valores das observações através da expressão

$$Y^* = \hat{Y} + e^*$$

O mesmo modelo foi então ajustado aos valores reconstituídos. O processo pode ser repetido um número qualquer de vezes. Simulando, a cada vez, uma repetição completa de todo o experimento nas mesmas condições originais (88). Cada imagem "Bootstrap" define uma nova superfície de respostas. A idéia da variabilidade associada ao ajuste original vem da comparação deste com as diversas imagens "Bootstrap".

#### IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### A - Caracterização da matéria-prima

###### 1 - Composição química

Os resultados das determinações químicas do arroz polido variedade IAC-899 são apresentados no Quadro 5. Os valores encontrados nas determinações de proteína, lipídeos, cinzas e fibras encontram-se dentro da faixa citada na literatura para arroz polido (41). Os teores de proteínas, lipídeos e cinzas foram relativamente inferiores aos encontrados por SILVA (75) em quirera de arroz. Isto ocorreu possivelmente devido às características inerentes a variedade de arroz usada, e também às condições do beneficiamento, que possibilitaram uma maior retirada do germe e do farelo do arroz beneficiado.

###### 2 - Características físicas

###### 2.1 - Granulometria

A distribuição do tamanho de partículas do arroz polido após moagem na Unidade de Quebra do Moinho Brabender é apresentada no Quadro 6. Pode-se observar que cerca de 80% da farinha de arroz apresentou partículas de tamanho inferior à 0,15mm. SILVA (75) mostrou que a distribuição do tamanho das partículas de farinha de arroz não afetou praticamente as características dos produtos extrudados.

QUADRO 5. Composição química do arroz polido.

Componente	Porcentagem
Umidade	12,95
Proteína (b.s.) (N x 5,95)	7,82
Lipídios (b.s.)	0,40
Cinzas (b.s.)	0,39
Fibra bruta (b.s.)	0,30
Carboidratos (b.s.) <sup>1</sup>	91,09

<sup>1</sup> Calculado por diferença

b.s. base seca

QUADRO 6. Distribuição do tamanho de partícula da farinha de arroz.

Peneira		Farinha retida <sup>1</sup>
Nº	tamanho (mm)	(%)
35	0,42	0,4
48	0,297	1,7
65	0,210	18,5
100	0,149	36,9
150	0,105	21,6
Fundo	< 0,105	20,9

<sup>1</sup> Média de 3 repetições.



## 2.2 - Viscosidade

O comportamento viscoamilográfico da farinha de arroz crua é mostrado na Figura 3. Foi observado que o processo de gelatinização do amido se iniciou à temperatura de 69°C (temperatura de pasta), sendo atingida a viscosidade máxima de 940 Unidades Amilográficas (U.A.) à temperatura de 86°C. Durante os 20 minutos, à temperatura constante de 95°C, a viscosidade sofreu um aumento marcante de 610 à 1.860 U.A.

Os valores encontrados, relativos às características amilográficas da farinha de arroz foram similares aos descritos por CHANG (13), em arroz polido e por SILVA (75), em quirera de arroz.

## 2.3 - Índice de absorção e de solubilidade em água

A farinha de arroz apresentou um índice de absorção de água de 1,9, indicando que o processo de moagem não alterou a estrutura do amido.

O índice de solubilidade foi de 3,6, o que indicou um baixo conteúdo de material solúvel em água. Valores similares foram também encontrados por SILVA (75) e JUCA (40), usando farinha de quirera de arroz.

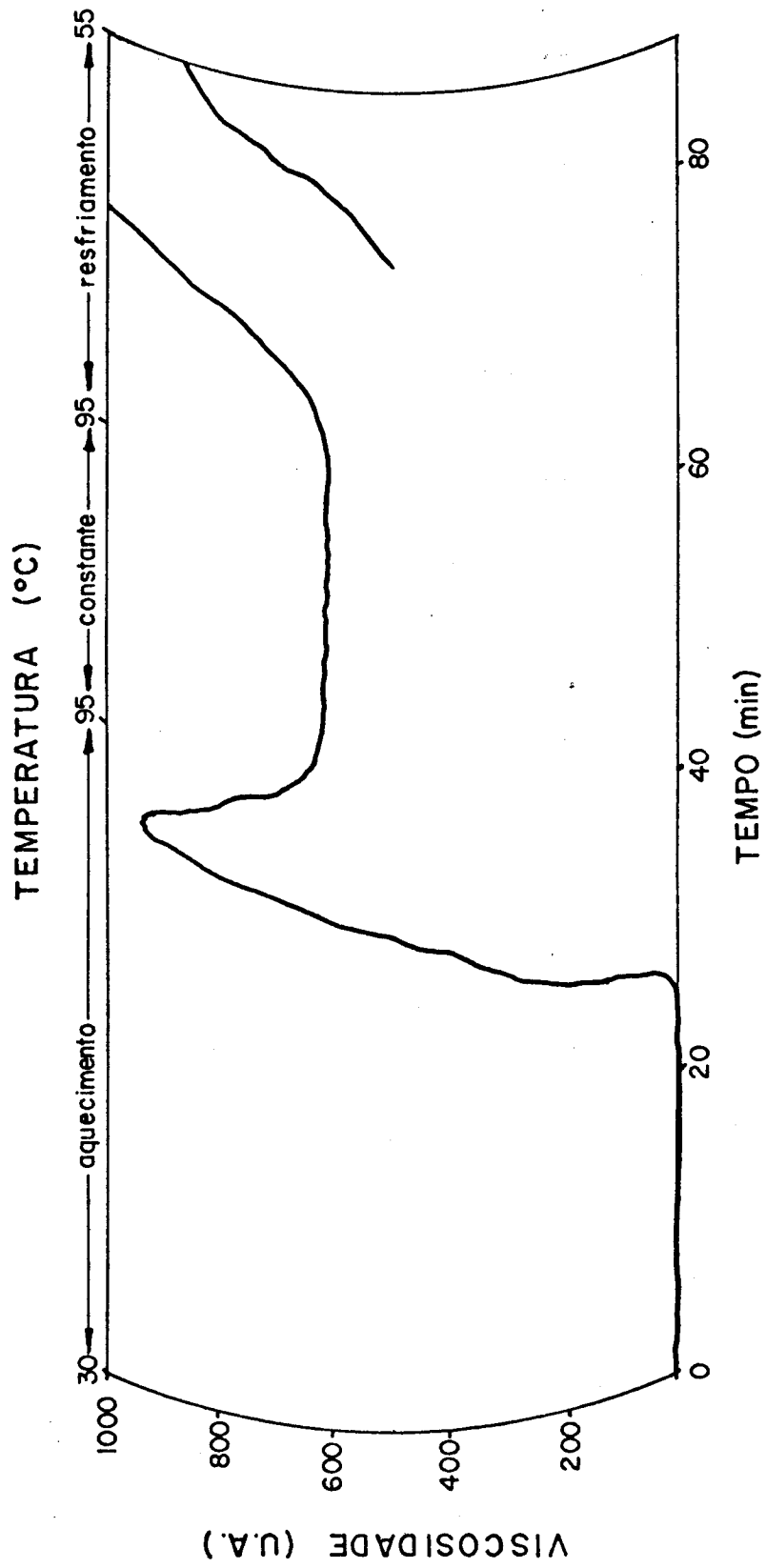


FIGURA 3. Comportamento viscoamiliográfico da farinha de arroz crua.

## B - Extrusão da farinha de arroz

1 - Efeito da umidade inicial da farinha (FAA), da temperatura de extrusão e da rotação da rosca (ENSAIO I)

a - Aparência dos produtos extrudados

A aparência dos produtos extrudados em função das condições de extrusão usadas nos 27 tratamentos do Ensaio I pode ser vista na Figura 4. Foi observada maior expansão dos extrudados nos tratamentos de nº 19 à 27, correspondentes a temperatura de 150°C, em relação aos realizados à 200 e 250°C. As menores umidades da farinha e temperatura de extrusão acarretaram maiores expansões dos produtos finais, como foi notado nos tratamentos de nº 25, 26 e 27, usando umidade de 17% e temperatura de 150°C.

O grau de expansão dos extrudados foi também influenciado pela umidade inicial e pela temperatura de extrusão, atingindo valores máximos a umidades inferiores a 15% e a temperaturas entre 170 e 230°C. Esses resultados foram similares àquelles relatado por EL-DASH (27), na extrusão de amido de milho.

b - Torque

Os valores do torque em extrusão medem o trabalho mecânico necessário para forçar o material a deslocar-se através do parafuso e sair pela matriz. O torque foi registrado continuamente, por meio de gráficos, nos 27 tratamentos do Ensaio I. Os valores do torque máximo, mínimo e médio, mostrados no Quadro 7, foram utilizados para o controle e verificação da estabilidade de cada tratamento de extrusão. Foi observado que nos 9 ensaios a 27% de umidade inicial da farinha (tratamentos 1, 2, 3,

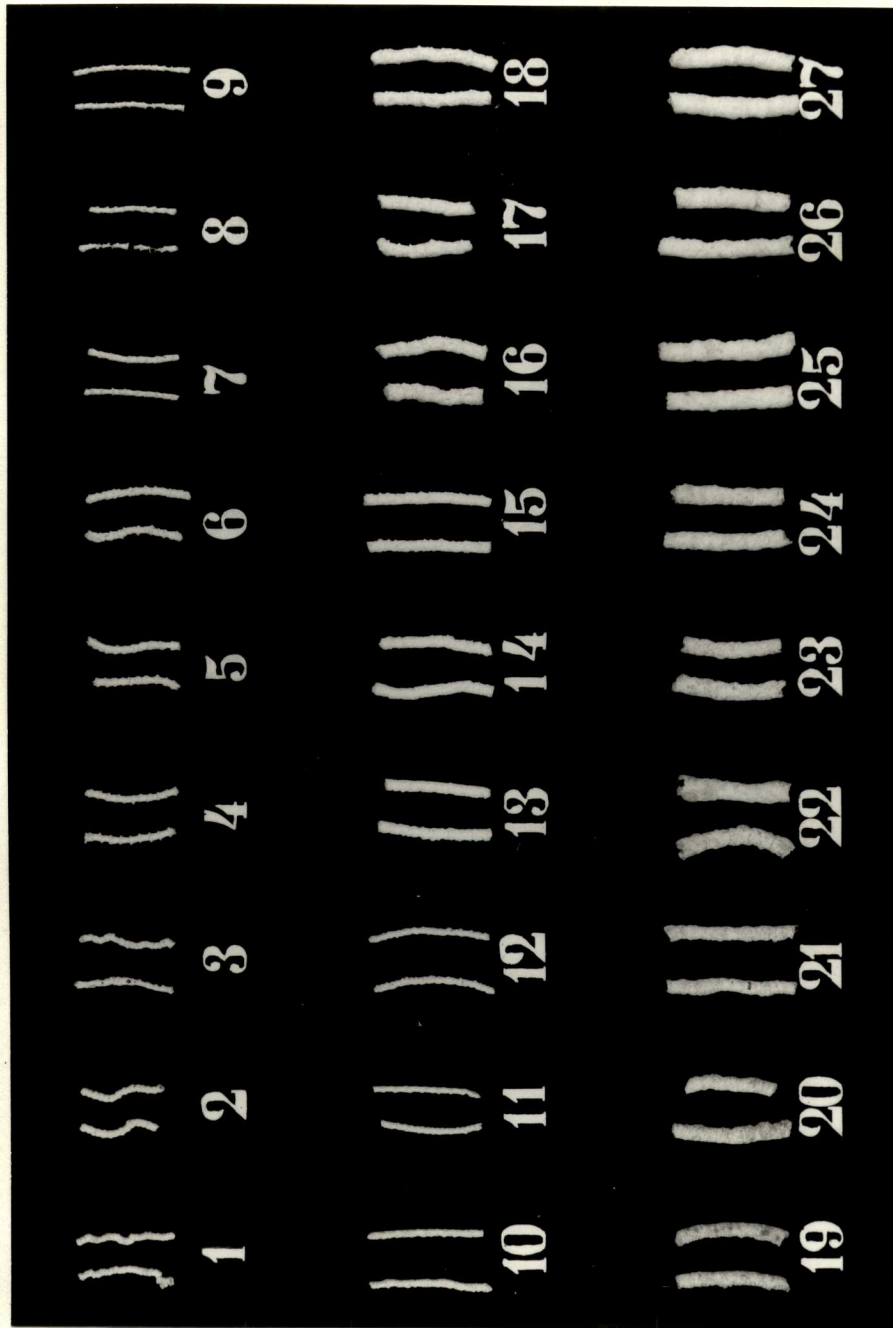


FIGURA 4. Aparência dos produtos extrudados nos 27 tratamentos do Ensaio I.

OUADRO 7. Influência da temperatura, rotação da rosca e umidade inicial da farinha nos valores de torque, nos 27 tratamentos do Ensaio I.

Trata- mentos	T (°C)	R (rpm)	U (%)	Torque		
				Mínimo	Máximo	Médio
1	250	160	27		Estável	1200
2	250	130	27		Estável	2100
3	250	100	27		Estável	2200
4	250	160	22	1300		1650
5	250	130	22	2900		3150
6	250	100	22		Estável	3500
7	250	160	17	1500		2500
8	250	130	17	1800		2650
9	250	100	17	2300		3100
10	200	160	27	1000		1150
11	200	130	27		Estável	1200
12	200	100	27		Estável	2300
13	200	160	22	1100		1400
14	200	130	22	1400		2000
15	200	100	22	2600		3150
16	200	160	17	1200		1650
17	200	130	17	1800		2150
18	200	100	17	3600		4200
19	150	160	27	1300		1500
20	150	130	27	1700		2000
21	150	100	27		Estável	2800
22	150	160	22	1800		2050
23	150	130	22	1800		2050
24	150	100	22	4100		4300
25	150	160	17	1700		2400
26	150	130	17	2200		2650
27	150	100	17	2800		3250

10, 11, 12, 19, 20 e 21), as diferenças dos valores do torque máximo e mínimo foram inferiores aquelas obtidas à 22 e 17% de umidade nas mesmas condições de rpm de temperatura de extrusão. Isto mostrou uma maior estabilidade do processo nos tratamentos com maior umidade inicial da farinha.

As Figuras 5a, 5b e 5c mostram a variação do torque médio em função da umidade inicial da farinha e da rotação da rosca do extrusor, nas temperaturas de 150, 200 e 250°C, respectivamente. Os maiores valores de torque foram obtidos nos ensaios à rotação de extrusão de 100 rpm, independentemente da temperatura e da umidade usadas. Entretanto, houve uma tendência de diminuição dos valores do torque com o aumento do teor de umidade, em todas temperaturas e rpm usadas.

Foi também observado, de um modo geral, maiores torques com a diminuição da temperatura, para um mesmo nível de umidade. Esses resultados se justificaram pelo fato do aumento da temperatura de extrusão e da umidade inicial da farinha, tenderem a diminuir a viscosidade da massa e seu atrito mecânico, possibilitando o fluxo através do sistema mais rápido e com menores valores de torque. Na extrusão de amido de milho também foram observados torques máximos a umidades e temperaturas mais baixas, conforme citado por EL-DASH (27).

#### c - Degradação das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> nos produtos extrudados

O conteúdo inicial das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> nas amostras de farinha de arroz antes da extrusão é apresentado no

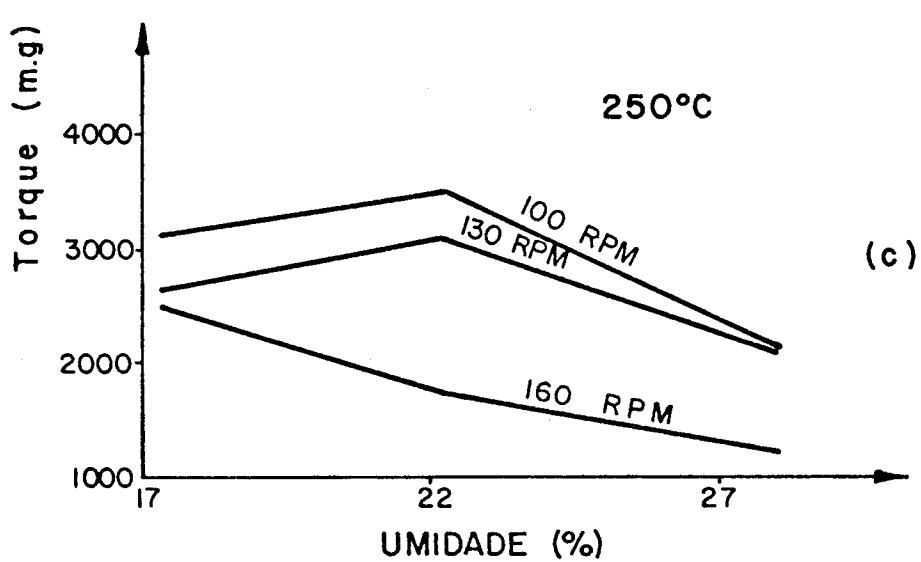
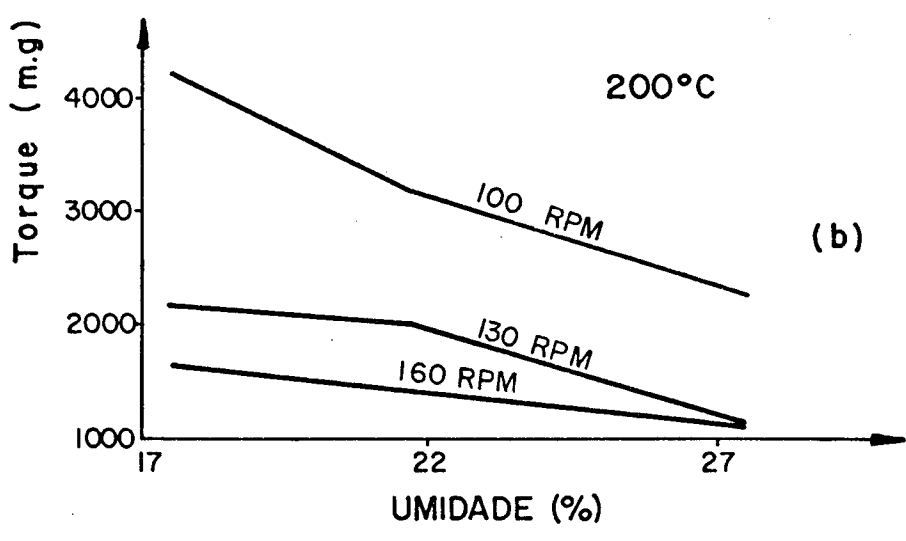
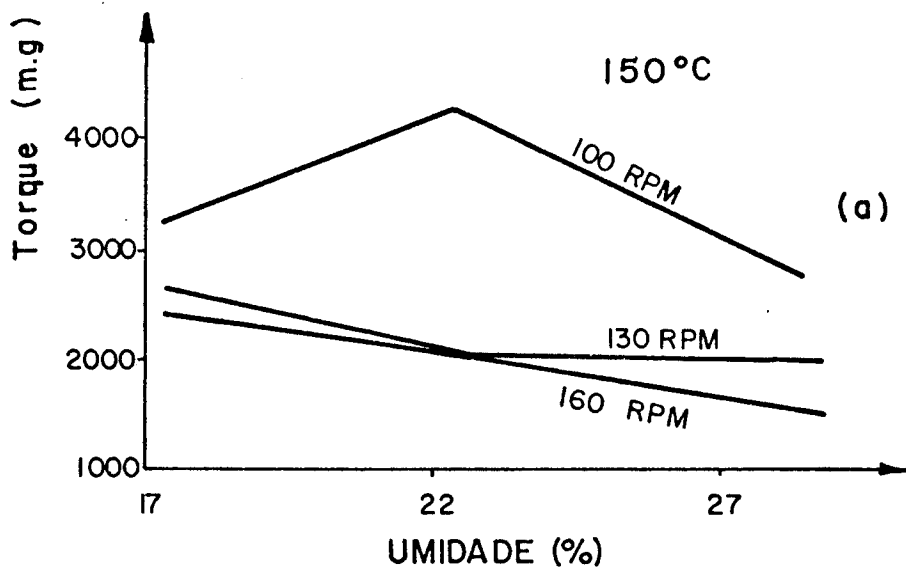


FIGURA 5 (a, b e c). Influência da umidade inicial da farinha e da rotação do extrusor às temperaturas de 150°C (a), 200°C (b) e 250°C (c), nos valores do torque médio.

Quadro 8. Após a extrusão nas condições do Ensaio I, foram quantificados os teores residuais das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$ , os quais podem ser vistos no Quadro 9.

O efeito das condições de extrusão estabelecidas no Ensaio I na porcentagem de redução das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  é mostrado no Quadro 10.

As Figuras 6a, 6b e 6c mostram as porcentagens de redução das aflatoxinas  $B_1 + G_1$  em função da umidade inicial da farinha e da rotação da rosca do extrusor, nas temperaturas de 150, 200 e 250°C, respectivamente. Pode ser observado que a rotação da rosca do extrusor praticamente não afetou a degradação das aflatoxinas, notadamente à temperatura de 150°C, e que a 100, 130 ou 150 rpm, as porcentagens de redução foram praticamente similares.

As Figuras 7a, 7b e 7c mostram as porcentagens de redução média das aflatoxinas  $B_1 + G_1$  em função da umidade inicial da farinha e da temperatura de extrusão, nas rotações de 100, 130 e 150 rpm, respectivamente.

As Figuras 6 e 7 evidenciam a influência da temperatura na redução das aflatoxinas  $B_1 + G_1$ . Independentemente da umidade inicial da farinha e da rotação da rosca, o processo de extrusão usando a temperatura de 150°C, foi mais eficiente na degradação das aflatoxinas.

Ao aplicar a análise de variância (Quadro 11) aos dados obtidos da redução da aflatoxina  $B_1$  nos 27 tratamentos do Ensaio I, foi mostrado que a redução da aflatoxina foi afetada



QUADRO 8. Teor inicial das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> na farinha de arroz (FAA) antes da extrusão nas condições do Ensaio I.

Tratamentos	Farinha de arroz antes extrusão	Teor médio de aflatoxina <sup>1</sup> (ppb)			
		B <sub>1</sub>	C.V.	G <sub>1</sub>	C.V.
1					
2	O <sub>1</sub>	1300	8,8	1400	16,5
3					
4					
5	O <sub>2</sub>	1375	3,6	1550	3,7
6					
7					
8	O <sub>3</sub>	1300	6,3	1450	4,0
9					
10					
11	O <sub>4</sub>	1450	3,5	1400	14,3
12					
13					
14	O <sub>5</sub>	1350	4,3	1300	8,9
15					
16					
17	O <sub>6</sub>	1350	6,4	1450	6,0
18					
19					
20	O <sub>7</sub>	1350	6,4	1500	0
21					
22					
23	O <sub>8</sub>	1300	0	1550	3,7
24					
25					
26	O <sub>9</sub>	1300	0	1450	6,0
27					

<sup>1</sup> Média de 4 repetições

C.V. Coeficiente de variação

FAA - Farinha de arroz com alto teor em aflatoxina.

QUADRO 9. Efeito da extrusão nas condições do Ensaio I no teor residual das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>.

Tratamentos	T (°C)	R (rpm)	U (%)	Teor residual de aflatoxina <sup>1</sup> (ppb)			
				B <sub>1</sub>	C.V.	G <sub>1</sub>	C.V.
1	250	160	28,05	1025	8,0	900	12,8
2	250	130	28,05	966	12,0	966	12,0
3	250	100	28,05	875	3,3	775	6,5
4	250	160	22,20	575	8,7	537	19,2
5	250	130	22,20	512	9,3	550	10,5
6	250	100	22,20	512	9,3	437	10,9
7	250	160	17,30	762	9,8	637	3,9
8	250	130	17,30	566	5,1	416	6,9
9	250	100	17,30	566	5,1	416	6,9
10	200	160	27,50	666	17,3	566	10,2
11	200	130	27,50	500	11,6	550	10,5
12	200	100	27,50	637	7,5	625	8,0
13	200	160	21,70	500	11,6	550	10,5
14	200	130	21,70	567	10,2	666	4,3
15	200	100	21,70	433	6,7	333	8,7
16	200	160	17,50	425	6,8	637	7,5
17	200	130	17,50	487	12,9	538	8,9
18	200	100	17,50	416	6,9	316	9,1
19	150	160	28,55	316	9,1	350	0
20	150	130	28,55	260	6,7	283	10,2
21	150	100	28,55	383	7,5	370	7,2
22	150	160	22,35	250	2,0	283	10,2
23	150	130	22,35	216	13,3	200	10,0
24	150	100	22,35	266	10,8	333	8,7
25	150	160	17,30	238	11,9	200	14,2
26	150	130	17,30	313	17,2	278	7,6
27	150	100	17,30	245	16,5	210	5,5

C.V. - Coeficiente de variação.

<sup>1</sup> Média de 4 repetições.

QUADRO 10. Efeito da extrusão nas condições do Ensaio I na percentagem de redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>.

Tratamento	T (°C)	R (rpm)	U (%)	Redução de aflatoxina (%)	
				B <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>
1	250	160	28,05	21	36
2	250	130	28,05	26	31
3	250	100	28,05	33	45
4	250	160	22,20	58	65
5	250	130	22,20	63	65
6	250	100	22,20	63	72
7	250	160	17,30	41	56
8	250	130	17,30	56	71
9	250	100	17,30	56	71
10	200	160	27,50	54	59
11	200	130	27,50	66	61
12	200	100	27,50	56	55
13	200	160	21,70	63	58
14	200	130	21,70	58	49
15	200	100	21,70	68	75
16	200	160	17,50	69	56
17	200	130	17,50	64	63
18	200	100	17,50	69	78
19	150	160	28,55	77	77
20	150	130	28,55	81	81
21	150	100	28,55	72	85
22	150	160	22,35	81	82
23	150	130	22,35	84	87
24	150	100	22,35	79	79
25	150	160	17,30	82	86
26	150	130	17,30	76	81
27	150	100	17,30	81	86

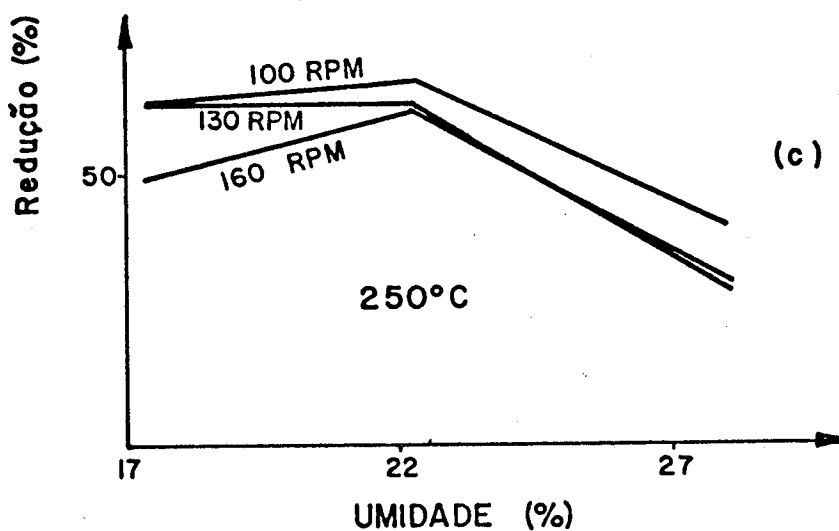
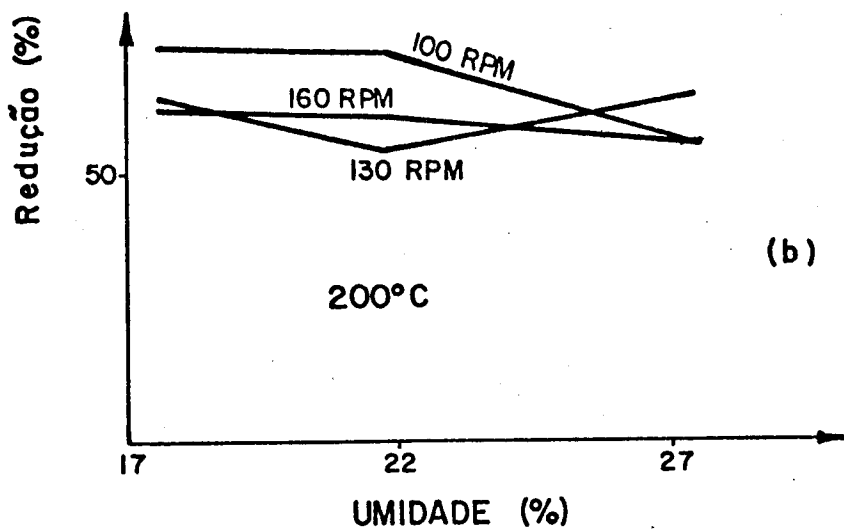
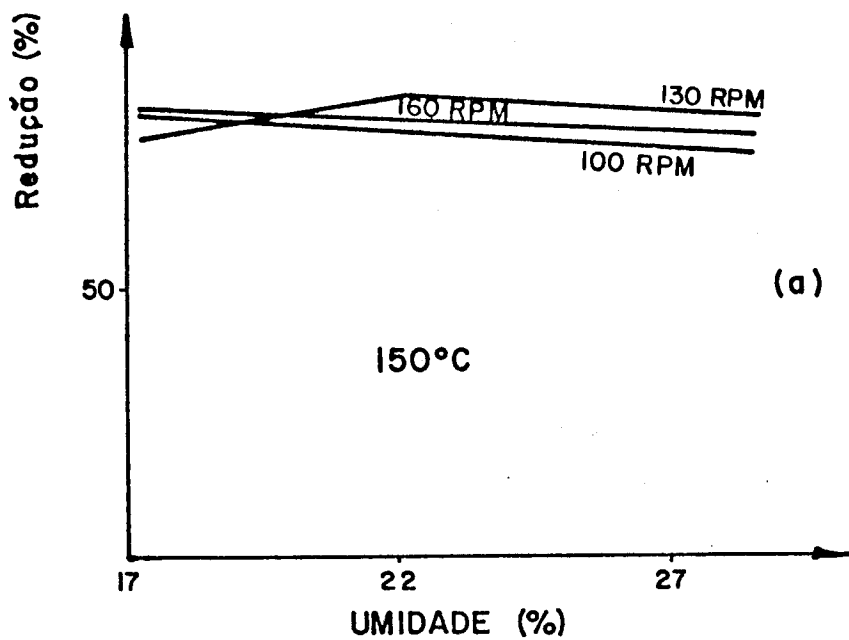


FIGURA 6 (a, b e c). Influência da umidade inicial da farinha à rotação da rosca de 100, 130 e 160 rpm e às temperaturas de 150°C (a), 200°C (b) e 250°C (c), na porcentagem de redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> + G<sub>1</sub>.

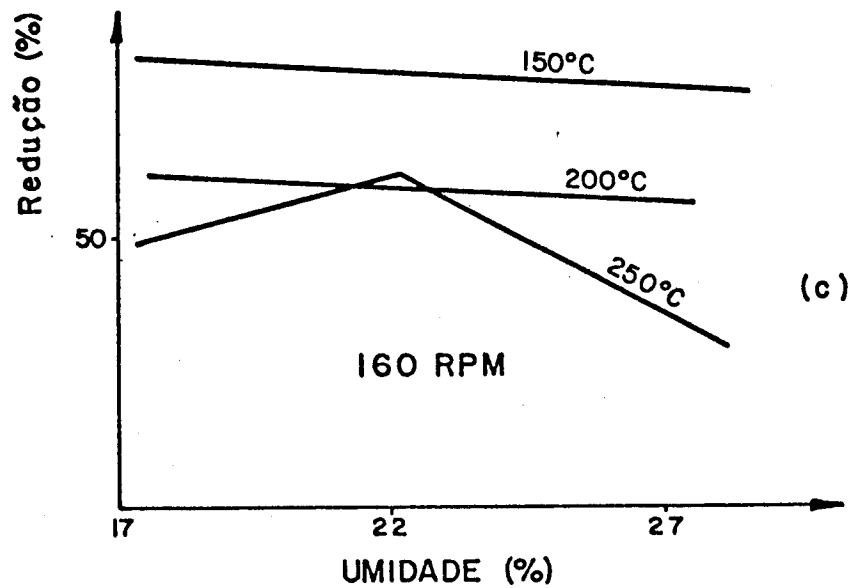
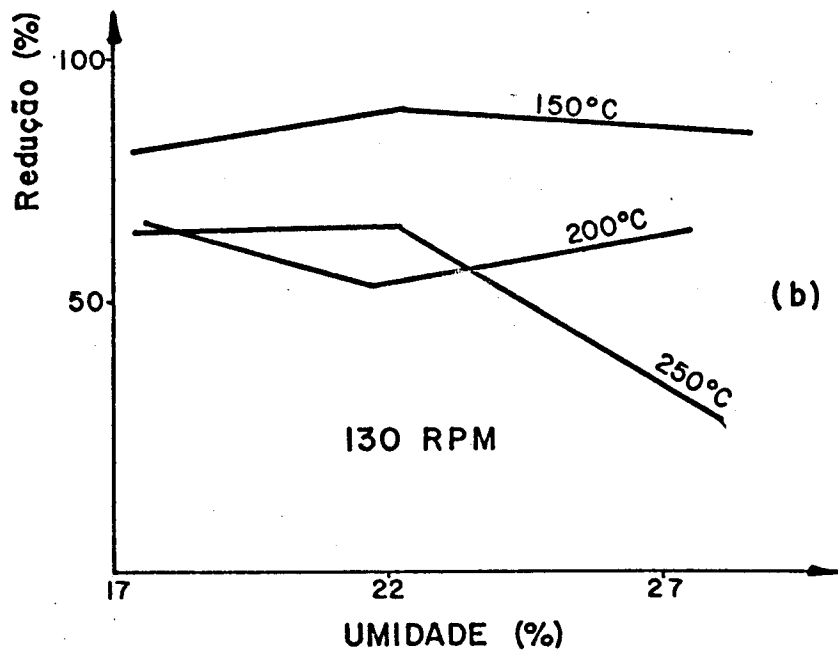
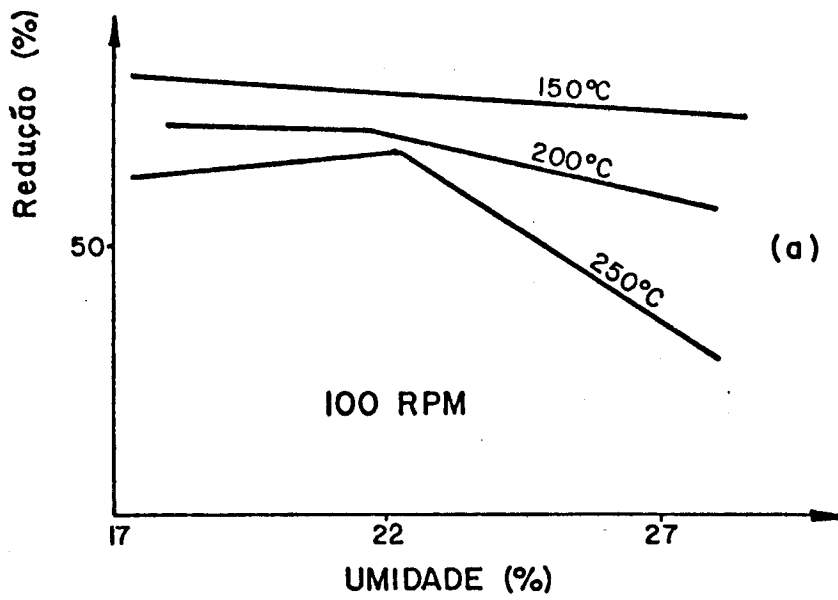


FIGURA 7 (a, b e c). Influência da umidade inicial da farinha e da temperatura de extrusão a rotação da rosca de 100 rpm (a), 130 rpm (b) e 160 rpm (c), na porcentagem de redução das aflatoxinas  $B_1 + G_1$ .

QUADRO 11. Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina B<sub>1</sub> nos 27 tratamentos do Ensaio I, conforme equação de regressão I.

Causa da variação	G.L.	S.O.	Q.M.	F.
Regressão	7	6131,5	875,9	12,3**
Temperatura (T)	1	4933,6	4933,6	69,2**
Umidade (U)	1	660,1	660,1	9,3**
Rotação (R)	1	56,9	56,9	<1,0
Interação T x U	1	352,1	352,1	4,9*
Interação T x R	1	126,7	126,7	1,8
Interação U x R	1	2,1	2,1	<1,0
Interação T x U x R	1	0,1	0,1	<1,0
Resíduo	19	1353,9	71,3	
Total	26	7485,4		

\* significância à 5%

\*\* significância à 1%

G.L. - graus de liberdade

S.O. - soma dos quadrados

Q.M. - quadrado médio

significativamente pela temperatura de extrusão. O efeito da umidade inicial da farinha de arroz foi também significante, porém afetou a redução da aflatoxina em menor escala. O efeito da rotação da rosca do extrusor foi não significativo.

Os diversos parâmetros empregados para caracterizar os produtos da extrusão de farinhas de arroz não sofreram influência da rotação da rosca, conforme resultados obtidos por SILVA (75). Entretanto pareceu existir um maior atrito mecânico quando o extrusor foi operado a 130 rpm, originando maior modificação da farinha.

Entre as interações das três variáveis estudadas, temperatura de extrusão (T), rotação da rosca (R) e umidade da farinha (U), verificou-se que a interação T x U foi significativa ao nível de 5%, sendo as demais interações (T x R, U x R e T x R x U) não significativas. A equação da regressão I utilizando todos os dados obtidos teve coeficiente de determinação de 81,9%.

$$y = 62,9 - 16,6 x_1 - 6,06 x_2 - 1,78 x_3 - 5,42 x_1 x_2 - 3,25 x_1 x_3 - 0,417 x_2 x_3 - 0,125 x_1 x_2 x_3$$

onde:

$$x_1 \text{ (Temperatura)} = \begin{cases} -1 & (150^{\circ}\text{C}) \\ 0 & (200^{\circ}\text{C}) \\ +1 & (250^{\circ}\text{C}) \end{cases} \quad x_1 x_2 \text{ (interação T x U)}$$

			$x_1 x_3$ (interação T x R)
		-1 (17%)	
$x_2$ (Umidade)	=	0 (22%)	
		+1 (27%)	
			$x_2 x_3$ (interação U x R)
		-1 (100)	
$x_3$ (Rotação)	=	0 (130)	
		+1 (160)	
			$x_1 x_2 x_3$ (interação T x U x R)

Foram eliminadas as variáveis não significativas, com base nos resultados apresentados no Quadro 11. Foram então feitos estudos tentativos para se encontrar uma nova equação de regressão, que melhor se ajustasse aos dados. Desta forma foram considerados somente as variáveis temperatura ( $x_1$ ), umidade ( $x_2$ ), temperatura x umidade ( $x_1 x_2$ ) e umidade ao quadrado ( $x_2^2$ ) obtendo-se a equação de regressão II:

$$y = 68,7 - 16,6 x_1 - 6,06 x_2 - 5,42 x_1 x_2 - 8,72 x_2^2$$

A análise de variância, desprezando-se as variáveis não significativas é apresentada no Quadro 12. Os resultados da análise de variância mostraram que a redução da aflatoxina sofreu os efeitos altamente significativos da temperatura de extrusão, da umidade da farinha e da umidade da farinha ao quadrado e o efeito significativo da interação entre a temperatura e umidade. O coeficiente de determinação da equação de regressão



QUADRO 12. Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina B<sub>1</sub> nos 27 tratamentos do Ensaio I, conforme equação de regressão II.

Causas da variação	G.L.	S.O.	O.M.	F.
Temperatura (T)	1	4933,6	4933,6	100,3**
Umidade (U)	1	660,1	660,1	13,4**
T x U	1	352,1	352,1	7,2*
U <sup>2</sup>	1	456,5	456,5	9,3**
Resíduo	22	1083,2	49,2	
Total	26	7485,4		

\* significância à 5%

\*\* significância à 1%

G.L. - graus de liberdade

S.O. - soma dos quadrados

O.M. - quadrado médio

II, utilizando-se somente as variáveis significativas elevou-se para 85,5%.

A correlação (R) entre os valores obtidos de y (% de redução das aflatoxinas) e os valores de y calculados pela equação de regressão II foi de 0,925\*\*, o que mostrou que o novo modelo matemático representou melhor os resultados obtidos no Ensaio I.

As curvas de nível correspondentes ao modelo (II) foram determinadas na região de estudo (temperatura entre 150 e 250°C, e umidade entre 17 e 27%), para diversos valores de y (Figura 8). Foi observado que a redução da aflatoxina B<sub>1</sub> aumentou quando a temperatura baixou de 250 à 150°C; em relação a umidade inicial da farinha, os valores na faixa de 22% tiveram a maior degradação da aflatoxina B<sub>1</sub>, que foi em torno de 85%. O formato das curvas de redução da aflatoxina B<sub>1</sub> (Figura 8) mostraram também uma tendência de maior degradação da aflatoxina B<sub>1</sub>, a temperaturas inferiores à 150°C e a umidade em torno de 22%, que foram desta forma, as condições exploradas no Ensaio II.

A princípio procurou-se conhecer as condições de extrusão que propiciassem a maior degradação da aflatoxina B<sub>1</sub>, devido a sua maior toxidez em relação a G<sub>1</sub>. Assim, os resultados dos Quadros 11 e 12 e da Figura 8 referem-se à aflatoxina B<sub>1</sub> apenas. Entretanto, a regressão linear entre as porcentagens de redução de B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>, em relação aos tratamentos do

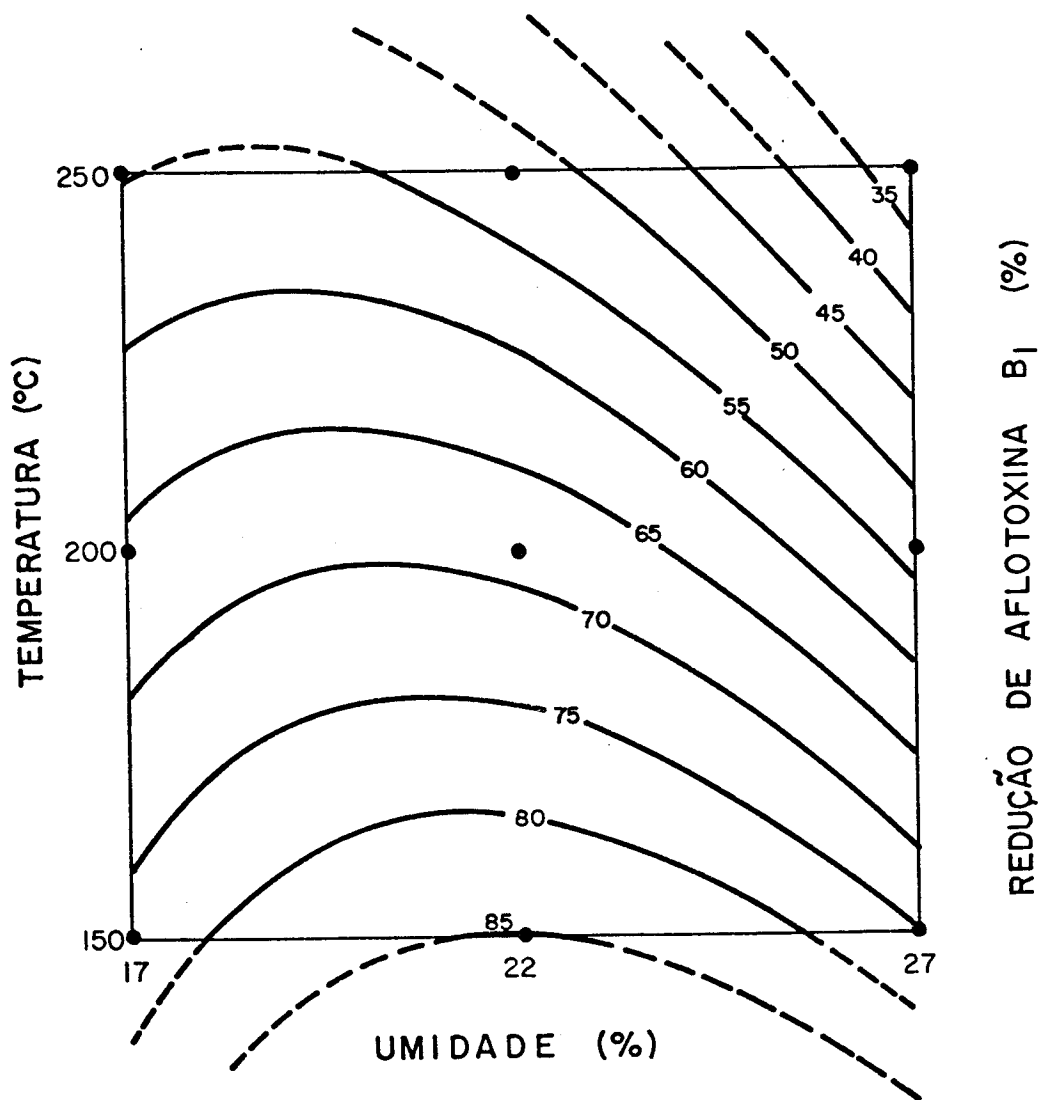


FIGURA 8. Influência da temperatura e da umidade da farinha antes da extrusão na porcentagem de redução de aflatoxina B<sub>1</sub>, conforme a equação de regressão II (Ensaio I).

Ensaio I, mostrou que as reduções de  $B_1$  e de  $G_1$  foram altamente relacionadas. A análise de variância é apresentada no Quadro 13. O modelo apresentou coeficiente de determinação de 81,69%.

$$x_{G_1} = 15,69 + 0,81 x_{B_1}$$

onde:

$$x_{B_1} = \text{porcentagem de redução de } B_1$$

$$x_{G_1} = \text{porcentagem de redução de } G_1$$

Desta forma foi mostrado que as condições da extrusão que propiciaram o aumento da degradação da aflatoxina  $G_1$  pareceram estar próximos aos estabelecidos para a aflatoxina  $B_1$ , como mostrado na Figura 8.

#### d - Torque x degradação das aflatoxinas

Os valores do torque e da porcentagem de redução das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  foram afetados pela umidade da farinha e pela temperatura de extrusão. Para se conhecer se o torque e a degradação estão relacionados entre si, foi feita a regressão linear do torque em função da redução de  $B_1$  e  $G_1$ . A análise de variância dos resultados do torque médio em relação a aflatoxina  $B_1$  e  $G_1$  são apresentados nos Quadros 14 e 15, respectivamente.

Para a aflatoxina  $B_1$ , o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi igual a 7,43% e o coeficiente de correlação igual a 0,2725 (não significativo). Entretanto, a interação entre o torque e a redução da aflatoxina  $G_1$  teve o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) igual a 19,81% e o coeficiente de correlação de 0,4451, significativo à 5%. Foi constatado que com base nos resultados obtidos no Ensaio I, o torque praticamente não afetou a degradação das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$ .

QUADRO 13. Análise de variância dos valores das porcentagens de redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> em relação aos tratamentos do Ensaio I.

Causa da variação	G.L.	S.O.	O.M.	F.
Regressão	1	4853,2	4853,2	111,4***
Resíduo	25	1088,8	43,6	
Total	26	5942,0		

G.L. - graus de liberdade

S.O. - soma dos quadrados

O.M. - quadrado médio

\*\*\* significância à 0,1%

QUADRO 14. Análise de variância dos resultados do torque médio em relação à redução da aflatoxina B<sub>1</sub>.

Causa da variação	G.L.	S.Q.	O.M.	F
Regressão	1	548,0	548,0	2,0n.s.
Resíduo	25	6829,4	273,2	
Total	26	7377,4		

n.s. - não significativo.

QUADRO 15. Análise de variância dos resultados do torque médio em relação à redução da aflatoxina G<sub>1</sub>.

Causa da variação	G.L.	S.Q.	O.M.	F
Regressão	1	1177,1	1177,1	6,2*
Resíduo	25	4764,9	190,6	
Total	26	5942,0		

G.L. - graus de liberdade

S.Q. - soma dos quadrados

O.M. - quadrado médio

\* significância à 5%

2 - Efeito da umidade inicial da farinha (FAA) e da temperatura de extrusão na degradação das aflatoxina B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> (ENSAIO II)

Foram delineados 5 tratamentos de extrusão no Ensaio II, sendo fixada a rotação da rosca em 130 rpm, considerando que essa variável, conforme indicou o Ensaio I, não teve influência significativa na redução das toxinas. Os resultados obtidos no Ensaio I mostraram também uma tendência a redução das aflatoxinas a temperaturas inferiores a 150°C e em umidades em torno de 22%.

Os teores das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>, nas amostras antes e após a extrusão nos tratamentos do Ensaio II são mostrados no Quadro 16. Nos ensaios I e II foi usada a farinha de arroz com alto teor de aflatoxina (FAA).

A análise estatística foi feita incorporando as observações do Ensaio II às anteriores, apresentadas no Ensaio I. Para a redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> foram feitos ajustes de modelos de 2<sup>a</sup> ordem, considerando a umidade (U) e a temperatura (T), os quais mostraram que o efeito quadrático da umidade da farinha foi não significativo.

Assim, para o caso da redução da aflatoxina B<sub>1</sub> desprezando o termo U<sup>2</sup> foi obtida a equação de regressão seguinte:

$$y = 67,8 - 13,8 x_1 - 6,23 x_2 - 7,99 x_2 - 4,58 x_1 x_2$$

QUADRO 16. Efeito da umidade e da temperatura de extrusão da farinha<sup>1</sup> na redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> nos produtos extrudados nas condições do Ensaio II.

Tratamentos	T (°C)	R (rpm)	U (%)	Teor residual de aflatoxina <sup>2</sup> (ppb)				Redução de aflatoxina (%)	
				B <sub>1</sub>	C.V.	G <sub>1</sub>	C.V.	B <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>
1	120	130	25,5	583	4,9	690	2,5	57	52
2	120	130	21,5	566	6,1	623	4,0	58	57
3	150	130	25,5	420	4,1	623	7,4	69	57
4	135	130	24,5	416	8,4	620	5,5	69	57
5	150	130	21,5	283	10,2	243	4,7	79	83

C.V. - coeficiente de variação

<sup>1</sup> teor inicial de aflatoxina B<sub>1</sub> = 1350 ppb C.V. = 6,4

teor inicial de aflatoxina G<sub>1</sub> = 1450 ppb C.V. = 6,0

<sup>2</sup> média de 4 repetições



A análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina B<sub>1</sub> em função da umidade e temperatura são apresentados no Quadro 17.

Em relação a redução da aflatoxina G<sub>1</sub>, desprezando o termo U<sup>2</sup> foi obtida a equação de regressão seguinte:

$$y = 70,1 - 8,25 x_1 - 6,55 x_2 - 5,59 x_1^2 - 3,64 x_1 x_2$$

A análise de variância dos resultados de redução da aflatoxina G<sub>1</sub> em função da umidade e da temperatura é apresentado no Quadro 18.

As respostas da porcentagem de redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> em relação as variações no conteúdo de umidade e na temperatura de extrusão (a rpm constante de 130) são mostradas na Figura 9a e 9b, respectivamente.

Foi observado que farinha com alto conteúdo de umidade, quando extrudada a alta temperatura resultou em produto com baixa porcentagem de redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>. Entretanto a farinha com baixo conteúdo de umidade (17-20%) extrudada a temperatura moderada (140-200°C) produziram extrudados com maiores porcentagens de redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>. Provavelmente, estas foram as condições de extrusão que acarretaram uma maior hidrólise do anel lactona das moléculas de aflatoxina. Realmente, a destruição das moléculas de aflatoxina inicia com a hidrólise da função lactona, seguida de outras reações que levam à degradação da mesma (7).

QUADRO 17. Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina B<sub>1</sub> em função da umidade e temperatura..

Causas de variação	G.L.	S.O.	Q.M.	F
Devido a regressão	4	55534,6	1383,6	16,22**
Resíduo	27	2302,9	85,29	
Total	31	7837,5		

\*\* significância à 1%

G.L. - graus de liberdade

S.Q. - soma dos quadrados

Q.M. - quadrado médio

QUADRO 18. Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina G<sub>1</sub> em função da umidade e temperatura,

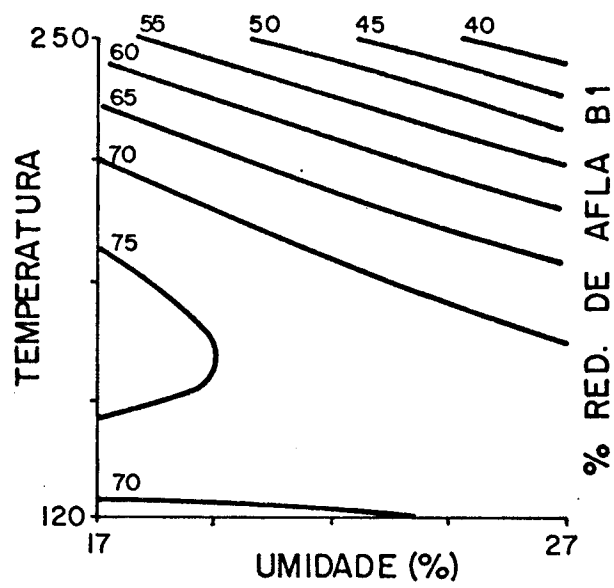
Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Devido a regressão	4	2683,3	670,8	4,47**
Resíduo	27	4052,7	150,1	
Total	31	6736,0		

\*\* significância à 1%

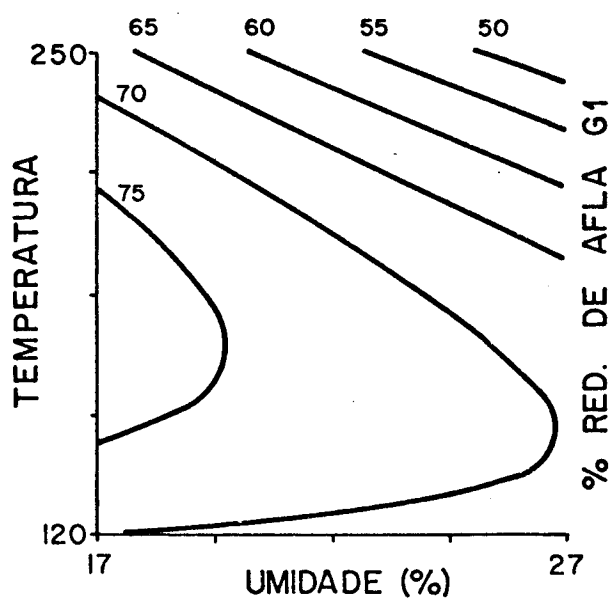
G.L. - graus de liberdade

S.Q. - soma dos quadrados

Q.M. - quadrado médio



(a)



(b)

FIGURA 9 (a, b). Efeito da temperatura e da umidade inicial da farinha antes da extrusão na porcentagem de redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> (a) e G<sub>1</sub> (b).

Foi aplicado o procedimento de reamostragens, o "Bootstrap"(26), e ajustado o modelo aos valores reconstituídos das observações. Foram obtidas as superfícies de respostas correspondentes as Figuras 10 e 11, para as aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$ , respectivamente. As imagens "Bootstrap" deram uma idéia precisa das formas das superfícies de respostas que poderiam ser obtidas se os experimentos (Ensaio I e II) fossem integralmente repetidos, diversas vezes, nas mesmas condições. Desta forma foi possível ter uma idéia correta da variabilidade associada a novas estimativas das superfícies de resposta.

### 3 - Efeito da umidade inicial da farinha (FMA) na degradação das aflatoxinas $B_1$ e $G_1$ (Ensaio III)

O efeito da umidade inicial da farinha antes da extrusão na degradação das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  usando a farinha de arroz com teor médio de aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$ , é apresentado no Quadro 19. Foi verificado que a porcentagem de degradação das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  foram iguais à 22 e 27% de umidade inicial da farinha, à temperatura de extrusão de  $150^{\circ}\text{C}$  e à rotação da rosca de 130 rpm. Nestas condições, a redução total das aflatoxinas foi de 48%, apenas ligeiramente superior à obtida à 17%, que foi de 45%. Portanto, a umidade inicial da farinha com média contaminação praticamente não afetou a degradação das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$ , nas condições de extrusão usadas.

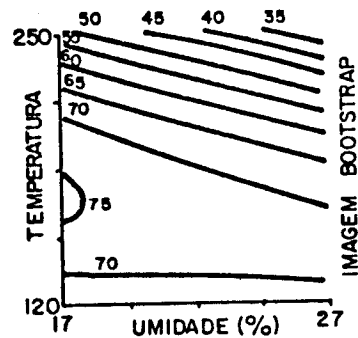
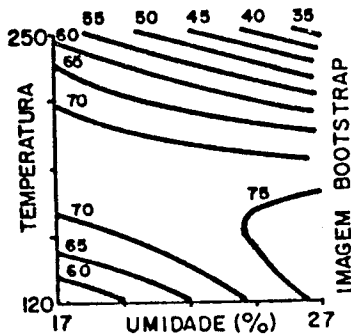
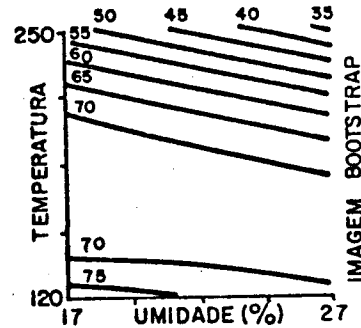
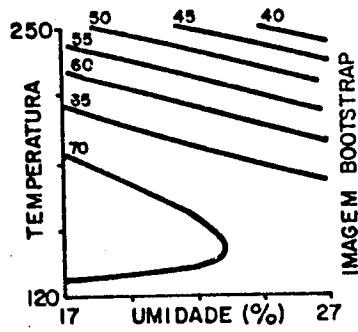
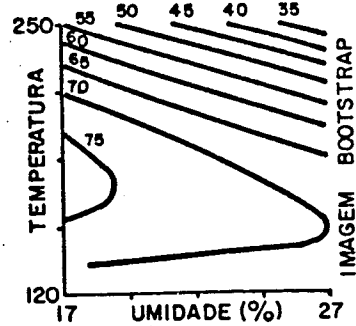
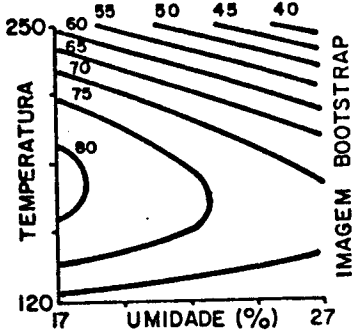
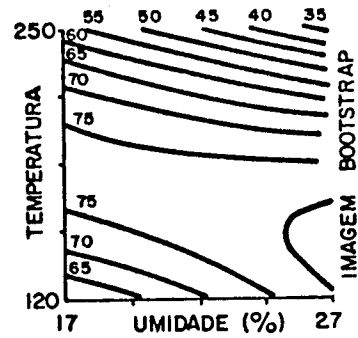
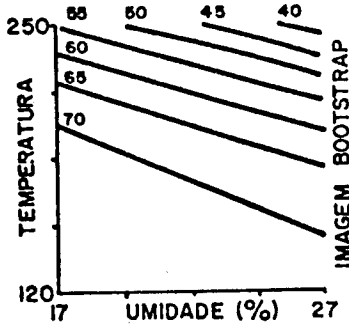
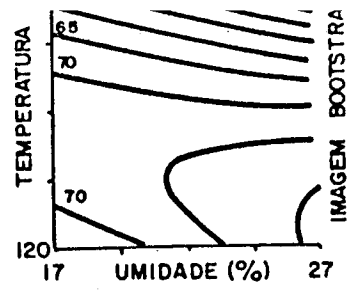
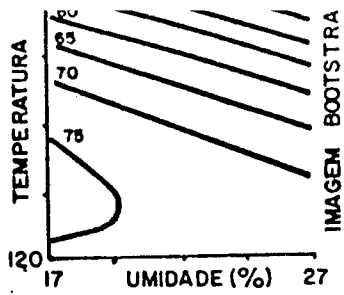


FIGURA 10. Imagens "Bootstrap" correspondentes à superfície de respostas relativas a redução da aflatoxina B<sub>1</sub> em função da umidade da farinha e da temperatura de extrusão.

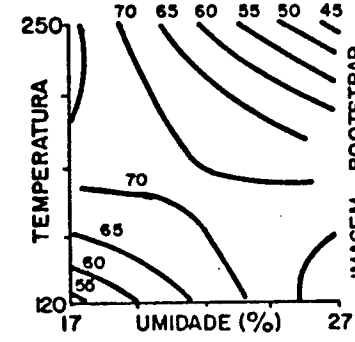
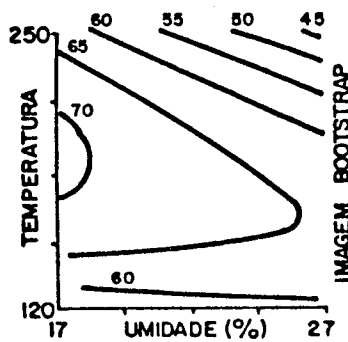
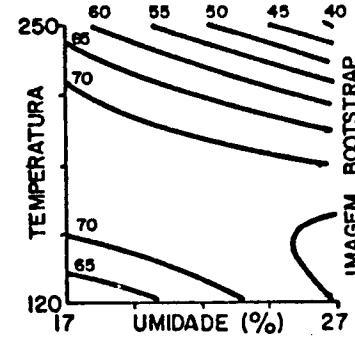
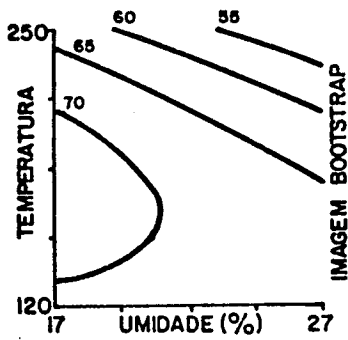
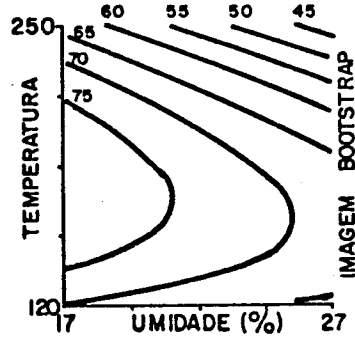
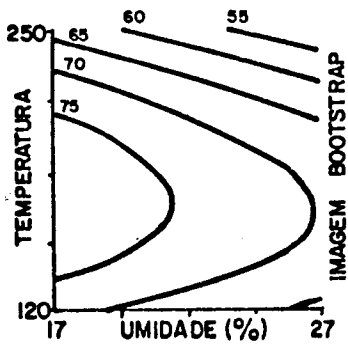
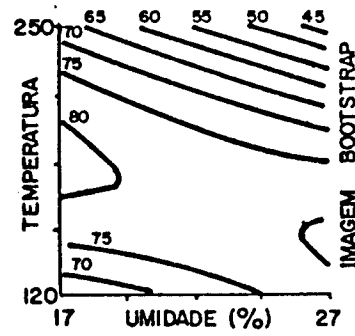
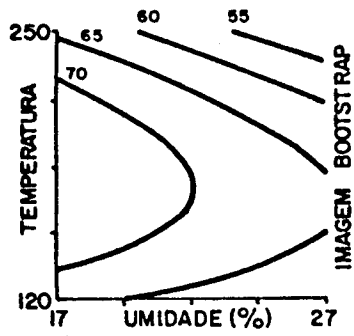
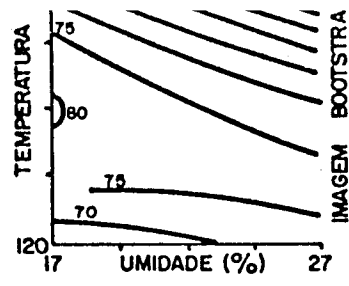
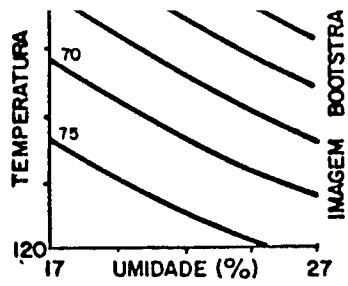


FIGURA 11. Imagens "Bootstrap" correspondentes à superfícies de respostas relativas a redução da aflatoxina G<sub>1</sub> em função da umidade da farinha e da temperatura de extrusão.

QUADRO 19. Efeito da umidade da farinha de arroz<sup>1</sup> na degradação das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>, nos produtos extrudados nas condições do Ensaio III<sup>2</sup>.

Umidade da farinha antes extrusão (%)	Teor residual de aflatoxina <sup>3</sup> (ppb)				Redução (%)	
	B <sub>1</sub>	C.V.	G <sub>1</sub>	C.V.	B <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>
17	125	10,6	112	4,4	46	44
22	130	8,8	100	8,1	44	50
27	130	8,8	100	8,1	44	50

<sup>1</sup> Farinha de arroz com teor médio inicial de aflatoxinas:

aflatoxina B<sub>1</sub> = 230 ppb      C.V. = 10,6

aflatoxina G<sub>1</sub> = 200 ppb      C.V. = 11,5

<sup>2</sup> Condições de extrusão:

Temperatura de extrusão - 150°C

Rotação do extrusor - 130 rpm

<sup>3</sup> Média de 4 repetições



4 - Efeito do teor inicial das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> presentes nas farinhas de arroz FAA, FMA e FBA, na degradação das mesmas

O efeito do nível inicial de toxinas na farinha no grau de degradação após extrusão à temperatura de 150°C, à umidade de 22% e a rotação da rosca de 130 rpm, pode ser visto no Quadro 20. Estes testes de extrusão foram feitos usando as farinhas com alto (FMA), médio (FMA) e baixo (FBA) teores de aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>.

Foi observado que a farinha de arroz mais contaminada teve maior degradação após extrusão, a qual foi superior a 80%. Entretanto as farinhas FMA e FBA tiveram porcentagens de redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> de cerca de 50%. Resultados similares foram relatados por GRÉHAIGNE (38) usando farelo de amendoim contendo 275 ppb de aflatoxina B<sub>1</sub>. A extrusão à temperatura de 157°C e à 18,3% de umidade resultou na destruição de 49% das toxinas iniciais.

Em estudos sobre a torração a seco e em óleo de amendoim (46), também foi constatado que o grau de redução no conteúdo de aflatoxina foi maior em níveis de contaminação inicial mais elevados.

QUADRO 20. Efeito do teor inicial das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> em farinhas de arroz na porcentagem de redução das toxinas após extrusão, nas mesmas condições<sup>1</sup>.

Amostra	Teor de aflatoxina (ppb)				Redução (%)	
	Antes extrusão		Após extrusão		B <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>
	B <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>		
FAA	1300	1550	216	200	84	87
FMA	230	200	130	100	44	50
FBA	90	120	44	58	51	51

FAA - Farinha de arroz com alto teor de aflatoxinas.

FMA - Farinha de arroz com médio teor de aflatoxinas.

FBA - Farinha de arroz com baixo teor de aflatoxinas.

<sup>1</sup> Condições de extrusão:

temperatura de extrusão - 150°C

rotação do extrusor - 130 rpm

umidade da farinha - 26%

5 - Efeito do tratamento da farinha de arroz (FBA) com amônia e/ou metilamina (Ensaio IV)

a - Degradação das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>

O efeito do tratamento da farinha de arroz com baixo teor de aflatoxina B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> (FBA) com amônia e/ou metilamina, no teor residual das toxinas na farinha extrudada, é apresentado no Quadro 21.

As Figuras 12, 13 e 14, mostram o efeito da adição de amônia, de metilamina e de amônia + metilamina, respectivamente, no teor residual das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> na farinha (FBA), após extrusão, nas condições do Ensaio IV.

Foi observado que o uso de 1,0% de metilamina causou a redução dos teores de aflatoxina B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> a níveis não detectáveis. No entanto, a adição de até 2,0% de amônia proporcionou a redução de 76 e 84% das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> da farinha original, respectivamente. Os resultados mostraram que o uso de metilamina, na extrusão da farinha de arroz FBA, foi mais efetivo na de gradação das toxinas do que a amônia.

Resultados similares foram obtidos com torta de amendoim, reduzindo os teores de aflatoxina a níveis traços, usando-se 1,25% de metilamina e 6,7% de amônia, quando submetidas ao cozimento a 100°C por 2 horas e ao cozimento sob pressão por 15 minutos a 163°F, respectivamente. Além disso, a toxicidade

QUADRO 21. Efeito do tratamento da farinha de arroz (FBA) com amônia e/ou metilamina no teor residual das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> e nas suas porcentagens de redução após extrusão<sup>1</sup>.

Tratamentos	Amônia (%)	Metilamina (%)	Teor residual de aflatoxina (ppb) <sup>2</sup>				Redução (%)	
			B <sub>1</sub>	C.V.	G <sub>1</sub>	C.V.	B <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>
0	0	0	43	6,6	64	3,6	51	52
1	0,5	0	29	3,9	32	3,5	67	76
2	1,0	0	25	4,6	23	4,9	72	83
3	1,5	0	22	5,3	22	2,6	75	83
4	2,0	0	21	2,8	21	2,7	76	84
5	0	0,5	21	2,8	21	2,7	76	84
6	0	1,0	N.D.		N.D.		Total	Total
7	0	1,5	N.D.		N.D.		Total	Total
8	0	2,0	N.D.		N.D.		Total	Total
9	1,0	0,25	18	3,3	13	4,5	81	90
10	1,0	0,5	18	3,3	13	4,5	81	90
11	1,0	0,75	N.D.		N.D.		Total	Total
12	1,0	1,0	N.D.		N.D.		Total	Total

N.D. - Não detectado

C.V. - Coeficiente de variação

<sup>1</sup> Condições de extrusão estabelecidas no Ensaio IV

Teor inicial de aflatoxina B<sub>1</sub> = 90 ppb C.V. = 4,5

Teor inicial de aflatoxina G<sub>1</sub> = 120ppb C.V. = 6,8

<sup>2</sup> Média de 4 repetições

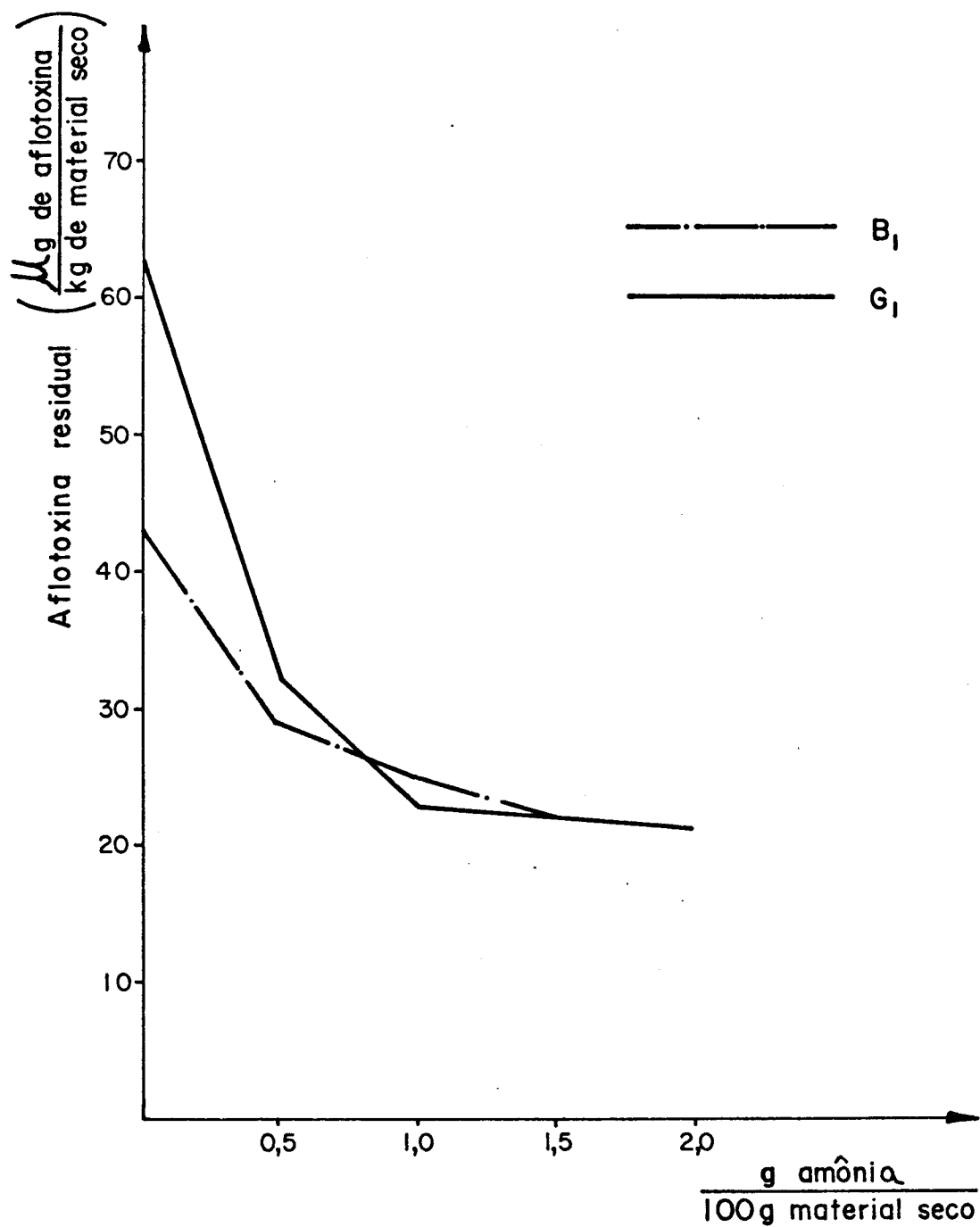


FIGURA 12. Efeito da adição de amônia a farinha de arroz FBA, no teor residual das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  após extrusão nas condições do Ensaio IV.

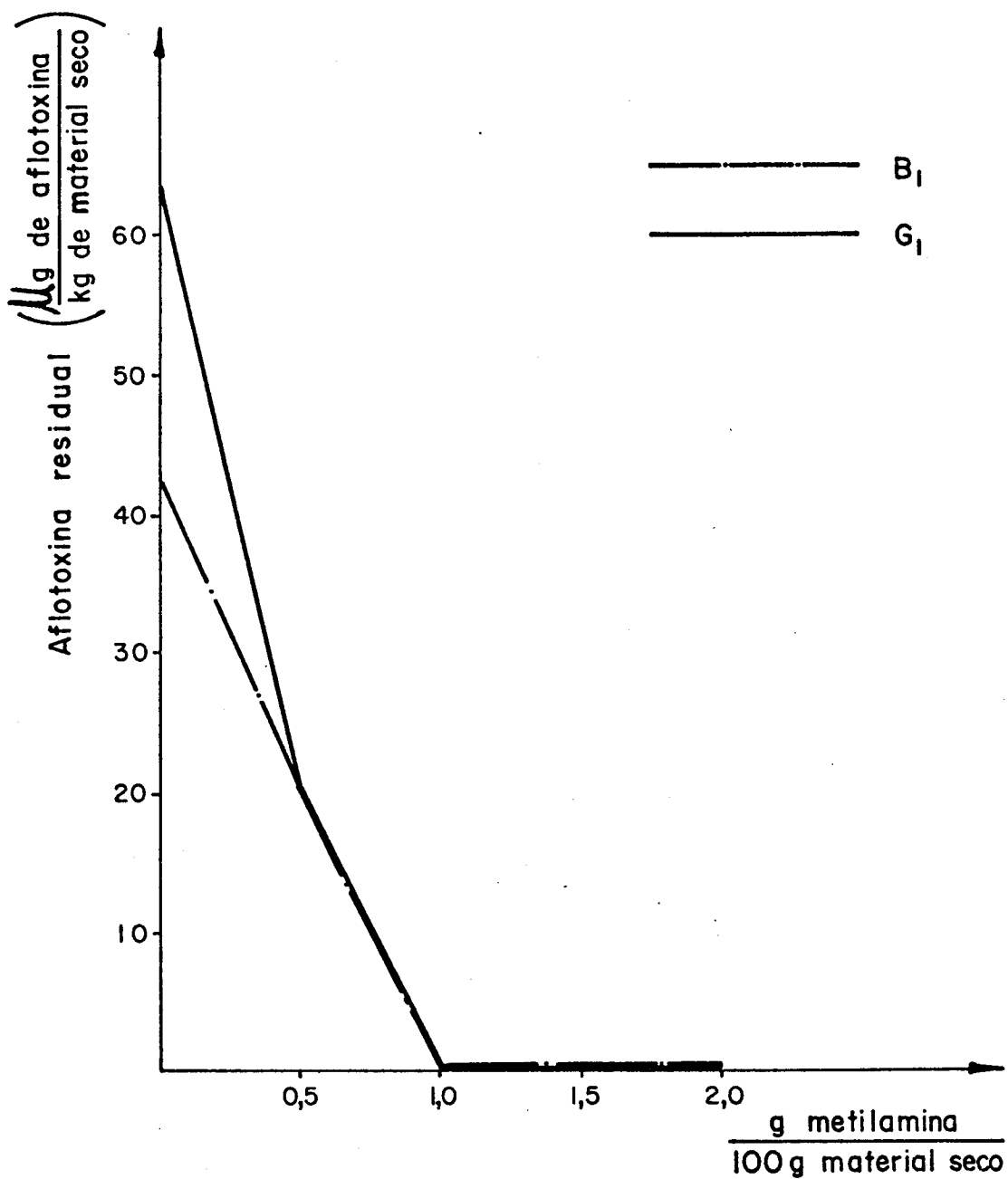


FIGURA 13. Efeito da adição de metilamina a farinha de arroz FBA, no teor residual das aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$ , após extrusão nas condições do Ensaio IV.

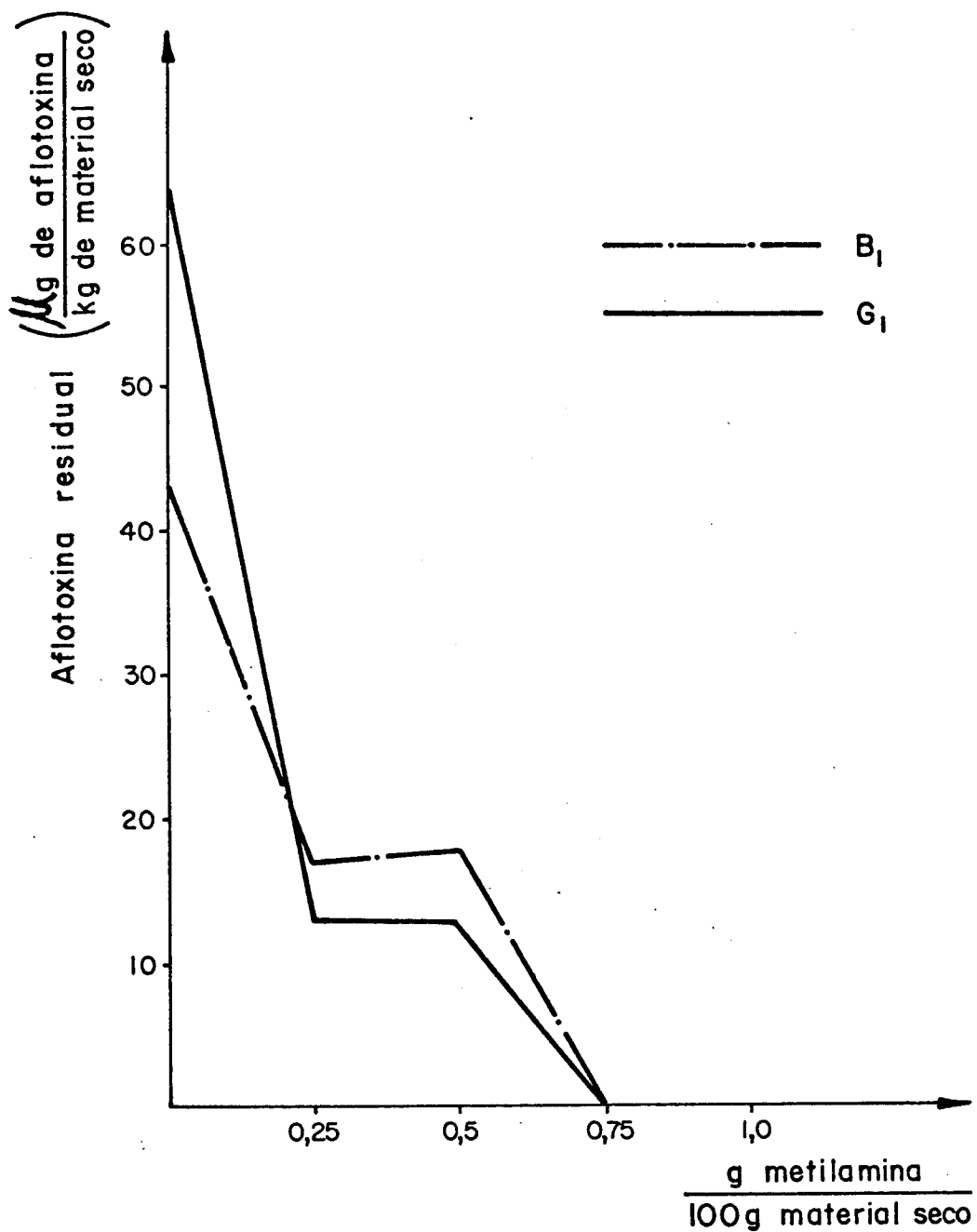


FIGURA 14. Efeito da adiç3o de 1% de am4nia + 0, 0,25, 0,50, 0,75 e 1,0% de metilamina 3 farinha de arroz FBA, no teor residual das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>, ap4s extrus3o nas condiç3es do Ensaio IV.

dos produtos tratados foi grandemente reduzida em relação aos não tratados (23).

O uso de 1% de amônia provocou a degradação de 72 e 83% das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> contidas na farinha de arroz original. Entretanto o uso de 1% de amônia, conjuntamente à 0,5% de metilamina acarretou uma maior redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> (81 e 90%), diminuindo a níveis não detectáveis com 1% de amônia + 0,75% de metilamina.

O efeito do nível de amônia e de metilamina na redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> foi analisado estatisticamente, revelando que o modelo quadrático proporcionou um ajuste adequado.

Os Quadros 22 e 23 mostram, respectivamente a análise de variância dos resultados da redução das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> em relação a adição de amônia e/ou metilamina.

Foram obtidas as seguintes equações de regressão:

para B<sub>1</sub>

$$y = 52,4 + 25,7 x_1 + 61,4 x_2 - 7,04 x_1^2 - 18,8 x_2^2 - 14,7 x_1 x_2$$

para G<sub>1</sub>

$$y = 55,6 + 36,2 x_1 + 63,0 x_2 - 12,9 x_1^2 - 10,6 x_2^2 - 25,7 x_1 x_2$$

onde:

x<sub>1</sub>: nível de amônia

x<sub>2</sub>: nível de metilamina

x<sub>1</sub><sup>2</sup>: nível de amônia elevado ao quadrado

x<sub>2</sub><sup>2</sup>: nível de metilamina elevado ao quadrado

x<sub>1</sub> x<sub>2</sub>: nível de amônia x metilamina



QUADRO 22. Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina B<sub>1</sub> em relação a adição de amônia e/ou metilamina.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Devido a regressão	5	2867,7	573,6	27,1**
Amônia	1	42,7	42,7	2,0
Metilamina	1	2384,9	2384,9	112,6**
Amônia x amônia	1	74,4	74,4	3,5
Metilamina x metilamina	1	288,8	288,8	13,6**
Amônia x metilamina	1	76,9	76,9	3,6
Resíduo	7	148,3	21,2	
Total	12	3016,0		

\*\* Significância à 1%

G.L. - graus de liberdade

S.Q. - soma dos quadrados

Q.M. - quadrado médio

QUADRO 23. Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina G<sub>1</sub> em relação a adição de amônio e/ou metilamina.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Devido a regressão	5	2154,3	430,9	31,6**
Amônia	1	1,6	1,6	0,1
Metilamina	1	1619,8	1619,8	118,9**
Amônia x amônia	1	106,3	106,3	7,8*
Metilamina x metilamina	1	193,2	193,2	14,2**
Amônia x metilamina	1	233,5	233,5	17,1**
Resíduo	7	95,4	13,6	
Total	12	2249,7		

\*\* Sigificância à 1%

\* Significância à 5%

G.L. - graus de liberdade

S.Q. - soma dos quadrados

Q.M. - quadrado médio

Para a redução de  $B_1$  e de  $G_1$ , os coeficientes de determinação foram de 95,1 e 92,7%, respectivamente.

Os resultados da análise de variância mostraram que a redução da aflatoxina  $B_1$  sofreu os efeitos altamente significativos do nível de metilamina e do nível de metilamina ao quadrado, enquanto que a influência dos níveis de amônia foi não significativa.

Entretanto, no caso da redução da aflatoxina  $G_1$ , a influência de todas as variáveis estudadas foi altamente significativa exceto o nível de amônia que foi não significativo e o termo amônia x amônia que teve significância a 5%.

O uso de 2% de hidróxido de amônia na farinha de arroz FBA nas condições do Ensaio IV, não acarretou a degradação total das aflatoxinas, porém foi obtido cerca de 80% de redução das toxinas. Entretanto, usando o extrusor Brabender, com torta de amendoim altamente intoxicada, THIESEN (79) obteve grau de detoxificação de apenas 12%, operando à 150 rpm, taxa de compressão de 1:2, umidade de 20% e temperaturas de extrusão de 120 e 140°C.

Por outro lado os recentes resultados obtidos por GRÉHAIGNE (38), usando extrusor de rosca dupla mostraram que o tratamento do farelo de amendoim contendo 200 ppb de aflatoxina  $B_1$  com 2% de amônia a 20% de umidade inicial e a temperatura de 175°C resultou em 81% de redução da aflatoxina  $B_1$ . A mesma degradação foi obtida no presente trabalho, quando foi adicionado 2% de amônia à farinha de arroz contendo 90 ppb de aflatoxi-

na B<sub>1</sub> e submetida a extrusão à 22% de umidade, 130 rpm e a temperatura de 150°C.

Os tratamentos do Ensaio IV, usando amônia e/ou metilamina acarretaram o aumento dos valores do pH da farinha, os quais foram determinados antes e após o processo de extrusão, e estão apresentados no Quadro 24.

Os valores do pH da farinha com metilamina antes e depois da extrusão foram superiores àqueles obtidos com amônia, comparando-se nas mesmas porcentagens de adição. Em todos os tratamentos foi observado que o pH, após a extrusão, foi inferior ao inicial, notadamente nos tratamentos com amônia, devido à sua maior volatilização na saída do extrusor e na posterior secagem dos produtos em estufa.

Foram encontrados valores de pH superiores a 10 nas farinhas tratadas com 1,5 e 2,0% de metilamina e com 1,0% de amônia + 1,0% de metilamina. Foi observado também que a redução de B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> a níveis não detectáveis, após extrusão, foi obtida apenas nos tratamentos onde o pH inicial da farinha foi superior a 9,5. Esses resultados foram explicados pela abertura do anel lactona, que ocorre quando o pH do produto se encontra na faixa de 9,5 à 10, seguido por reações irreversíveis que levaram a degradação da aflatoxina a níveis não detectáveis, pela cromatografia de camada delgada.

Os Quadros 25 e 26 mostram as análises de variância dos dados obtidos da redução de B<sub>1</sub> e de G<sub>1</sub> em função do pH antes da extrusão.

QUADRO 24. Efeito do tratamento da farinha de arroz FBA com amônia e/ou metilamina no pH da farinha antes e depois da extrusão<sup>1</sup>.

Tratamento	Amônia (%)	Metilamina (%)	pH	
			Antes extrusão	Depois extrusão
0	0	0	5,9	6,3
1	0,5	0	8,6	7,7
2	1,0	0	8,9	7,8
3	1,5	0	9,3	8,0
4	2,0	0	9,5	8,0
5	0	0,5	8,9	8,3
6	0	1,0	9,7	8,8
7	0	1,5	10,3	9,1
8	0	2,0	10,2	9,1
9	1,0	0,25	9,4	8,1
10	1,0	0,50	9,2	8,4
11	1,0	0,75	9,8	8,5
12	1,0	1,0	10,3	8,7

<sup>1</sup> Condições de extrusão estabelecidas no Ensaio IV.

QUADRO 25. Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina B<sub>1</sub> em função do pH antes da extrusão.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Regressão	1	2325,7	2325,7	37,0**
Resíduo	11	690,3	62,8	
Total	12	3016,0		

QUADRO 26. Análise de variância dos resultados da redução da aflatoxina G<sub>1</sub> em função do pH antes da extrusão.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Regressão	1	2056,9	2056,9	117,3**
Resíduo	11	192,7	17,5	
Total	12	2249,7		

\*\* Significância à 1%

G.L. - graus de liberdade

S.Q. - soma dos quadrados

Q.M. - quadrado médio

Para a redução da aflatoxina B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> em função do pH antes da extrusão foram obtidas as equações I e II, respectivamente.

equação I

$$y = -29,75 + 12,21 x$$

equação II

$$y = -18,19 + 11,49 x$$

Os coeficientes de determinação foram de 87,81% e 91,43%, respectivamente, para a redução de B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> em função do pH antes da extrusão.

Foram também altamente significativos ( $\alpha = 0,001$ ) as correlações entre os valores do pH antes e depois da extrusão ( $R^2 = 88,91\%$ ), assim como entre as porcentagens de redução da aflatoxina B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> ( $R^2 = 92,62\%$ ).

Os resultados indicaram que as reduções das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> sofreram os efeitos altamente significativos do pH da farinha antes da extrusão. Isso indicou a possibilidade de que a adição de outras bases, além da amônia e da metilamina, a farinhas contaminadas, pudessem também ser efetivas na degradação das aflatoxinas quando submetidas a extrusão.

## b - Características viscoamilográficas das farinhas extrudadas

Entre as características viscoamilográficas das farinhas extrudadas foram considerados os seguintes parâmetros: viscosidade inicial, viscosidade a quente e viscosidade a frio.

O efeito da adição de amônia e/ou metilamina a farinha de arroz extrudada nos parâmetros amilográficos, nas condições do Ensaio IV, está apresentado no Quadro 27. Para melhor compreensão das propriedades de pasta são apresentadas na Figura 15, os viscoamilogramas dos vários tratamentos.

Foi observado que a adição de níveis crescentes de amônia à farinha provocou um aumento progressivo na viscosidade inicial na farinha extrudada, que cresceu de 280 U.A. no tratamento sem amônia para 500 U.A. no tratamento com 2% de amônia. Entretanto, essa tendência de maior viscosidade inicial em função do maior nível usado não foi observada nos tratamentos com metilamina e com amônia + metilamina. Na grande maioria dos tratamentos o uso de metilamina e de amônia + metilamina acarretou o aumento da viscosidade inicial em relação ao tratamento sem adição das bases.

Comportamentos semelhantes foram observados para as viscosidades a quente e a frio, cujos valores aumentaram de 60 e 80 U.A. no tratamento sem amônia para 140 e 120 U.A., respectivamente, nos tratamentos com 2% de amônia. É provável que o



QUADRO 27. Efeito do tratamento da farinha de arroz com amônia e/ou metilamina nas características viscoamilográficas do produto extrudado<sup>1</sup>.

Tratamento	Amônia (%)	Metil- amina (%)	Viscosidade (U.A.)		
			Inicial	Quente	Frio
0	-	-	280	60	80
1	0,5	-	330	100	80
2	1,0	-	390	120	100
3	1,5	-	440	140	120
4	2,0	-	500	140	120
5	-	0,5	340	100	100
6	-	1,0	340	100	120
7	-	1,5	430	130	120
8	-	2,0	370	120	140
9	1,0	0,25	320	120	120
10	1,0	0,50	320	130	130
11	1,0	0,75	280	140	120
12	1,0	1,0	250	130	150

<sup>1</sup> Condições de extrusão estabelecidas no Ensaio IV.

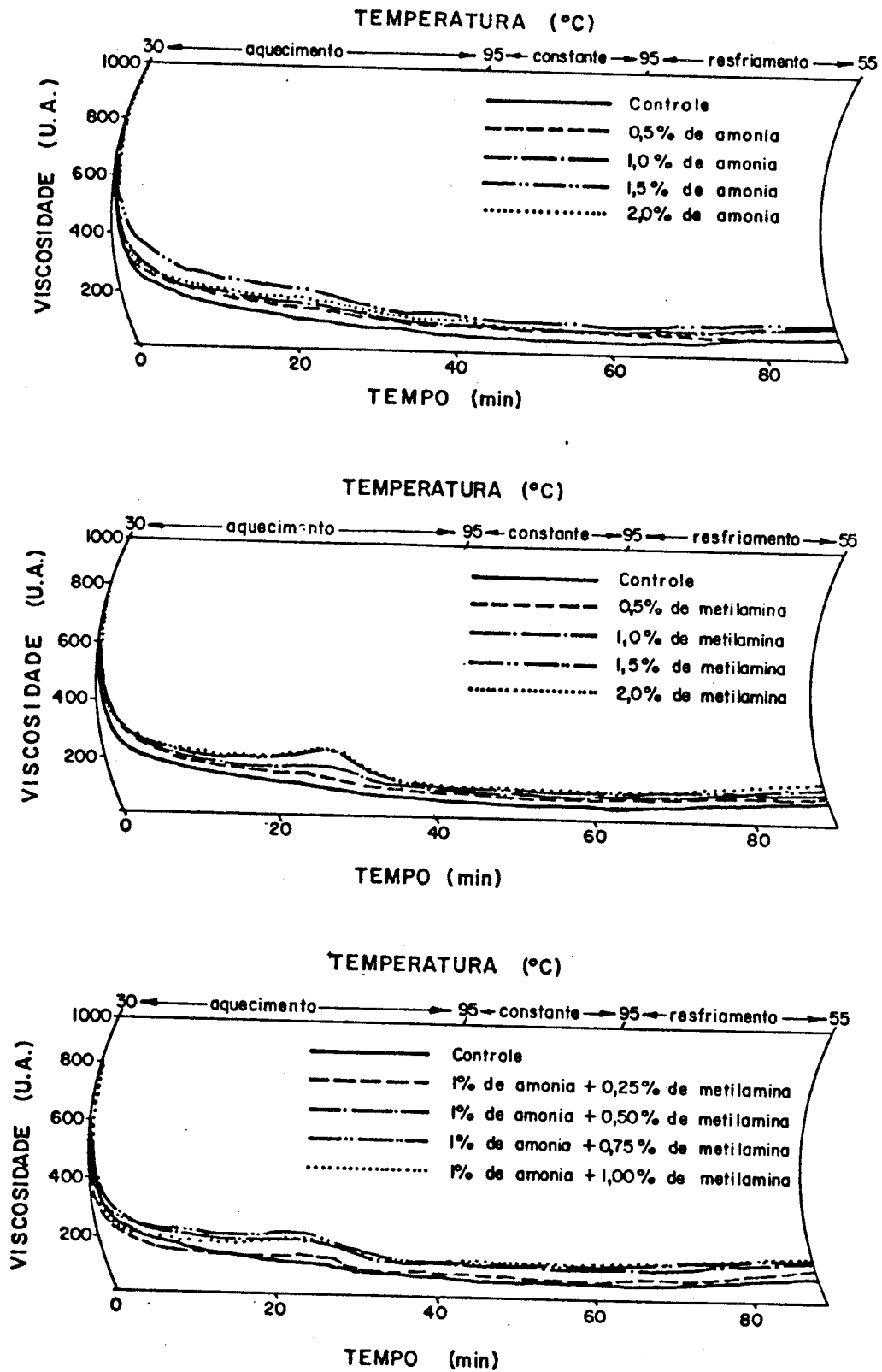


FIGURA 15. Efeito da adição de amônia e/ou metilamina nas propriedades viscoamilográficas da farinha de arroz extrudadas nas condições do Ensaio IV.

aumento do pH através da adição crescente de amônia tenha contribuído para a destruição das pontes de hidrogênio que mantém a estrutura do grânulo de amido, provocando assim o aumento das viscosidades.

A extrusão com o uso de metilamina provocou o anarecimento, nos viscoamilogramas, de um pico de viscosidade na fase de aquecimento da pasta, notadamente nas concentrações de 1,5 e 2,0%. A presença de um pico nos viscoamilogramas indica o entumescimento de grânulos de amido durante o aquecimento da pasta no viscoamilógrafo (66). Esses resultados sugeriram que a presença da metilamina impediu a destruição completa dos grânulos de amido durante o processo de extrusão da farinha de arroz. De acordo com MEDCALF e GILLES (54), íons com distribuição assimétrica de carga provocaram, durante a gelatinização, uma maior hidratação das zonas amorfas dos grânulos de amido, o que acarretou um atraso na destruição das áreas cristalinas mantendo desta forma a integridade dos grânulos de amido. Os amilogramas das pastas de produtos extrudados com amônia + metilamina também mostraram a tendência a formação de picos durante o aquecimento no viscoamilógrafo, porém de uma forma menos acentuada, em relação aquelas com metilamina apenas.

c - Índice de Absorção de Água (IAA) e Índice de Solubilidade em Água (ISA) das farinhas extrudadas

O efeito da adição de amônia e/ou metilamina à farinha de arroz, no índice de absorção em água e no índice de solubilidade em água das farinhas extrudadas é apresentado no Quadro 28.

Os valores do IAA e do ISA obtidos na extrusão sem amônia e/ou metilamina (tratamento zero), nas condições do Ensaio IV foram similares àqueles citados por MERCIER e FEILLET (55), usando amido de arroz à umidade inicial de 22% e extrusor de rosca dupla à temperatura de 135°C.

Observou-se que, a adição da amônia e/ou metilamina não afetou praticamente os valores do IAA das farinhas extrudadas. Entretanto, a adição de amônia e/ou metilamina na farinha antes da extrusão provocou uma redução nos valores do ISA, notadamente quando foi usada a metilamina. Esses resultados sugeriram que, no caso do tratamento zero (sem amônia ou metilamina), o amido sofreu maior gelatinização com formação de material solúvel (maior ISA), em relação aos tratamentos com amônia e/ou metilamina, que mantiveram maior integridade do grânulo.

QUADRO 28. Efeito da adição de amônia e/ou metilamina à farinha de arroz (FBA) no Índice de Absorção de Água (IAA) e no Índice de Solubilidade em Água (ISA) dos produtos extrudados nas condições estabelecidas no Ensaio IV.

Tratamento Nº	Amônia (%)	Metil- amina (%)	Índice de Absorção de Água <sup>1</sup>		Índice de Solubili- dade em Água <sup>1</sup>	
				C.V. <sup>2</sup>		C.V. <sup>2</sup>
0	0	0	6,37	3,0	12,07	7,8
1	0,5	0	6,60	1,1	10,63	11,8
2	1,0	0	6,46	3,7	11,00	8,3
3	1,5	0	6,62	8,4	9,33	6,6
4	2,0	0	7,02	3,3	10,25	11,9
5	0	0,5	6,28	4,4	11,27	13,3
6	0	1,0	6,67	2,0	9,60	15,0
7	0	1,5	6,79	2,8	8,67	11,6
8	0	2,0	6,71	1,5	8,80	3,4
9	1,0	0,25	6,61	3,0	9,83	5,6
10	1,0	0,50	6,51	1,3	9,60	4,8
11	1,0	0,75	6,59	3,0	8,93	2,6
12	1,0	1,0	6,71	3,9	9,07	2,6

<sup>1</sup> Média de 3 determinações

<sup>2</sup> Coeficiente de variação

C - Processo de extração do amido. Efeito do processamento de extração do amido de arroz no teor residual das aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> nessa fração

Nesse estudo foi feita a extração alcalina, em laboratório, do amido da farinha de arroz com alto teor de aflatoxina (FAA), usando 0,2% de hidróxido de sódio.

No amido obtido da extração alcalina, após lavagem e secagem, não foram detectadas as aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>. Esse procedimento de extração e de análise foi repetido por mais duas vezes, confirmando o resultado inicial.

No entanto, estudos de laboratório conduzidos por YAHL *et alii* (87), sobre a moagem úmida do milho, mostraram que a fração amilácea resultante apresentou cerca de 1% da aflatoxina contida originalmente no milho. Nesses estudos complementares de YAHL *et alii* (87) sobre o amido proveniente de seis usinas de moagem úmida de milho, não foi detectada a presença da aflatoxina.

Embora vários tratamentos químicos tenham sido propostos a fim de reduzir o conteúdo de aflatoxinas de farinhas e tortas, eles são normalmente usados quando o material intoxicado contém até 500 µg aflatoxina/kg. Os produtos contendo níveis maiores de aflatoxina são, em geral, totalmente perdidos (incinerados e/ou enterrados). Desta forma, a extração do amido dessas farinhas ou de tortas altamente intoxicadas, parece ser uma possibilidade de reaproveitamento do produto, conforme mostraram os resultados obtidos nesse estudo.

## V - CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos pôde-se tirar as seguintes con-  
clusões:

1. A temperatura de extrusão e a umidade inicial da farinha altamente contaminada tiveram influência significativa na redução do teor de aflatoxinas, ao passo que o efeito da rotação da rosca foi não significativo. A correlação entre os valores do torque e da redução das toxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> foi também não significativa.

2. As maiores porcentagens de redução das aflatoxinas na farinha altamente contaminada, foram obtidas nos produtos extrudados à umidade na faixa de 17 à 20%, com temperatura moderada (140-200°C) e à rotação da rosca de 130 rpm. Nessas con-  
dições a degradação foi de 75%.

3. A extrusão de farinha de arroz com contaminação média em aflatoxinas, à temperatura de 150°C e a rotação de 130 rpm acarretou a redução de cerca de 50% das toxinas, usando-se os teores de umidade inicial de 17, 22 ou 27%.

4. A farinha de arroz com alta contaminação teve maior degradação das toxinas (superior à 80%) do que farinhas com média e baixa contaminação (aproximadamente 50%), após extrusão à 150°C, 130 rpm e 22% de umidade inicial.

5. O uso de 1% de metilamina ou de 1% de amônia + 0,75% de metilamina reduziu os teores de aflatoxina nos produ-

tos extrudados a níveis não detectáveis, a partir de farinha de arroz com baixa contaminação.

6. O uso de metilamina na extrusão de farinha de arroz com baixa contaminação foi mais efetiva na degradação das toxinas do que a amônia.

7. Apenas nos tratamentos onde o pH inicial da farinha foi superior a 9,5, não foram detectadas aflatoxinas nos produtos extrudados.

8. As farinhas extrudadas com amônia e/ou metilamina apresentaram maiores valores de viscosidade inicial em relação aos tratamentos sem adição de bases. Os valores da viscosidade a quente e a frio também aumentaram em relação a farinha extrudada sem tratamento.

9. A adição de amônia e/ou metilamina praticamente não afetou os valores do índice de absorção de água, porém provocou a redução dos valores do índice de solubilidade em água, principalmente com o uso de metilamina.

10. Não foram detectadas as aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> no amido obtido da farinha de arroz altamente contaminada, após sua extração alcalina, lavagem e secagem.



## VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN ASSOCIATION OF CEREALS CHEMISTS-AACC. *Approved Methods*. 8<sup>th</sup> ed. St. Paul, Minn., 1976.
2. ANDERSON, R.A.; CONWAY, H.F.; PFEIFER, U.F. & GRIFFIN Jr., E.L. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. *Cereal Science Today*, St. Paul, Minn., 14(1): 4-7, 11-12, 1969.
3. ANDRELLOS, P.J.; BECKWITH, A.C. & EPPLEY, R.M. Photochemical changes of aflatoxin B<sub>1</sub>. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 50(2):346-350, 1967.
4. ASHWORTH, L.J. Jr.; McMEANS, J.L.; PYLE, J.L.; BROWN, C.M.; OSGOOD, J.W. & PONTON, R.E. Aflatoxins in cotton seeds: Influence of weathering on toxin content of seeds and on a method for mechanically sorting seed lots. *Phytopathology*, 58(1):102-107, 1968.
5. AUSTWICK, P.K. & AYERST, G. Ground nut microflora and toxicity. *Chemistry and Industry*, 25(1):55-61, 1963.
6. BAGLEY, E.B. Decontamination of corn containing aflatoxin by treatment with Ammonia. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56(9):808-811, 1979.

7. BLANC, M. Moyens de prevention et de destruction des aflatoxines. Maître ès Science. Ecole Supérieure d'Application des Corps Gras. MASSY-FRANCE, 1981.
8. BREKKE, O.L.; PE PLINSKI, A.J. & GRIFFIN, E.L. Cleaning trials for corn containing aflatoxin. *Cereal Chemistry*, 52(2): 198-204, 1975.
9. BREKKE, O.L.; PE PLINSKI, A.J.; LANCASTER, E.B. Aflatoxin Inactivation in corn by Agua Ammonio. *Transactions of the ASAE*, 20:1160-1168, 1977.
10. BREKKE, O.L.; PE PLINSKI, A.J.; NELSON, G.E.N. & GRIFFIN, E.L. Pilot-Plant dry milling of corn containing aflatoxin. *Cereal Chemistry*, 52(2):205-211, 1975.
11. BREKKE, O.L.; STRINGHELLOW, A.C.; PE PLINSKI, A.J. Aflatoxin Inactivation in corn by Ammonia Gas: Laboratory Trials. *Journal Agricultural of Food Chemistry*, 26(6): 1383-1389, 1978.
12. CAMPBELL, T.C. & STOLOFF, L. Implication of mycotoxins for human health. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 22(6): 1006-1015, 1974.
13. CHANG, K.Y. Efeito de branqueadores e da radiação de microondas na qualidade tecnológica do arroz integral. Campinas, 1982, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola (Tese de Mestrado).

14. CIEGLER, A.; LILLEHOJ, E.B.; PETERSON, R.E. & HALL, H.H. Microbial detoxification of aflatoxin. *Applied Microbiology*, 14(6):934-939, 1966.
15. CIEGLER, A. & PETERSON, R.E. Aflatoxin detoxification: Hydroxy dihydro aflatoxin B<sub>1</sub>. *Applied Microbiology*, 16(4):665-666, 1968.
16. CODIFER, L.P. Jr., MANN, G.E. & DOLLEAR, F.G. Aflatoxin Inactivation: Treatment of peanut meal with formaldehyde and calcium hydroxide. *Journal American Oil Chemical Society*, 53(5):204-209, 1976.
17. CONWAY, H.F.; ANDERSON, R.A. & BAGLEY, E.B. Detoxification of aflatoxin contaminated corn by roasting. *Cereal Chemistry*, 55(1):115-117, 1978.
18. COOMES, T.J.; CROWTHER, P.C.; FEUELL, A.J. & FRANCIS, B.J. Experimental detoxification of ground nut meals containing aflatoxin. *Nature*, 209(5021):406-407, 1966.
19. CUCULLU, A.F.; LEE, L.S.; MAYNE, R.Y. & GOLDBLATT, L.A. Determination of aflatoxins in individual peanuts and peanut sections. *Journal American Oil Chemists Society*, 43(2):89-92, 1966.

20. CUCULLU, A.F.; LEE, L.S.; PONS, W.A. Jr. & STANLEY, J.B. Ammoniation of aflatoxins B<sub>1</sub>: Isolation and characterization of a product with molecular weight 206. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 24(2):408-410, 1976.
21. DETROY, R.W.; LILLE HOJ, E.B. & CIEGLER, A. Aflatoxin and related compounds. In: Microbial toxins vol. VI, edited by Ciegler, A., Kadis, S. and Ajl, S.J., New York, Academic Press, 1971.
22. DICKEN, J.W. & WELTY, R.E. Proc. Mycotoxin Res. Sem. Washington, D.C. 38-41. U.S. Dept. Agr. Washington, D.C., 1967.
23. DOLLEAR, F.G.; MANN, G.E.; CODIFER, L.P.Jr.; GARDNER, H.K. Jr.; KOTTUN, S.P. & VIX, H.L.E. Elimination of aflatoxins from peanut meal. *Journal American Oil Chemists Society*, 45(12):862-865, 1968.
24. DUTTON, M.F. & HEATHCOTE, J.G. Two new hydroxy aflatoxins. *Biochemical Journal*, 101(2):21P-22P, 1966.
25. DWARAKANATH, C.T.; RAYNER, E.T.; MANN, G.E. & DOLLEAR, F.G. Reduction of aflatoxin levels in cottonseed and peanut meals by ozonization. *Journal American Oil Chemistry Society*, 45(2):93-95, 1968.

26. EFRON, B. "Bootstrap" methods: another look at the jackknife. *Ann. Stat.*, 7(1):1-26, 1979.
27. EL-DASH, A.A. Application and control of thermoplastic extrusion of cereals for food and industrial uses. In: *Cereal: a renewable resource theory and practice*. Y. Pomeranz and L. Munch, eds. American Association of Cereal Chemists, Minn., St. Paul, USA, 728p., 1982.
28. ESCHER, F.E.; KOEHLER, P.E. & AYRES, J.C. Effect of roasting on aflatoxin content of artificially contaminated pecans. *Journal of Food Science*, 38(5):889-892, 1973.
29. FEUELL, A.J. Aflatoxins in groundnuts. Problems of detoxification. *Tropical Science*, 8(2):61-70, 1966.
30. FISCHBACH, H. & CAMPBELL, A.D. Note on detoxification of the aflatoxins. *Journal Association Agricultural Chemists*, 48(1):28, 1965.
31. FONSECA, H. Aflatoxina em amendoim. Documento Técnico 46. Governo de São Paulo - Secretaria de Agricultura e Abastecimento - Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 1983.
32. FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Anuário Estatístico do Brasil-1983. Rio de Janeiro, Se-

cretaria de Planejamento da Presidência da República,  
Volume 43, 1984.

33. GARDNER, H.K. Jr.; KOLTUN, S.P.; DOLLEAR, F.G. & RAYNER, E. T. Inactivation of aflatoxins in peanut and cottonseed meals by ammoniation. *Journal American Oil Chemists Society*, 48(2):70-73, 1971.
34. GARDNER, H.K. Jr.; KOLTUN, S.P. & VIX, H.L.E. Solvent extraction of aflatoxins from oil seed meals. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 16(6):990-993, 1968.
35. GIDDEY, C.; BRANDT, J. & BUNTER, G. The detoxification of oilseed cakes polluted by aflatoxins. Research and development of an industrial process. *Ann. Technol. Agri.*, 27(3):331-338, 1977.
36. GOLDBLATT, L.A. Control and removal of aflatoxin. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 48(11):605-610, 1971.
37. GORELOVA, E.E. & LVOVA, L.S. Methods of detoxification of foodstuffs contaminated with aflatoxins. Moscow, s.d., 23p. (mimeogr.).
38. GRÉHAIGNE, B.; CHOWEL, H.; PINA, M.; GRAILLE, J. & CHEFTEL, J.C. Extrusion - cooking of aflatoxin - containing pea-

- nut meal with and without addition of ammonium hydroxide. *Lebens - Wiss. u. Technol.*, 16(6):317-322, 1983.
39. JONES, B.D. Methods of aflatoxin analysis. *Tropical Products Institute* 56/62. Gray's Inn Road London WC1 x 8LU, 1972.
40. JUCÁ, M.B. Modificações das características de gelatinização da farinha de quirera de arroz por sais e concentração hidrogeniônica. Tese de mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1981.
41. JULIANO, B.O. The rice caryopsis and its composition. In: Rice - Chemistry and Technology vol IV, St. Paul, Minn. Houston P.F., 1972.
42. KOLTUN, S.P.; RAYNER, E.T.; WADSWORTH, J.I. & GARDNER, H.K. Jr. Inactivation of aflatoxins in cottonseed meal by ammoniation: I. Reaction Studies. *Journal American Oil Chemists Society*, 56(9):803-807, 1979.
43. LEE, L.S. Aflatoxin contamination. Electron-microscopic evidence of mold penetration. *Journal American Oil Chemists Society*, 44(5):331-332, 1967.

44. LEE, L.S.; CONKERTON, E.J.; ORY, R.L. & BENNETT, J.W. (<sup>14</sup>C) Aflatoxin B<sub>1</sub> as an indicator of toxin destruction during ammoniation of contaminated peanut meal. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 27(3):598-602, 1979.
45. LEE, L.S. & CUCULLU, A.F. Conversion of aflatoxin B<sub>1</sub> to aflatoxin D<sub>1</sub> in ammoniated peanut and cottonseed meal. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 24(4):881-884, 1978.
46. LEE, L.S.; CUCULLU, A.F.; FRANZ, A.O. & PONS, W.A. Jr. Destruction of aflatoxins in peanut during dry and oil roasting. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 17(3):451-543, 1969.
47. LEE, L.S.; CUCULLU, A.F. & GOLDBLATT, L.A. Appearance and aflatoxin content of raw and dry roasted peanut kernels. *Food Technology*, 22(9):81-84, 1968.
48. LEE, L.S.; STANLEY, J.B.; CUCULLU, A.F. & PONS, W.A. Jr. Ammoniation of aflatoxin B<sub>1</sub>: Isolation and identification of the major reaction product. *Journal Association Official Analytical Chemistry*, 57(3):626-631, 1974.
49. LORENZ, K. & JANSEN, G.R. Nutrient stability of full - fat soy flour and corn - soy blends produced by low - cost extrusion. *Cereal Food World*, 25(4):161, 162, 171, 1980.



50. LUTER, L.; WYSLOUZIL, W. & KASHYAP, S.C. The destruction of aflatoxin in peanuts by microwave roasting. *Canadian Institute Food Science Technology Journal*, 15(3):236-238, 1982.
51. MANN, G.E.; CODIFER, L.P. Jr. & DOLLEAR, F.G. Effect of heat on aflatoxins in oil seed meals. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 15(6):1090-1092, 1957.
52. MANN, G.E.; GARDNER, H.K. Jr.; BOOTH, A.N. & GYMBANANN, M.R. Aflatoxin Inactivation: Chemical and Biological properties of ammonia and methylamine treated cottonseed meal. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 19(6):1155-1158, 1971.
53. MARTH, E.H. & DOYLE, M.P. Up date on molds: Degradation of aflatoxin. *Food Technology*, (1):81-87, 1979.
54. MEDCALF, D.G. & GILLES, K.A. Effect of a lyotropic ion series on the pasting characteristics of wheat and corn starches. *Die Stärke*, (4):101-104, 1966.
55. MERCIER, C. & FEILLET, P. Modification of carbohydrate by extrusion - cooking of cereal products. *Cereal Chemistry*, 52(3):283-297, 1975.

56. MUSTAKAS, G.C.; ALBRECHT, W.J.; BOOKWALTER, G.N.; Mc CHEE, J.E.; KWOLEK, W.F. & GRIFFIN, E.L. Extruder - processing to improve nutritional quality, flavor, and keeping quality of full - fat soy flour. *Food Technology*, 24(11): 102-108, 1970.
57. MUSTAKAS, G.C.; GRIFFIN, E.L.; ALLEN, L.E. & SMITH, O.B. Production and Nutritional Avaliation. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 41(9):607-614, 1964.
58. NATARAJAN, L.R.; RHEE, K.C.; CATER, C.M. & MATTIL, K.F. Destruction of aflatoxin in peanut protein isolates by sodium hypochloride. *Journal American Oil Chemistry Society*, 52(5):160-163, 1975.
59. NETO, A.C. Bootstrap e Regressão, Uma Opção aos Mínimos Quadrados Generalizados. Campinas, 1985, Departamento de Estatística, UNICAMP (Tese de Mestrado).
60. PARK, D.F.; JEMALI, M.; FRAYSSNET, C.; LAFAIGE, F.C. & YUON, M. Decontamination of aflatoxin - contaminated peanut meal using mono methilamina:  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . *Journal of American Oil Chemists Society*, 58(12):995A-1002A, 1981.
61. PARKER, W.A. & MELNICK, D. Absence of aflatoxin from refined vegetable oils. *Journal American Oil Chemists Society*, 46(11):635-638, 1966.

62. POHLAND, A.; CUSHMAC, M. & ANDRELLOS, P. Aflatoxin B<sub>1</sub> hemiacetal. *Journal Association Official Analytical Chemists*, 51(4):907-910, 1968.
63. POMERANZ, Y. Formation of toxic compounds in storage - damage foods and feedstuffs. *Cereal Science Today*, 9(4): 93-96, 1964.
64. PONS, W.A. Jr.; CUCULLU, A.F.; LEE, L.S.; JANSEN, H.J. & GOLDBLATT, L.A. Kinetic study of acid - catalyzed conversion of aflatoxins B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> to B<sub>2a</sub> and G<sub>2a</sub>. *Journal American Oil Chemists Society*, 49(2):124-128, 1972.
65. PONS, W.A. Jr. & EAVES, P. Aqueous acetone extraction of cottonseed. *Journal American Oil Chemists Society*, 44(7):460-464, 1967.
66. RASPER, W. Theoretical aspects of amylograph In: SHUEY, W.C. & TIPPLES, K.H., eds. "The amylograph handbook". St. Paul, AACC/1982, C 1980/ p.4, cap. 1.
67. RAYNER, E.T.; DOLLEAR, F.G. & CODIFER, L. Extraction of aflatoxins from cottonseed and peanut meals with ethanol. *Journal American Oil Chemists Society*, 47(1):26, 1970.

68. RAYNER, E.T. & DOLLEAR, F.G. Removal of aflatoxins from oilseed meals by extraction with aqueous isopropanol. *Journal American Oil Chemists Society*, 45(9):622-624, 1968.
69. REHANA, F.; BASAPA, S.C. & SREENIVASA, V. Destruction of aflatoxin in rice by different cooking methods. *Journal of Food Science and Technology*, 16(3):111-112, 1979.
70. ROBERTSON, J.A. Jr.; LEE, L.S.; CUCULLU, A.F. & GOLDBLATT, L.A. Assay of aflatoxin in peanuts and peanut products using acetone-hexane-water for extraction. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 42(6):467-471, 1965.
71. ROSSEN, J.L. & MILLER, R.C. Food Extrusion. *Food Technology*, 27(8):46-53, 1973.
72. SANDERUDE, K.G. & ZIEMBRA, J.V. New products come easy with extrusion cooking. *Food Engineering*, 9(8):84-87, 1968.
73. SCHROEDER, H.W. & ASHWORTH, L.J. Aflatoxins in Spanish peanuts in relation to pod and kernel condition. *Phytopathology*, 55(4):464-465, 1965.

74. SCHOROEDER, H.W.; BOLLEAR, R.A. & HEIN, H.J. Reduction of aflatoxin contamination of rice by milling procedures. *Cereal Chemistry*, 45(6):574-580, 1968.
75. SILVA, M.S. Aproveitamento da quirera de arroz na produção de farinhas pré-gelatinizadas e seu uso na formulação de alimentos infantis. Campinas, 1984, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola (Tese de Mestrado).
76. SMITH, D.B. Advantages and future trends of food extrusion in. Proceeding of IFST Symposium, March, 1979.
77. SREENIVASAMURTHY, V.; JAYARAMAN, A. & PARPIA, H. Aflatoxin in Indian peanuts. Analysis and extraction. In: "Micotoxins in Foodstuffs", edited by G.N. Wogan, Man. Inst. of Technol. Press, 251-260, 1965.
78. SREENIVASAMURTHY, V.; PARPIA, H.A.B.; SRIKANTA, S. & SHANKAR MURTE, R. Detoxification of aflatoxin in peanut meal by hydrogen peroxide. *Journal Association Official Agricultural Chemists*, 50(2):350-354, 1967.
79. THIESEN, J. Detoxification of aflatoxins in groundnut meal. *Animal Feed Science Technology*, 2:67-75, 1977.

80. TRAGER, W. & STOLOFF, L. Possible reaction for aflatoxin detoxification. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 15(4):679-681, 1967.
81. TUNG, T.C. & LING, K.H. Study on aflatoxin of food stuffs in Taiwan. In: Detoxification of aflatoxins in groundnut meal. *Animal Feed Science Technology*, 2:67-75, 1977.
82. VAN DE KRAMER, J.H. & VAN GIN KEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. *Cereal Chemistry*, 29(4):239-251, 1952.
83. VORSTER, J. Études sur la detoxification des arachides contaminées par l'aflatoxine et destinées à l'huilerie. *Revue Française des Corps Gras*, 13:7-12, 1966.
84. WALKING, A.E. Fate of aflatoxin during roasting and storage of contaminated peanut products. *Journal Association Official Analytical Chemistry*, 54(3):533-539, 1971.
85. WEI, R. & CHU, F. Aflatoxin - solvent interactions induced by ultraviolet light. *Journal Association Official Analytical Chemists*, 56(6):1425-1430, 1973.
86. WOGAN, G. Aflatoxin risks and control measures. *Federation Proceedings*, 27( 8):932-938, 1968.

87. YAHL, K.R.; WATSON, S.A.; SMITH, R.J. & BARABOLOK, R. Laboratory wet-milling of corn containing high levels of aflatoxin and a survey of commercial wet-milling products. *Cereal Chemistry*, 48(4):385-391, 1971.