

AS MICOTOXINAS

As micotoxinas são compostos químicos venenosos produzidos por certos fungos. Há muitos desses compostos, mas apenas alguns deles são regularmente encontrados em alimentos e rações animais, como grãos e sementes. Entretanto, aqueles que realmente são encontrados em alimentos têm grande importância para a saúde do ser humano. As informações sobre micotoxinas relacionadas com alimentos são ainda muito incompletas, mas há conhecimento bastante para identificá-las como um problema grave em muitas partes do mundo.

INTRODUÇÃO

Um grande número de fungos produz substâncias tóxicas conhecidas como micotoxinas. Algumas dessas substâncias possuem capacidade mutagênica e carcinogênica, enquanto outras apresentam toxicidade específica a um órgão ou são tóxicas por outros mecanismos.

Mesmo que a verdadeira toxicidade de muitas micotoxinas ainda não tenha sido demonstrada para humanos, o efeito desses compostos em animais de laboratório e em ensaios *in vitro* deixa poucas dúvidas a respeito de sua toxicidade potencial. No mínimo, 14 micotoxinas são carcinogênicas, sendo as aflatoxinas as mais potentes. Como regra, aceita-se que 93% dos compostos mutagênicos são carcinogênicos. Com as micotoxinas, ensaios microbiológicos revelaram um nível de 85% de correlação entre carcinogenicidade e mutagenicidade.

As micotoxinas são produzidas como metabólitos secundários. Os metabó-



litos primários dos fungos, como os de outros organismos, são aqueles essenciais ao crescimento. Já os secundários são formados durante o final da fase exponencial de crescimento e não possuem significância aparente para o crescimento ou metabolismo do organismo produtor. Em geral, esses metabólitos são formados quando grandes quantidades de precursores de metabólitos primários, tais como aminoácidos, acetato, piruvato e outros, são acumulados.

A síntese de micotoxinas representa uma maneira dos fungos reduzirem a quantidade de precursores, os quais não são requeridos para o metabolismo.

A história das micotoxinas começou em 1960, quando um surto de mortes inexplicáveis de aves no Reino Unido (especialmente perus) foi investigado. O surto ficou mundialmente conhecido como *turkey X disease*. Chegou-se à conclusão que o problema estava na ração, que havia sido feita com amendoim con-

taminado com uma substância fluorescente produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*. Da expressão inglesa *A. flavus toxin* derivou a palavra aflatoxina. Hoje se sabe que não existe uma aflatoxina, mas pelo menos 17 compostos tóxicos, dentre os quais os mais importantes são as aflatoxinas B₁, G₁, B₂ e G₂. E destas, a aflatoxina B₁ (AFB₁) é considerada o agente natural mais carcinogênico que se conhece. Por conta disso e pela prevalência deste fungo (e de outras espécies produtoras), é a mais importante micotoxina no Brasil.

A partir de 1962, quando se estabeleceu as causas do surto, pesquisas subsequentes encontraram outros fungos produtores de substâncias tóxicas diferentes. Uma visão geral das mais importantes micotoxinas pode ser vista na Tabela 1.

Os piores efeitos das micotoxinas no homem tendem a ser os crônicos, de difícil associação com o consumo de alimentos contaminados. Os principais efeitos registrados são indução de câncer, lesão renal e depressão do sistema imune.

O homem pode ser contaminado por micotoxinas através do consumo de alimentos processados ou *in natura*. Também pode ingerir carne de animais alimentados com ração contaminada, pois a toxina pode ser transmitida pelo corpo do animal através de sua carne, leite ou ovos. Alguns alimentos com contaminação potencial, como o milho, podem ter seus produtos derivados, como o óleo refinado, isento da toxina, pois há a destruição da mesma no processo de transformação do produto.

A legislação brasileira, através da resolução RDC N° 274, do Ministério da Saúde, datada de 15/10/2002, dispõe que alguns alimentos para o consumo humano, como o amendoim, o milho em grão e o leite, podem ter uma concentração máxima de 0,5ng, enquanto

TABELA 1 - PRINCIPAIS MICOTOXINAS COM SEUS RESPECTIVOS FUNGOS PRODUTORES, SUBSTRATOS E EFEITOS NO HOMEM E NOS ANIMAIS			
Principais substratos	Principais fungos produtores	Principal toxina	Efeitos
Amendoim, milho	<i>Aspergillus flavus</i> e <i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxina B1	Hepatotóxica, nefrotóxica, carcinogênica
Trigo, aveia, cevada, milho e arroz	<i>Penicillium citrinum</i>	Citrinina	Nefrotóxica para suínos
Centeio e grãos em geral	<i>Claviceps purpurea</i>	Ergotamina	Gangrena de extremidades ou convulsões
Milho	<i>Fusarium verticillioides</i>	Fumonisinias	Câncer de esôfago
Cevada, café, vinho	<i>Aspergillus ochraceus</i> e <i>Aspergillus carbonarius</i>	Ocratoxina	Hepatotóxica, nefrotóxica, carcinogênica
Frutas e sucos de frutas	<i>Penicillium expansum</i> e <i>Penicillium griseofulvum</i>	Patulina	Toxicidade vagamente estabelecida
Milho, cevada, aveia, trigo, centeio	<i>Fusarium</i> sp <i>Myrothecium</i> sp <i>Stachybotrys</i> sp <i>Trichothecium</i> sp	Tricotecenos: T2, neosolaniol, fusanona x, nivalenol, deoxivalenol	Hemorragias, vômitos, dermatites
Cereais	<i>Fusarium graminearum</i>	Zearalenona	Baixa toxicidade; síndrome de masculinização e feminização em suínos

que a União Européia permite teores de aflatoxina mais restritos para alguns alimentos comuns à nossa legislação, variando de 2 a 5ng/kg. Já a Instrução Normativa n°13 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) de 27/05/2004, dispõe que se houver algum lote de mercadoria devolvida por importadores, ou por resultado de inspeção ou fiscalização, este poderá ser liberado para o consumo humano ou animal se o resultado da primeira análise for igual ou menor que o limite de 30 e 50 ng/kg.

AS PRINCIPAIS MICOTOXINAS

Existe um grande número de fungos capazes de produzir toxinas. Na literatura são descritas mais de 400 tipos de micotoxinas.

As micotoxinas são diferentes quimicamente, com representantes em várias famílias e com um peso molecular que varia de 200 a 500 kD. Existem centenas de micotoxinas conhecidas, mas poucas foram extensivamente estudadas.

A seguir são descritos as principais micotoxinas relacionadas à alimentos.

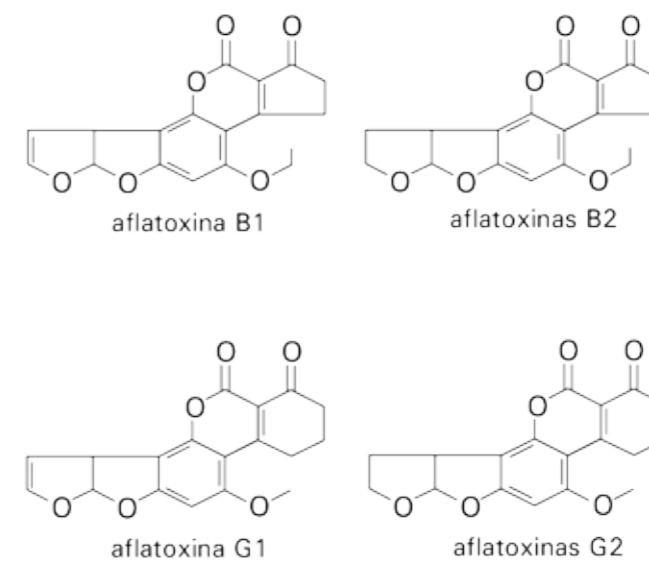
Aflatoxina

As aflatoxinas são as micotoxinas mais amplamente estudadas. São conhecidas desde 1960, quando mais de 100 mil perus morreram na Inglaterra após ingerirem ração contendo amen-

doim importado da África e da América do Sul. A partir da ração que causou a morte dos animais, foram isolados *Aspergillus flavus* e uma toxina produzida por esse fungo, a qual foi designada aflatoxina (toxina do *Aspergillus flavus* - Aflatoxina). Estudos sobre a natureza dessas substâncias tóxicas revelaram quatro componentes, os quais são apresentados na Figura 1.

Posteriormente, também foi verificado que *A. parasiticus*, *A. nomius* e outras espécies de *Aspergillus* produzem aflatoxinas. Quimicamente, as aflatoxinas são cumarinas altamente substituídas e, no mínimo, 18 toxinas intimamente relacionadas são conheci-

FIGURA 1 - ESTRUTURA DAS AFLATOXINAS



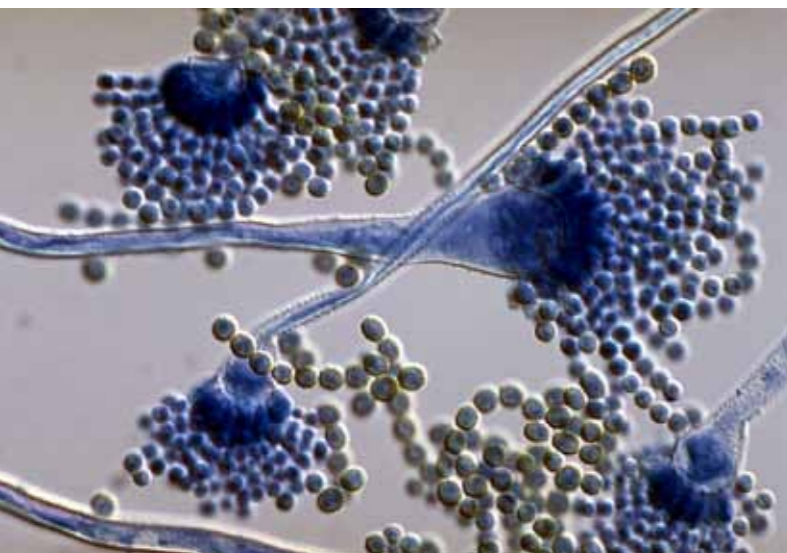
das. A aflatoxina B₁ (AFB₁) é produzida por todas as linhagens produtoras de aflatoxinas, sendo a micotoxina mais potente dentro desse grupo. A AFM₁ é um produto hidroxilado da AFB₁, e aparece no leite, urina e fezes de animais como um produto metabólico. Outros derivados da AFB₁ são a AFL, AFLH₁, AFQ₁ e AFP₁. A AFB₂ é a forma 2,3-dihidro da AFB₁, enquanto que a AFG₂ é a forma 2,3-dihidro da AFG₁. A toxicidade das seis aflatoxinas mais potentes decresce na seguinte ordem: B₁ > M₁ > G₁ > B₂ > M₂ ≠ G₂. Quando observadas sob luz ultravioleta (UV), as micotoxinas B₁ e B₂ fluorescem na cor azul, as micotoxinas G₁ e G₂ na cor verde e verde-azulada, respectivamente, e as micotoxinas M₁ e M₂ na coloração azul-violeta e violeta, respectivamente.

As micotoxinas são metabólitos secundários poliquetídicos, cuja estrutura carbônica é proveniente do acetato e do malonato. A rota metabólica parcial proposta para a síntese de AFB₁ é: acetato > ácido norsolorínico > averantina > averufanina > averufina > versiconal hemiacetal acetato > versicolorina A > esterigmatocistina > O-metilesterigmatocistina > AFB₁. O composto versicolorina A é o primeiro na rota que contém a dupla ligação essencial C₂-C₃.

De modo geral, os parâmetros mínimos e máximos que controlam o crescimento fúngico e a produção de micotoxinas não são fáceis de definir. Esse fato ocorre, em parte, devido à diversidade de ambientes que os fungos habitam na natureza e, também, por serem organismos eucarióticos propriamente ditos. Assim, fica claro que o crescimento pode ocorrer sem a produção de toxina.

A AFG₁ é produzida em temperaturas mais baixas de crescimento do que a AFB₁. Alguns pesquisadores têm encontrado

A AFG₁ é produzida em temperaturas mais baixas de crescimento do que a AFB₁. Alguns pesquisadores têm encontrado



Aflatoxina

maior produção de AFB₁ do que AFG₁ em temperaturas próximas a 30°C, enquanto outros têm observado produções equivalentes. Com relação a *A. flavus* e *A. parasiticus*, o primeiro geralmente produz somente AFB e AFG.

A aeração favorece a produção de aflatoxinas, e a quantidade de 2mg/g pode ser produzida em substratos naturais, como arroz, milho, soja e outros semelhantes. Em meios de cultura em caldo contendo níveis apropriados de Zn²⁺, podem ser produzidos até 200 ou 300mg/L de toxina.

Em alimentos, as aflatoxinas tem sido encontradas em carne fresca, presunto e bacon, inoculados com culturas toxigênicas e estocados a 15°C, 20°C e 30°C.

As aflatoxinas também têm sido encontradas em uma ampla variedade de alimentos, incluindo leite, cerveja, chocolate, uva passa, produtos à base de soja, entre outros. Em linguiças fermentadas a 25°C, observou-se a produção de 160ppm e 426ppm de AFG, em um período de 10 e 18 dias, respectivamente, sendo a produção de AFG₁ dez vezes superior a de AFB₁. As aflatoxinas têm sido produzidas em pães integrais de trigo e centeio, em queijos *Tilsit* e em suco de maçã a 22°C. Essas micotoxinas tem sido observadas na camada superior de queijo *cheddar*, com três meses de maturação, mantido em temperatura ambiente.



Em queijo *Brick*, a 12,8°C, foram produzidas *A. parasiticus* após uma semana, mas não *A. flavus*. A AFB₁ foi encontrada em três de 63 amostras comerciais de manteiga de amendoim, em níveis inferiores a 5ppb.

A produção de aflatoxina tem sido demonstrada em um grande número de produtos alimentícios, além dos previamente citados. Sob condições ótimas de crescimento, algumas toxinas podem ser detectadas em 24 horas ou dentro de 4 a 10 dias. Em amendoins, algumas observações devem ser consideradas, tais como o crescimento de fungos e a produção de aflatoxinas ocorrem, em grande parte, durante o armazenamento após a colheita; em um lote de amendoim contaminado, relativamente poucas vagens contêm toxina, de modo que o sucesso na detecção depende da coleta de uma amostra relativamente grande (aproximadamente 1 kg), por análise; a quantidade de toxina irá variar grandemente mesmo em uma única vagem; e os dois fatores mais importantes que afetam a produção de aflatoxina são a umidade e a temperatura.

A FDA estabelece como permitidos os seguintes níveis de aflatoxinas para alimentos: 0,5 ppb em leite e 20ppb para alimentos, rações, nozes brasileiras, amendoins, produtos derivados de

amendoim e pistaches. O Codex Alimentarius recomenda que sejam seguidos os seguintes níveis máximos de micotoxinas para produtos específicos: 15µg/kg de aflatoxinas em amendoins para processamento, 0,05µg/kg de aflatoxina M₁ em leite, 50µg/kg de patulina em suco de maçã e suco de maçã utilizado como ingrediente para outras bebidas, e 5µg/kg de ocratoxina em cereais e produtos de cereais.

Para a expressão de mutagenicidade, sistemas metabólicos de mamíferos são essenciais para o estudo das aflatoxinas, especialmente da AFB₁. Também é essencial sua ligação com ácidos nucleicos, especialmente DNA. Apesar do DNA nuclear ser normalmente afetado, tem sido demonstrado que a AFB₁ liga-se covalentemente ao DNA mitocondrial de células do fígado, preferencialmente ao DNA nuclear. Macromoléculas celulares que não sejam ácidos nucleicos são possíveis locais de ligação para aflatoxinas. Na molécula de aflatoxina, a dupla ligação entre C₂-C₃ na estrutura de hidrofurfurano é o local responsável pela mutagenicidade. A redução da AFB₁ para a forma 2,3-dihidro (AFB₂) diminui a mutagenicidade em 200 a 500 vezes. Depois da ligação ao DNA, as aflatoxinas induzem mutações pontuais, que são consideradas lesões genéticas predominantes, apesar de serem observadas também mutações que alteram a leitura do DNA. A mutagênese da AFB₁ tem sido duas vezes maior na presença de butilhidroxianisol (BHA) e butilhidroxitolueno (BHT) e menos influenciada na presença de galato de propila, quando esses compostos são empregados no teste de Ames (ensaio biológico para avaliar a mutagenicidade de potencial dos compostos químicos. Um teste positivo indica que o produto químico pode agir como uma substância cancerígena. O procedimento é descrito em uma série de documentos desde o início dos anos de 1970 por Bruce Ames e sua equipe na Universidade da Califórnia, Berkeley). Porém, ainda se desconhece se o aumento da toxicidade

ocorre em sistemas animais.

Em pesquisas, a maioria das espécies animais susceptíveis morreu três dias após a administração das toxinas e apresentou grandes danos ao fígado, o qual, após exame *post-mortem*, revelou a capacidade hepato carcinogênica da aflatoxina. A toxicidade foi maior em animais jovens e machos do que em animais mais velhos e fêmeas. Além disso, os efeitos tóxicos foram aumentados por dietas pobres em proteínas ou que prejudicavam o fígado.

Evidências circunstanciais sugerem que as aflatoxinas são carcinogênicas para humanos. Entre as consequências que se acredita serem devidas às aflatoxinas, pode-se citar a síndrome EFDV da Tailândia, a síndrome da Revê da Tailândia e Nova Zelândia e hepatomas (carcinomas hepatocelulares) agudos em crianças na Uganda. Por outro



lado, tem sido notado que nenhuma micotoxina está relacionada a um tipo de câncer específico em humanos na ausência de infecção crônica com vírus da hepatite B.

Embora algumas micotoxinas sejam extremamente tóxicas para animais jovens de muitas espécies, acredita-se que sua toxicidade para humanos seja exagerada.

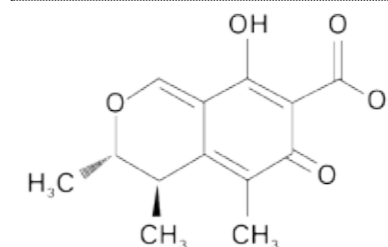
A AFB₁ e a AFB₂ podem ser reduzidas no milho pelo bissulfito. Figos secos contaminados com 250 ppb de AFB e submetidos a diversos tratamentos, 1% de bissulfito de sódio foi capaz de reduzir 28,2%, em 72 horas. Com 0,2% de H₂O₂ (adicionado 10 minutos antes do bissulfito de sódio) houve uma redução de 65,5%. Os aquecimentos de 45°C a 65°C por uma hora alcançaram uma redução de 68,4%, enquanto a radiação ultravioleta (UV) resultou em 45,7% de

redução. Sementes de algodão contaminadas com aflatoxinas, tratadas com amônia e utilizadas como ração para vacas diminuíram os níveis de AFB₁ e AFM₁ no leite. Quando milho naturalmente contaminado com 1.600 ppm de aflatoxina foi tratado com 3% de NaOH a 100°C por 4 minutos, e posteriormente processado e frito, 99% da aflatoxina foi destruída.

Citrinina

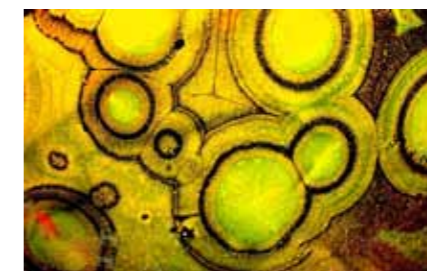
A citrinina, cuja estrutura é apresentada na Figura 2, é produzida por *Penicillium citrinum*, *P. viridicatum* e outros fungos. Essa micotoxina tem sido detectada em arroz polido, pão mofado, presunto curado, trigo, aveia, centeio e outros produtos similares. Sob luz ultravioleta de comprimento longo, a citrinina fluoresce amarelo-limão.

FIGURA 2 - ESTRUTURA DA CITRININA



Essa micotoxina é conhecida como carcinogênica. Em um estudo, a partir de presunto curado, foram isoladas sete linhagens de *P. viridicatum*. Quando o potencial toxigênico dessas linhagens foi avaliado, todas se apresentaram como produtoras de citrinina em caldo de batata glicosado e em presuntos curados, mantidos entre 20°C e 30°C, por 14 dias.

A citrinina foi identificada a partir de produtos alimentícios mofados e pode ser produzida em meio sintético, juntamente com outras micotoxinas.



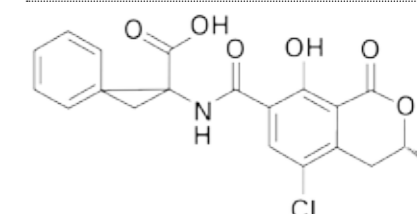
Citrinina

Enquanto organismos produtores de citrinina são encontrados em sementes de cacau e café, essa micotoxina, assim como as outras, não é encontrada durante o desenvolvimento fúngico. A aparente razão é a inibição, pela cafeína, da produção de citrinina pelo *P. citrinum*. A inibição da produção de citrinina é parcialmente específica, uma vez que somente uma pequena redução no crescimento fúngico é observada.

Ocratoxina

As ocratoxinas consistem em um grupo de, no mínimo, sete metabólitos secundários relacionados estruturalmente, dos quais a ocratoxina A (AO) é a mais conhecida e tóxica. A ocratoxina B (OB) é a forma descolorada da ocratoxina A e, assim como a ocratoxina C, pode não ocorrer naturalmente. A Figura 3 apresenta a estrutura da ocratoxina.

FIGURA 3 - ESTRUTURA DA OCRATOXINA



Ocratoxina

A ocratoxina A é produzida por um grande número de fungos encontrados durante a estocagem, incluindo *A. ochraceus*, *A. alliaceus*, *A. ostianus*, *A. melius*, além de outras espécies de *Aspergillus*. Entre os fungos do gênero *Penicillium* que produzem ocratoxinas A estão *P. viridicatum*, *P. cyclopium* e *P. variable*.

A ocratoxina A tem sua produção máxima em 30°C e em atividade de água (aw) de 0,95. Na produção de ocratoxina A por *A. ochraceus* a 30°C, a mínima

atividade de água é de 0,85.

Essa toxina, hepatotóxica e nefrotóxica, têm sido encontrada em milho, feijão seco, sementes de cacau, grãos de soja, cevada, frutas cítricas, castanhas do Brasil, tabaco mofado, presunto curado, amendoins, grãos de café e demais produtos similares.

Sob luz ultravioleta, a ocratoxina A fluoresce esverdeada, enquanto que a ocratoxina B emite fluorescência azul.

Duas linhagens de *A. ochraceus* isoladas de presunto curado produziram ocratoxina A e B em arroz, em pasta de amendoim sem gordura e em presuntos curados. De toda a toxina produzida, 2/3 penetraram 0,5 cm após 21 dias, permanecendo o outro 1/3 na região micelial. De seis linhagens de *P. viridicatum* isoladas de presunto curado, nenhuma produziu ocratoxina.

Em um estudo para avaliar a eficácia de quatro inibidores químicos diante do crescimento e produção de ocratoxina A por duas linhagens a pH 4,5, os resultados foram: sorbato de potássio > propionato de sódio > metilparabeno > bissulfato de sódio.

Como a maioria das micotoxinas, a ocratoxina A é termicamente estável. Em um estudo, a maior taxa de destruição alcançada pelo cozimento de sementes de fava foi de 20%; os pesquisadores concluíram que a ocratoxina A não pode ser destruída por procedimentos normais de cocção.

Patulina

A patulina é produzida por um grande número de fungos do gênero *Penicillium*, incluindo *P. claviforme*, *P. expansum* e *P. patulum*. Pode ainda ser produzida por alguns fungos do gênero *Aspergillus* (*A. clavatus*, *A. terreus* e outros), por *Bissochlamys nivea* e *B. fulva*.

As propriedades biológicas da patulina se assemelham às do ácido penicílico. Alguns fungos da patulina podem produzi-la em temperaturas abaixo de 2°C. Essa micotoxina tem sido encontrada em pães mofados, linguiças, frutas (incluindo bananas, pêras, abacaxis, uvas e pêssegos), suco de maçã, sidras e outros produtos. Em suco de maçã, níveis de até 440 µm/L têm sido verificados e, em sidras, níveis de 45 ppm já foram demonstrados.



Patulina

Juntamente com a citrinina e a ocratoxina A, a patulina tem sido identificada a partir de produtos alimentícios mofados.

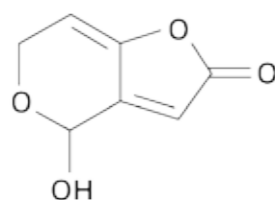
A atividade de água mínima para o crescimento de *P. expansum* e *P. patulum* tem sido relatada como de 0,83 e 0,81, respectivamente. Em caldo de batata glicosado incubada a 12°C, a produção de patulina por *P. patulum* e *P. roquefortii*, após 10 dias de incubação, atinge níveis de até 1.033 ppm. A produção de patulina é favorecida por temperaturas abaixo da ótima para o crescimento dos fungos.

Estudos com *P. expansum* encontraram produção de patulina na faixa de 5°C a -20°C, com pequenas quantidades sendo produzidas a 30°C. Atmosferas contendo CO₂ e N₂ reduzem a produção de patulina, quando comparadas às com ar. Para inibir a produção de patulina, o SO₂ mostrou-se mais efetivo do que o sorbato de potássio ou o benzoato de sódio.

Tanto a patulina quanto o ácido penicílico ligam-se a grupos -SH e -NH, formando compostos ligados covalentemente, tendo suas toxicidades reduzidas. A patulina causa aberrações cromossômicas em células animais e vegetais, além de ser carcinogênica.

A estrutura da patulina pode ser vista na Figura 4.

FIGURA 4 – ESTRUTURA DA PATULINA

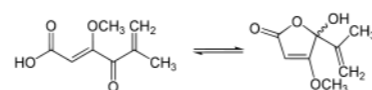


Ácido penicílico

O ácido penicílico, cuja estrutura é apresentada na Figura 5, tem propriedades biológicas similares às da patulina.

É produzido por um grande número de fungos, incluindo os do gênero *Penicillium* (*P. puberulum*, por exemplo), assim como membros do grupo *A. ochraceus*. Um dos maiores produtores dessa toxina é o *P. cyclopium*. Essa micotoxina tem sido encontrada no milho, feijão e outros produtos agrícolas, além de ter sido produzida experimentalmente em queijo suíço.

FIGURA 5 – ESTRUTURA DO ÁCIDO PENICÍLICO



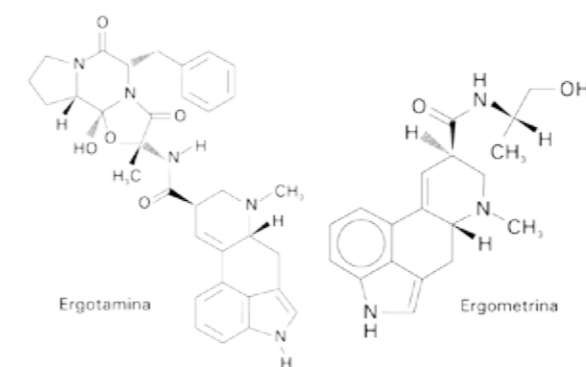
É uma micotoxina comprovadamente carcinogênica.

Em um estudo, de 346 culturas de *Penicillium* isoladas de salame, cerca de 10% produziram ácido penicílico em meio de cultura líquido, porém cinco culturas que foram inoculadas em linguiça não produziram micotoxinas, mesmo após 70 dias. Em outro estudo, cerca de 183 fungos foram isolados de queijo suíço, sendo 87% do gênero *Penicillium*; destes, 93% cresceram a 5°C. Dos extratos de *Penicillium* avaliados, 35% foram tóxicos a embriões de galinha, e de 5,5% foram recuperados tanto ácido penicílico como patulina e aflatoxinas. O ácido penicílico foi produzido a 5°C, em seis semanas, por quatro de 33 linhagens fúngicas.

Alcalóides ergóticos

Essas substâncias estão entre os mais interessantes metabólitos secundários fúngicos, cuja produção ocorre nos escleródios de diversas espécies do gênero *Claviceps*. Os efeitos desses alcalóides sobre o homem são conhecidos desde a Idade Média, período em que alguns sintomas foram denominados de “fogo-sagrado” ou “fogo-de-santo-antônio”. No ano de 994, no Sul da França, milhares de pessoas morreram após a ingestão de grãos de cereais infectados por *Claviceps purpurea*. Também denominada de ergotismo, essa intoxicação

FIGURA 6 – ESTRUTURAS QUÍMICAS DA ERGOTAMINA E DA ERGOMETRINA.



ocorre após a ingestão de pão ou de outros produtos preparados a partir de farinha de grãos de centeio infectados pelo fungo. O ergotismo apresenta duas formas clássicas: a gangrenosa e a convulsiva. A forma gangrenosa afeta o suprimento de sangue para as extremidades do corpo, enquanto a convulsiva age diretamente sobre o sistema nervoso central. Na pequena cidade francesa de Pont Saint Esprit, em 1951, ocorreu um surto de ergotismo, no qual cerca de 30 pessoas foram contaminadas, verificando-se a morte de pelo menos 5 delas. O surto mais recente de ergotismo gangrenoso foi observado na Etiópia, entre 1977 e 1978, quando 140 pessoas foram afetadas, com a taxa de mortalidade atingindo o percentual de 34%. Na Índia, em 1975, foi confirmado um surto de ergotismo convulsivo, afetando 78 pessoas, mas sem confirmação de mortes. Casos de ergotismo são bastante raros atualmente, em virtude de a maioria dos escleródios ser eliminada durante o processamento nos moinhos. Somente níveis muito baixos de alcalóides ergóticos podem ser ainda detectados. Ademais, esses alcalóides são relativamente termolábeis, sendo quase sempre destruídos no processo de panificação.

Os escleródios desses fungos possuem uma gama de alcalóides, dos quais os mais importantes são os derivados do ácido lisérgico. Além desses ocorrem, ainda, a ergometrina, a ergotamina e a ergotoxina (uma mistura de ergocorina, ergocristina e ergocriptina, todos tripeptídeos cíclicos derivados do ácido lisérgico). As espécies produtoras desses alcalóides, além de *Claviceps purpu-*

rea (centeio, e outros cereais), inclui *Claviceps paspali* (gramíneas forrageiras), *Claviceps fusiformis* (em *Pennisetum typhoides*), *Claviceps gigantea* e *Sphacelia sorghi* (forma anamórfica de *Claviceps*).

Comasmodernastécnicas de limpeza de grãos, o problema do ergotismo foi praticamente eliminado da cadeia alimentar humana. Entretanto, ain-

da é uma ameaça sob o aspecto veterinário. Dentre os animais suscetíveis de intoxicação, incluem-se o gado, os ovinos, os porcos e as aves.

Os sintomas clínicos do ergotismo nesses animais se manifestam na forma de gangrena, aborto, convulsões, supressão da lactação, hipersensibilidade e ataxia (perda da coordenação dos movimentos musculares voluntários).

A Figura 6 apresenta as estruturas químicas da ergotamina e da ergometrina.

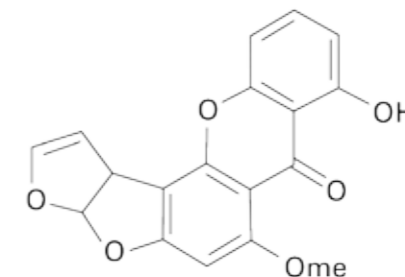
Esterigmatocistina

Essas micotoxinas são estruturalmente e biologicamente relacionadas às aflatoxinas e, como estas, possuem atividade hepatocarcinogênica em animais. No mínimo oito derivados são conhecidos. Entre os organismos que produzem esterigmatocistina, estão *Aspergillus versicolor*, *A. nidulans*, e *A. rugulosus*. Sob luz ultravioleta, essa toxina fluoresce vermelho tijolo escuro.

Apesar de não ser frequentemente encontrada em produtos naturais, a esterigmatocistina tem sido observada em trigo, aveia, queijo holandês e grãos de café.

Embora esteja relacionada às aflatoxinas, a esterigmatocistina não é tão

FIGURA 7 – ESTRUTURA DA ESTERIGMATOCISTINA



potente. Sua atuação é verificada pela inibição da síntese de DNA.

A estrutura da esterigmatocistina pode ser observada na Figura 7.

Fumonisin

As fumonisinas são produzidas por fungos do gênero *Fusarium* em milho e em outros grãos. Algumas doenças humanas e animais estão associadas ao consumo de alimentos contaminados com altos níveis desses fungos. A estrutura da fumonisina pode ser vista na Figura 8.

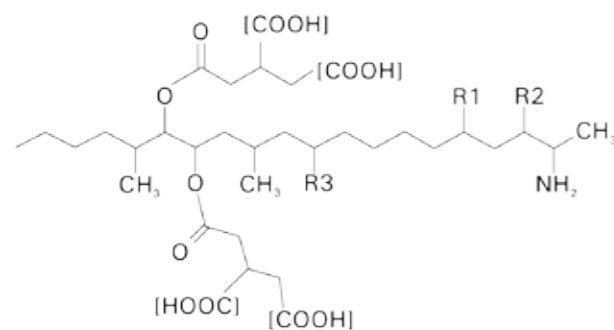


Fumonisin

As espécies produtoras de fumonisinas incluem *F. anthophilum*, *F. dlanini*, *F. nygami*, *F. moniforme*, e *F. proliferatum*. As últimas espécies citadas são produtoras de grandes quantidades de fumonisinas. A *F. moniforme* (anteriormente *F. verticillioides*; *Gibberella fujikuroi*) foi a primeira espécie associada com essas micotoxinas e é a mais estudada das três. A prevalência de *F. moniforme* é significativamente maior em milho produzido em áreas onde ocorrem altas taxas de câncer de esôfago em humanos.

Existem, no mínimo, sete fumonisinas, sendo quatro do tipo B e, pelo menos, três do tipo A: FB₁, FB₂, FB₃, FB₄, FA₁, FA₂ e FA₃. As principais são a FB₁ e a FB₃, sendo as outras consideradas secundárias. Das três toxinas principais, a FB₁ (também designada macrofusina) é produzida em maiores quantidades por linhagens produtoras de fumonisinas. Por exemplo, entre nove linhagens de *F. moniforme*, a produção de FB₁ em milho autoclavado foi de 960 a 2.350µg/g, enquanto a de FB₂ foi de 120 a 320 µg/g.

FIGURA 8 - ESTRUTURA DA FUMONISINA



A fusarina C é produzida por *F. moniliforme*, mas aparentemente não esta envolvida em atividade hepatocarcinogênica. Essa micotoxina é mutagênica, mas somente após a ativação do fígado.

Com relação à temperatura e ao pH ótimos para crescimento, a máxima produção de FB₁ por uma linhagem de *F. moniliforme* em cultura de milho foi obtida em 13 semanas, a 20°C e com uma produção de 17,9g/kg em peso seco. Além disso, a maior taxa de crescimento fúngico ocorreu em 25°C, sendo a fase estacionária alcançada no período de 4 a 6 semanas, na mesma temperatura. De modo geral, o tempo e a temperatura ótimos para produção de FB₁ foram de sete semanas a 25°C. Com relação ao crescimento de *F. moniliforme*, estudos têm demonstrado bons resultados em temperaturas de 25°C a 30°C, em uma faixa de pH de 3 a 9,5.

Conservantes, como o ácido benzóico, BHA e carvacrol, têm sido inibidores ou retardadores do crescimento micelial de inúmeras linhagens de *Fusarium spp.*, sendo o ácido benzóico o mais efetivo, seguido pelo carvacrol e pelo BHA.

A estrutura química da FB₁ e da FB₂ difere somente no carbono 10, onde a FB₁ possui um grupo -OH em substituição ao -H presente na estrutura da FB₂. Essas micotoxinas diferem das demais descritas anteriormente de duas formas: não possuem grupamentos cíclicos ou anéis em suas estruturas e são solúveis em água. Por outro lado, são estáveis em calor, como muitas outras micotoxinas.

Sambutoxina

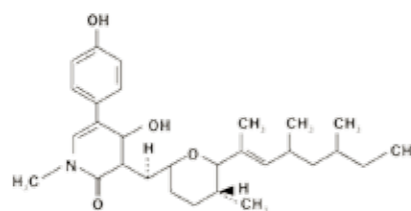
A micotoxina conhecida como sambutoxina, cuja estrutura é apresentada na Figura 9, foi primeiramente reportada em 1994. Está associada com batatas

secas e apodrecidas e é principalmente produzida por linhagens de *Fusarium sambucinum* e *F. oxysporum*. De 13 espécies de *Fusarium* pesquisadas, cerca de 90% das linhagens pertencentes às duas espécies citadas produzem essa toxina.

Pesquisas realizadas com amostras de batatas apodrecidas provenientes da Coréia relataram que 9 de 21 amostras continham 15,8 a 78,1ng/g de sambutoxina, com uma média de 49,2ng/g. Utilizando substrato à base de trigo, níveis de 1,1 a 101,0μg/g de sambutoxina foram produzidas. A toxina foi encontrada em batatas provenientes de regiões do Irã que tinham alta incidência de câncer esofágico.

Segundo pesquisas realizadas com ratos, a sambutoxina causa hemorragia no estômago e intestino, sendo que os animais passam a rejeitar a ração e perdem peso.

FIGURA 9 - ESTRUTURA DA SAMBUTOXINA

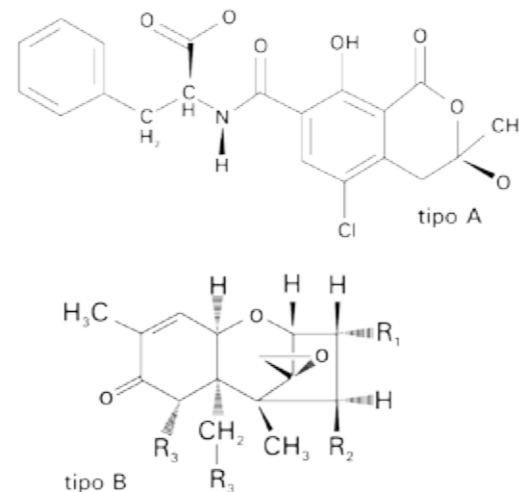


Tricotecenos

Os tricotecenos constituem um grupo de aproximadamente 150 metabólitos produzidos por fungos dos gêneros *Fusarium*, *Myrothecium*, *Phomopsis*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichotecium*, *Verticimonosporium* e, possivelmente, outros fungos mais. O termo tricoteceno é derivado de tricotecina, o primeiro membro da família identificado. Todos os tricotecenos se caracterizam por possuírem um esqueleto tetracíclico 12,13-epoxitricoteno (veja Figura 10).

A despeito do elevado número de moléculas já identificadas, apenas algumas delas ocorrem naturalmente.

FIGURA 10 - ESTRUTURA DO TRICOTECENOS



Dentre os tricotecenos mais importantes, podem ser citados o desoxivalenol (DON), o nivalenol (NIV), a toxina T2, a toxina HT2 e o diacetoxiscirpenol (DAS). Os tricotecenos são reconhecidos pela forte capacidade de inibição da síntese proteica eucariótica, interferindo nos estágios inicial, de alongamento e do terminal da síntese proteica. Os tricotecenos foram os primeiros compostos comprovadamente envolvidos na inibição da atividade da transferase peptídica.

O DON é uma das micotoxinas mais comumente encontradas em grãos.

Quando ingerido em doses elevadas por animais, ela causa náuseas, vômitos e diarreia. Quando ingerida por porcos e por outros animais, em pequenas doses, pode provocar perda de peso e recusa alimentar.

Por induzir esses sintomas o desoxivalenol é conhecido como vomitoxina ou fator de recusa de alimento. Embora menos tóxico que os outros tricotecenos, o DON é mais comum em sementes de cartamo, cevada, centeio, trigo e em misturas de alimentos. Tem sido levantada a hipótese de que a toxina T2 e o DAS estariam associados à doença Aleuquia Tóxica Alimentar, a qual afetou milhares de pessoas em Orenburg, uma região da antiga União Soviética, durante a Segunda Guerra Mundial. As pessoas doentes teriam se alimentado de grãos infectados por *Fusarium sporotrichioides* e *Fusarium*

poae. Os sintomas da doença incluem inflamação da pele, vômitos e danos aos tecidos hepáticos.

Outros tricotecenos são amplamente produzidos pelos fungos *Myrothecium*, *Stachybotrys* e *Trichothecium*. Dentre eles, destacam-se a atranona, a roridina, a satratoxina e a verrucarina. DON e a toxina T2 têm sido detectadas, no Brasil, associadas a grãos de milho, a farelo de trigo e a produtos de panificação.

O fungo *Stachybotrys atra* (anteriormente denominado de *Stachybotrys chartarum*) tem sido associado a uma modalidade inusitada de micotoxicose. Os tricotecenos macrocíclicos produzidos por esse fungo localizam-se tanto nos esporos (conídios), quanto nos próprios fragmentos micelianos. A inalação dos propágulos fúngicos teria sido responsável por um surto de pneumonia hemorrágica em crianças da cidade de Cleveland (USA). A doença é também conhecida como hemossiderose pulmonar. A estaquibotriose já havia sido confirmada como uma doença ocupacional de agricultores envolvidos na manipulação de feno mofado. Nesse caso, os sintomas típicos da micotoxicose são sangramentos nasais e traqueais. Este fungo tem sido, também, associado à síndrome dos edifícios doentes (Sick Building Syndrome).

Por ser um eficiente produtor de celulase, o fungo degrada materiais ricos em celulose, tendo ainda extraordinária capacidade para sobreviver em locais úmidos como tetos, forros de diversas naturezas e até mesmo em tubulações de ar condicionado. A dispersão aérea dos propágulos torna-se, conseqüentemente, bastante facilitada. Os tricotecenos produzidos por *S. atra* (atranonas, roridina, estaquilisina, satratoxinas, tricoverróis, trocoverrinas e verrucarinas, dentre outros) são inibidores da síntese proteica em células eucarióticas, podendo provocar cefaléia, irritação na garganta e nos olhos, além de vertigens e sangramentos nasais.

Zearalenona

Existem cinco zearalenona de ocorrência natural, as quais são produzidas por *Fusarium spp.*, principalmente *F. graminearum* (anteriormente conhe-

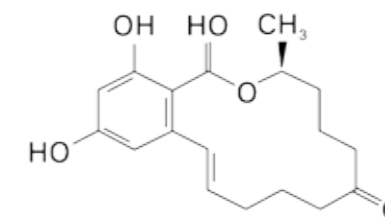
cido como *F. roseum* = *Gibberella zeae*) e *F. Tricinctum*. Associadas ao milho, esses organismos invadem a planta no estágio de floração, especialmente durante períodos chuvosos. Se os níveis de umidade permanecem suficientemente altos após a colheita, o fungo cresce e produz toxina. Outros grãos, como trigo, aveia, cevada e gergelim, podem ser infectados, além do milho.

A zearalenona fluoresce azul esverdeada sob luz ultravioleta de comprimento longo, e esverdeada sob luz ultravioleta de comprimento curto.

Essas micotoxinas possuem propriedades estrogênicas e promovem cio em camundongos e hiperestrogenismo em suínos. Não são mutagênicas e produzem uma resposta positiva com *Bacillus subtilis*.

A estrutura da zearalenona é apresentada na Figura 11.

FIGURA 11 - ESTRUTURA DA ZEARELENONA



OUTRAS MICOTOXINAS

Conforme mencionado anteriormente, uma quantidade aproximada de 400 diferentes micotoxinas já foi isolada e caracterizada, quimicamente, ao longo das últimas quatro décadas.

Entretanto, as pesquisas têm se concentrado naquelas substâncias que apresentam efeitos mais significativos sobre a saúde humana e animal. Atualmente, muitas micotoxinas, até então pouco estudadas, passaram a chamar a atenção dos pesquisadores, em virtude de seu indiscutível potencial tóxico. As substâncias apresentadas a seguir incluem-se nesse grupo.

Ácido fusárico, Fusarenona X, Fusarina C e Moniliformina

Embora menos importantes que os principais tricotecenos, a zearalenona e as fumonisinas, micotoxinas fusaria-

nas, têm sido encontradas com elevada frequência em cereais, participando, principalmente, da cadeia alimentar de aves. O ácido fusárico, por exemplo, interfere no consumo alimentar de aves, agindo na utilização do triptofano pelo cérebro, além de atuar sinergicamente, aumentando a toxicidade de outras micotoxinas.

A Fusarenona X é um tricoteceno com reconhecida citotoxicidade, provocando apoptose (morte celular programada ou a "autodestruição celular") em células de rato, tanto in vivo quanto in vitro.

A Fusarina C, encontrada principalmente em grãos de milho, tem sido relacionada ao desenvolvimento de câncer de esôfago em humanos. Caracterizada como uma potente cardiotoxina, a moniliformina pode afetar frangos de corte, reduzindo o ganho de peso e aumentando o volume do coração.

Rugulosina

Produzida por espécies de *Penicillium*, especialmente por *Penicillium islandicum*, a rugulosina é um bis-antraquinóide e é suspeita de causar danos renais e hepáticos em humanos. Em células de ratos e camundongos, essa substância induziu a formação de tumores em células hepáticas de camundongos machos.

Luteosquirina

Também produzida por *Penicillium islandicum*, a luteosquirina é uma antraquinona e estaria associada à doença do "arroz amarelo", no Japão. Sua capacidade nefrotóxica e hepatotóxica não está conclusivamente provada. Entretanto, o fungo produtor é comumente isolado a partir de alimentos.

Cicloclorotina

Considerada como hepatóxica, a cicloclorotina é igualmente produzida por *Penicillium islandicum*. Sua capacidade para causar efeitos tóxicos a células hepáticas em cultura foi demonstrada por OHMI et al.

Ácido tenuazônico

Espécies do gênero *Alternaria* produzem cerca de 71 diferentes micotoxinas e fitotoxinas. Os metabólitos

mais comuns são o alternariol, o alternariol metil éter, o altenueno e o ácido tenuazônico. Em dietas de aves contendo esses metabólitos, apenas o ácido tenuazônico induziu a mortalidade de embriões de frangos e morte de pintos de 1 dia. Metabólitos de *Alternaria spp.* têm sido associados a uma síndrome conhecida como doença hemorrágica das aves

Fomopsinas

Embora menos estudadas, as fomopsinas começam a despertar interesse dos pesquisadores, especialmente pela provável toxicidade a ovelhas. As fomopsinas A e B, por exemplo, obtidas a partir do fungo *Phomopsis leptostromiformis*, foram capazes de induzir lupinose (atrofia aguda do fígado) em ovinos e em ratos jovens. Evidências mais recentes indicam que além das fomopsinas A e B, esse fungo produz também outros metabólitos tóxicos. Outras espécies de *Phomopsis* são capazes de produzir também a micotoxina roridina A. A partir de uma cultura de *Phomopsis sp.*, um endofítico da casca de *Cavendishia pubescens*, pesquisadores obtiveram *paspalitrema A* e *paspalitrema C*, micotoxinas tremogênicas isoladas, até então, apenas de esclerócios de *Caviceps paspali*. Essas substâncias provocam desordens neurológicas em gado.

PREVENÇÃO E CONTROLE DE TOXINAS

Fungos não podem crescer (ou micotoxinas ser produzidas) em alimentos devidamente secos. Por isso, a secagem eficiente dos produtos e a sua conservação sem umidade é uma arma eficaz contra o crescimento de fungos e a produção de micotoxinas.

Para reduzir ou prevenir a produção da maioria das micotoxinas, o processo de secagem deve ser feito logo após a colheita e o mais rápido possível. A quantidade crítica de água para o armazenamento seguro corresponde a atividade da água de cerca de 0,7. A manutenção de alimentos abaixo de 0,7 é uma técnica eficaz usada mundialmente para controlar estragos provocados por fungos e produção de micotoxinas em alimentos.

Problemas como a manutenção de atividade de água adequadamente baixa ocorrem frequentemente nos trópicos, onde a elevada umidade ambiental dificulta o controle da umidade do produto. Onde o grão é guardado em sacos, métodos que empregam cuidadoso sistema de secagem e, subsequente armazenamento em folhas de plástico a prova de umidade poderão superar este problema.

O modo correto de secagem é a melhor maneira de evitar o crescimento de fungos e a produção de micotoxinas em grãos após a colheita. Às vezes, quando a secagem ao sol não é possível ou fiável, é necessário usar alguma forma de secagem mecânica.

É possível controlar o crescimento de fungos em produtos armazenados através do controle ambiental ou do uso de preservativos ou inibidores naturais, mas tais técnicas são sempre mais dispendiosas do que uma secagem eficaz e, portanto, raramente viáveis em países em desenvolvimento.

O grão estragado tem mais tendência para invasão de fungos e, conseqüentemente, para contaminação de micotoxinas. Por isso, é importante evitar estrago antes e durante o processo de secagem, bem como no armazenamento. A secagem do milho na espiga, antes de descascar, é uma prática muito boa.

Os insetos são uma das principais causas de estrago; pragas de insetos de campo e algumas espécies de armaze-



namento estragam o grão e estimulam, em ambiente úmido, o crescimento de fungos no grão em amadurecimento. No armazenamento, muitas espécies de insetos atacam o grão, e a umidade que pode acumular oferece um meio ideal para os fungos. É essencial que o grão armazenado seja conservado livre de insetos, do contrário, são inevitáveis os problemas de umidade e mofo. Este se forma se faltar ao grão ventilação adequada e, particularmente, se forem usados contentores de metal.

Condições apropriadas de armazenamento também são de grande importância. Nas regiões tropicais, pode ser difícil manter secos os produtos durante o armazenamento, mas nunca é demais enfatizar a importância do armazenamento seco. Em pequena escala, embalagens de polietileno são eficazes; em larga escala, o armazenamento seguro requer estruturas bem desenhadas com pisos e paredes impermeáveis contra umidade. A manutenção da umidade do armazém abaixo de 70% é crucial.

Nas regiões tropicais, a umidade ao ar livre geralmente desce bem abaixo de 70% em dias ensolarados. A ventilação durante um período de tempo devidamente controlado, preferivelmente com ventilador, ajuda muito a manter a baixa umidade. O ideal é que as áreas de armazenamento de grande escala sejam equipadas com instrumentos de controle de umidade.

O armazenamento vedado em

ambientes modificados para controle de insetos é também muito efetivo para controle do crescimento de fungos, desde que o grão seja devidamente seco antes do armazenamento e desde que sejam minimizadas as flutuações da temperatura diurna.

Se for necessário armazenar os produtos antes da adequada secagem, isto deve ser feito por um período curto, de no máximo, três dias. O uso de armazém vedado ou ambientes modificados prolonga este período de segurança, mas esses procedimentos são relativamente caros e em condições estancadas.

É necessário um sistema comprovado de gestão de estoque que leve em consideração as micotoxinas como parte integral desse sistema. Já existe uma variedade de sistemas de apoio para a tomada de decisões que abrange vários níveis de sofisticação e escala.

Além das considerações citadas acima, estudos sobre controle da produção de micotoxinas tem demonstrado que certos organismos, especialmente outros fungos, são eficientes no controle do crescimento de fungos toxigênicos e na inibição da produção de toxinas. Entre os primeiros estudos de desintoxicação de aflatoxinas, demonstrou-se que a bactéria *Flavobacterium aurantiacum* removeu aflatoxinas da solução em teste. Em estudos posteriores, demonstrou-se que essa bactéria, na verdade, degradava AFB₁ em meios de cultura. Leveduras em crescimento demonstraram ser capazes de degradar patulina. Entre as bactérias lácticas, a *Lactobacillus acidophilus* apresentou-se como um eficiente inibidor do crescimento e produção de toxina por *A. flavus*. A colonização de milho por *Fusarium spp* tem sido claramente inibida por *Aspergillus* e *Penicillium spp.* a 25°C, dependendo da atividade de água e da espécie testada. Porém, as interações que levam a uma redução na colonização por *Fusarium* não afetam negativamente a produção de fumonisinas.

Tentativas de controlar o crescimento de *Botrytis cinerea* em maçãs incluiu testes com *Pseudomonas cepacia*, *Erwinia sp.*, *Pichia guilliermondii*, *Cryptococcus sp.*, *Acremonium breve* e *Trichoderma pseudokoningii*, sendo que todos demonstraram ser efetivos.

O mais efetivo foi *Erwinia sp.*, especialmente em condições ambientais.

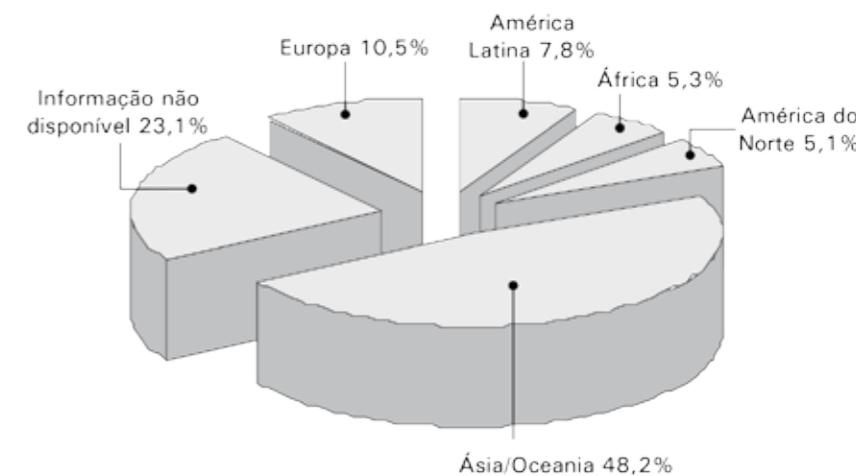
REGULAMENTAÇÃO DE MICOTOXINAS NO BRASIL E NO MUNDO

Legislações têm sido adotadas em muitos países com o intuito de proteger os consumidores contra os efeitos nocivos das micotoxinas em alimentos *in natura* e processados e, inclusive, em rações para animais de abate e de estimação. As legislações mais conhecidas são aquelas que regulamentam os níveis de aflatoxinas, não obstante legislações para outras micotoxinas estejam sendo também implementadas rapidamente. Existem diversos fatores que conduzem à elaboração dessas legislações. Por exemplo, existem os aspectos científicos, tais como a disponi-

mundial. Esse levantamento confirma que o aumento na população, agora protegida pelas legislações de micotoxinas, ocorreu graças a um pequeno aumento observado na América Latina e Europa, e a um significativo aumento na cobertura populacional na África e Ásia/Oceania (veja Figuras 12 e 13). Ademais, todos os países que possuem legislação para micotoxinas têm, pelo menos, limites regulamentares para a presença de aflatoxina B₁ ou para a soma B₁+B₂+G₁+G₃.

Entretanto, várias outras micotoxinas já estão também sob legislação. Dentre elas, destacam-se a aflatoxina M₁, os tricotecenos desoxinivalenol, diacetoxiscirpenol, as toxinas T₂ e HT₂, as fumonisinas B₁, B₂ e B₃, a ocratoxina A, a patulina, a esterigmatocistina, a zearalenona, os alcalóides ergóticos e, até mesmo, o ácido agárico e as fomp-

FIGURA 12 - PERCENTAGEM DA POPULAÇÃO GLOBAL COBERTA PELA LEGISLAÇÃO DE MICOTOXINAS EM 1995

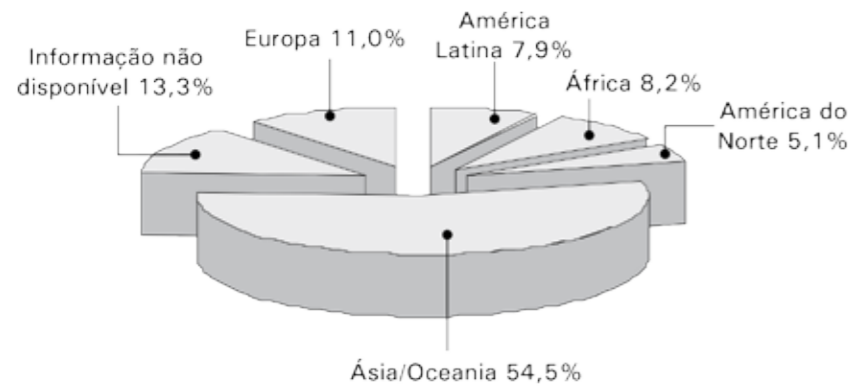


bilidade de informações toxicológicas, o conhecimento acerca da distribuição das micotoxinas nos alimentos, além da metodologia analítica. Também, devem ser considerados os aspectos políticos e econômicos, principalmente com relação aos interesses comerciais e aos impactos na disponibilidade da oferta de alimentos.

Informações coligidas demonstram que cerca de 100 países já dispõem de legislação para regulamentar os limites de micotoxinas em alimentos, rações e *commodities*. Os países cobertos por essas legislações englobam aproximadamente 90% da população

sinas. Tem-se observado que um maior número de micotoxinas encontra-se sob legislação, tendo-se elevado também o número de produtos e *commodities* analisados. Os limites de tolerância têm se mantido nos mesmos níveis ou têm mostrado uma tendência para decrescerem, enquanto que os métodos de amostragem e de análise têm se tornado mais diversificados e muito mais detalhados. Uma tendência extremamente interessante é a harmonização das legislações nos países pertencentes aos diferentes blocos econômicos, tais como Austrália/Nova Zelândia, Comunidade Européia e Mercosul.

FIGURA 13 - PERCENTAGEM DA POPULAÇÃO GLOBAL COBERTA PELA LEGISLAÇÃO DE MICOTOXINAS EM 2003



Na maioria dos países africanos, onde não existe legislação em vigor, a população encontra-se exposta à contaminação com micotoxinas, principalmente com relação às culturas de subsistência, que são consumidas nas próprias áreas de produção ou nas

suas vizinhanças. Os países africanos que possuem alguma legislação apenas as aflatoxinas são contempladas. Dentre os países daquele Continente, o Marrocos possui a legislação mais avançada. Com relação Ásia/Oceania cerca de 26 países possuem legisla-

ção para micotoxinas, representando 88% da população daquela região. A Nova Zelândia, entretanto, apresenta legislação própria, com algumas diferenças em relação à da Ásia e ao norte da Austrália. Atualmente, Austrália e Nova Zelândia estão harmonizando suas legislações que incluem limites para micotoxinas exóticas, tais como o ácido agárico e as fomopsinas. Nesses extensos continentes, as legislações da China e da República Islâmica do Irã são as mais completas e detalhadas.

No continente Europeu 39 países, representando 99% da população europeia, apresentam legislações para a regulação de micotoxinas em alimentos e rações. Comparada com outras regiões do mundo, a Europa dispõe da mais completa e detalhada legislação sobre micotoxinas em alimentos. Na comunidade europeia já foram harmonizadas as legislações para

TABELA 3 - LEGISLAÇÃO PARA MICOTOXINAS EM ALIMENTOS E RAÇÕES NOS DIFERENTES CONTINENTES		
Continente	Micotoxina	Substrato/limite
África		Para todos os alimentos: B1: 5 ppb; B1+B2+G1+G2: 10 ppb
	Afl. B1 ⁽²⁾	Amendoim para exportação: B1:5 ppb
	Afl. G1 ⁽¹⁾	Amendoim e seus produtos; óleos vegetais: B1+B2+G1+G2:20 ppb
	Afl. B1+G1 ⁽²⁾	Alimentos infantis: B1:0 ppb
	Afl. M1 ⁽¹⁾	Leite fluido: M1:1 ppb
	Afl. B1+B2+G1+G2 ⁽²⁾	Rações: B1: 50 ppb
	Ocratoxina A ⁽²⁾	Produtos de amendoim como ração: B1: 50 ppb
	Patulina ⁽¹⁾	Produtos de amendoim como ingredientes para ração: B1: 300 ppb
Ásia/Oceania	Zearalenona ⁽²⁾	Amendoim, milho e sorgo: B1: 5 ppb; G1: 4 ppb
		Rações para aves: B1: B+G1: 10 ppb
		Farinha de arroz: B1: 5 ppb; G1: 4 ppb
		Todos os alimentos: B1+B2+G1+G2: 5 ppb
		Fomopsinas: 5 ppb
	Ácido agárico ⁽¹⁾	Manteiga de amendoim, nozes em geral: B1+B2+G1+G2: 15 ppb
	Afl. B1 ⁽²⁾	Nozes e seus produtos: B1+B2+G1+G2: 20 ppb
	Afl. M1 ⁽¹⁾	Castanha-do-brasil: B1+B2+G1+G2: 15 ppb
	Afl. B1+B2+G1+G2 ⁽²⁾	Arroz, óleos comestíveis: B1: 10 ppb
	Diacetoxiscirpenol ⁽¹⁾	Aveia, cevada, feijão, sorgo, trigo, outros grãos e alimentos fermentados: B1: 20 ppb
	Desoxivalenol ⁽²⁾	Leite fluido e produtos lácteos: B1: 0,5 ppb
	Fomopsinas ⁽¹⁾	Amendoim e produtos: B1+B2+G1+G2+M1+M2: 20 ppb
	Fumonissina B1 ⁽¹⁾	Todos alimentos: 30 ppb
	Fumonissina B1+B2 ⁽¹⁾	Farelo de amendoim para exportação: B1: 120 ppb
	Ocratoxina A ⁽²⁾	Rações: B1: 10 ppb
Patulina ⁽¹⁾	Manteiga de amendoim, amendoim em grão, nozes: B1+B2+G1+G2: 15 ppb	
T2 ⁽²⁾	Alimentos para crianças até 3 anos de idade: B1+B2+G1+G2: 1 ppb	
Zearalenona ⁽²⁾	Rações: B1: 1000 ppb	
	Copra em ração para vacas, porcos, marrecos, ovinos: B1+B2+G1+G2: 1.000 ppb	
	Farelos de amendoim, de gergelim, de colza, mandioca em ração de frangos: B1+B2+G1+G2: 200 ppb	

TABELA 3 - LEGISLAÇÃO PARA MICOTOXINAS EM ALIMENTOS E RAÇÕES NOS DIFERENTES CONTINENTES		
Continente	Micotoxina	Substrato/limite
América Latina		Alimentos: B1+B2+G1+G2: 20 ppb
		Amendoim com ou sem casca, cru ou tostado, pasta e manteiga de amendoim: B1+B2+G1+G2: 2 ppb
		Milho em grão, farelo de milho, farinha e sêmolos: B1+B2+G1+G2: 20 ppb
		Leite fluido : M1: 0,5 ppb
		Leite em pó: M1: 5 ppb
		Alimentos infantis: B1:0 ppb
		Leite fluido e em pó: M1: 0,05 ppb
		Produtos lácteos: M1: 0,5 ppb
		Alimentos e especiarias: B1+B2+G1+G2: 20 ppb
		Produtos de soja, amendoim, frutas secas: B1+B2+G1+G2: 30 ppb
América do Norte		Cacau em grão: B1+B2+G1+G2: 10 ppb
		Alimentos infantis industrializados: B1+B2+G1+G2: 3 ppb
		Milho e cevada: Zearalenona: 200 ppb
		Sucos de frutas: Patulina: 50 ppb
		Arroz, café, cevada e milho: Ocratoxina A: 50 ppb
		Rações: B1: 20ppb; B1+B2+G1+G2: 50 ppb
		Farinha de arroz: B1+B2+G1+G2: 5 ppb
		Alcalóides ergóticos ⁽²⁾
		Afl. M1 ⁽¹⁾
		Afl. B1+B2+G1+G2 ⁽²⁾
Europa		Alimentos: B1+B2+G1+G2: 20 ppb
		Nozes e produtos: B1+B2+G1+G2: 15 ppb
		Alimentos prontos de trigo: Desoxivalenol: 1.000 ppb
		Trigo mole: Desoxivalenol: 2.000 ppb
		Laticínios: M1: 0,5 ppb
		Rações: B1+B2+G1+G2: 20 ppb
		Rações para gado e aves: Desoxivalenol: 5.000 ppb
		Toxina HT2: 100 ppb
		Rações para porcos, novilhas e animais em lactação: Desoxivalenol: 1.000 ppb
		Toxina HT2: 25 ppb
Europa		Todos os alimentos: B1: 0 ppb
		Todos os alimentos: B1: 10 ppb
		Todos os alimentos: B1+B2+G1+G2: 5 ppb; Patulina: 50 ppb
		Alimentos para crianças e jovens: B1+B2+G1+G2: 0,05 ppb; M1: 0,05 ppb
		Leite: M1: 0,05 ppb
		Amendoim, nozes e frutas secas para consumo direto ou como ingredientes de alimentos: B1: 2 ppb; B1+B2+G1+G2: 4 ppb
		Nozes e frutas secas submetidas a seleção ou a tratamento físico: B1: 5ppb; B1+B2+G1+G2: 10 ppb
		Cereais e produtos processados para consumo direto ou como ingrediente de alimentos: B1: 2 ppb; B1+B2+G1+G2: 4 ppb
		Produtos derivados de cereais para consumo direto: Ocratoxina A: 3 ppb; Zearalenona: 100 ppb
		Cereais crus: Ocratoxina A: 5 ppb; Frutas secas: Ocratoxina A: 10 ppb
		Castanha-do-brasil: B1+B2+G1+G2: 4 ppb
		Especiarias e temperos: B1: 5 ppb; B1+B2+G1+G2: 10 ppb
		Cerveja: Ocratoxina A: 0,2 ppb
	Ervas para chás: B1: 5 ppb; B1+B2+G1+G2: 10 ppb	
	Leite in natura ou destinado à produção de produtos lácteos, e leite tratado termicamente: M1: 0,05 ppb	
	Sucos de maçã e de outras frutas: Patulina: 50 ppb	
	Complementos para rações em geral: B1: 5 ppb	
	Produtos de amendoim, algodão, babaçu, copra, palma e milho: B1: 20 ppb	
	Complementos de rações para gado, caprinos e ovinos, exceto para animais em lactação, cordeiros, cabritinhos e novilhos: B1: 50 ppb	

aflatoxinas em vários alimentos, como para aflatoxina M_1 em leite, ocratoxina A em cereais e frutos desidratados, para patulina em suco de maçã e produtos derivados de maçã, e para aflatoxina B_1 em várias rações. Ações preliminares já foram iniciadas com relação ao deoxinivalenol em cereais e em produtos derivados de cereais. Alguns países que ainda não fazem parte da comunidade européia possuem legislação ainda mais avançada que a própria comunidade.

Na América do Norte, os Estados Unidos e o Canadá possuem legislação para micotoxinas há muitos anos, e continuam aperfeiçoando os métodos de amostragem e análise. Nos dois países os limites para aflatoxinas são estabelecidos para a soma $B_1 + B_2 + G_1 + G_2$. No Canadá, além dos limites impostos para as toxinas fusarianas, existem também percentagens de tolerância para grãos danificados em espiguetas de trigo, tanto para o tipo mole quanto o tipo duro, além de limites para outros grãos. Existem, também, limites para a presença de esclerócios de *Claviceps purpurea* em várias culturas (é nos esclerócios onde se acumulam os alcalóides ergóticos). Nos Estados Unidos, existem detalhados limites de tolerância para a soma das fumonisinas B_1 , B_2 e B_3 em uma ampla variedade de produtos de milho. Esse é único país no mundo onde ocorrem limites para a soma dessas três fumonisinas.

Na América Latina, 19 países dispõem de legislação para micotoxinas, representando quase 91% da população continental. A legislação para aflatoxinas encontra-se harmonizada no Mercosul, englobando a Argentina, o Brasil, o Paraguai e o Uruguai. O Uruguai possui a mais detalhada legislação da América Latina, com limites para os alcalóides ergóticos em rações, o que é inédito em qualquer legislação no mundo.

No continente sul americano, a legislação cobre, especialmente, as seguintes micotoxinas, em alimentos e em algumas rações: aflatoxina B_1 , aflatoxinas B_1/G_1 , aflatoxinas totais ($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$), fumonisina B_1 , desoxinivalenol, ocratoxina A, patulina e a zearalenona (veja Tabela 3).

CONCLUSÃO

A contaminação de alimentos e rações por micotoxinas representa um sério problema de saúde para humanos e animais, além de se constituir em considerável obstáculo à economia de países da África, Ásia e da América Latina, nos quais a balança comercial se baseia nas exportações de *commodities*. Em virtude da presença de micotoxinas, milhões de dólares são perdidos anualmente, recursos que poderiam ser utilizados em projetos para a melhoria de vida dessas populações. A despeito dos esforços desenvolvidos desde a década de 1970, tanto por países em desenvolvimento quanto pelos países importadores, com intuito de reduzir a contaminação por micotoxinas, a situação continua ainda preocupante.

O reconhecimento dos problemas causados pelas micotoxinas nos alimentos e rações é, sem dúvida, o primeiro passo para a implementação de programas que permitam a adoção de medidas apropriadas para a prevenção e a redução do problema. Tais programas devem incluir não apenas as medidas de prevenção de ocorrência de micotoxinas em *commodities*, mas, também, o uso de métodos para sua remoção ou descontaminação. Devem, ademais, ter uma rotina de inspeção, legislação para controlar o fluxo de *commodities* contaminadas com micotoxinas no comércio nacional e internacional, bem como desenvolver atividades de informação, comunicação e, principalmente, de educação.

Na América Latina, países como a Argentina, o Brasil e o Uruguai, a despeito da escassez de recursos financeiros e humanos, têm respondido muito bem aos problemas de contaminação de micotoxinas nas *commodities* regionais. Os cientistas envolvidos nas pesquisas com essas substâncias têm produzido resultados de nível semelhante aos produzidos em países da Comunidade Europeia e da América do Norte.

Um recente artigo de compilação dos trabalhos publicados na América Latina comprova essa afirmativa.

No Brasil, de acordo com a Resolu-

ção RDC no 274, da ANVISA, alimentos para o consumo humano estão sujeitos ao limite máximo para aflatoxinas ($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) de $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ (20ppb), enquanto para leite fluido é de $M_1 = 0,5 \mu\text{g}/\text{kg}$, e para leite em pó é de $M_1 = 5,0 \mu\text{g}/\text{kg}$. Com relação a alimentos para consumo animal (matérias-primas e rações), por outro lado, a Portaria MA/SNAD/SFA no 183, do Ministério da Agricultura, estipula, para qualquer matéria-prima, para alimentação direta ou como ingrediente para rações, o limite máximo para aflatoxinas ($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) de $50 \mu\text{g}/\text{kg}$. Muito embora nossa legislação contemple apenas as aflatoxinas, cientistas brasileiros já estão, há bastante tempo, conduzindo pesquisas com outras importantes micotoxinas, como a citrinina, as fumonisinas, a ocratoxina A, a patulina, os tricotece- nos e outras menos frequentes. Falta no Brasil, entretanto, um maior rigor no cumprimento das portarias. As fiscalizações são esporádicas e os laboratórios encarregados de realizar as análises encontram-se, em sua grande maioria, desprovidos de material e de pessoal especializado. Por outro lado, as discrepâncias observadas quanto aos limites e as micotoxinas sob legislação nos países da América Latina não são muito diferentes das discrepâncias observadas mesmo para continentes com países desenvolvidos. Atualmente, tem sido observada uma tendência na harmonização das legislações em todos os continentes, bem com uma tendência à redução dos limites máximos permitidos, especialmente para as aflatoxinas. A legislação sobre micotoxinas deveria estar sempre inserida nas agendas de discussão do agronegócio, nos diferentes países. É provável mesmo que em futuro não muito distante, e em virtude do crescente intercâmbio de *commodities* entre os países, ocorra uma harmonização da legislação para micotoxinas em nível global. Convém enfatizar que a amostragem de micotoxinas nas cadeias alimentares humana e animal exige o emprego de corretas técnicas estatísticas de amostragem, sem as quais os resultados finais obtidos serão inválidos.