



UNIVERSIDADE DOS AÇORES

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**MICOTOXINAS NA ALIMENTAÇÃO E NA SAÚDE
ANIMAL E HUMANA**

Mestrado em Engenharia Zootécnica

Orlanda Cristina Leonardo Vitorino

Prof. Doutor Alfredo Borba

Angra do Heroísmo

2011

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	3
II – Revisão Bibliográfica.....	7
1 – Ensilagem.....	9
2 – Princípios da Conservação de Forragens.....	11
2.1 – Fenómenos da Conservação de Forragens.....	12
2.1.1 – Acção das Enzimas das Plantas.....	12
2.1.2 – Fermentação Láctica.....	13
2.1.3 – Fermentação Butírica.....	14
2.1.4 – Acção de Outros Microrganismos.....	15
2.2 – Perdas Ocorridas Durante a Ensilagem.....	16
2.2.1 – Perdas no Campo.....	17
2.2.2 – Perdas por Respiração.....	17
2.2.3 – Perdas por Fermentação.....	17
2.2.4 – Perdas por Efluentes.....	18
2.2.5 – Perdas por Deterioração aeróbica.....	18
2.3 – Classificação das Silagens.....	19
2.3.1 – Silagens Lácticas.....	19
2.3.2 – Silagens acéticas.....	20
2.3.3 – Silagens Butíricas.....	20
2.3.4 – Silagens Pré-Fenadas.....	21
2.3.5 – Silagens Tratadas com Aditivos.....	21
2.3.6 – Silagens Deterioradas Aerobicamente.....	23
2.3.7 – Silagens Sobreaquecidas.....	24
3 – Fungos (Leveduras e Bolores).....	24
3.1 – Leveduras.....	25
3.2 – Bolores ou Fungos Filamentosos.....	25

3.3 – Prevenção e Controlo das Micotoxinas.....	26
3.4 – Principais Factores que Afectam o Desenvolvimento dos Fungos.....	29
3.5 – Ecologia dos Fungos e Produtores Micotoxina.....	30
4 – Micotoxinas.....	32
4.1 – Aflatoxinas.....	32
4.1.1 – Ocorrência.....	32
4.1.2 – Toxicidade.....	34
4.1.3 – Sintomas nos Animais e Humanos.....	34
4.1.4 – Métodos de Detecção.....	35
4.1.5 – Prevenção.....	37
4.2 – Fumonisinias.....	38
4.2.1 – Ocorrência.....	38
4.2.2 – Toxicidade.....	41
4.2.3 – Sintomas nos Animais e Humanos.....	42
4.2.4 – Métodos de Detecção.....	42
4.3 – Zearalenona.....	43
4.3.1 – Ocorrência.....	43
4.3.2 – Toxicidade.....	44
4.3.3 – Sintomas nos Animais e Humanos.....	45
4.3.4 – Métodos de Detecção.....	45
4.4 – Tricotecenos – Deoxinivalenol/Nivalenol(vomitina) e Toxina T ₂	46
4.4.1 – Ocorrência.....	46
4.4.2 – Toxicidade.....	47
4.4.3 – Sintomas nos Animais e Humanos.....	48
4.4.4 – Métodos de Detecção.....	49
4.5 – Ocratoxina.....	49
4.5.1 – Ocorrência.....	49

4.5.2 – Toxicidade.....	50
4.5.3 – Sintomas nos Animais e Humanos.....	50
4.5.4 – Métodos de Detecção.....	51
4.6 – Citrina.....	52
4.6.1 – Ocorrência.....	52
4.6.2 – Toxicidade.....	52
4.6.3 – Sintomas nos Animais e Humanos.....	53
4.6.4 – Métodos de Detecção.....	53
5 – Resumo.....	54
VI – Discussão.....	57
VII – Referências Bibliográficas.....	59
VIII – Anexos.....	75

AGRADECIMENTOS

- Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao Sr. Professor Alfredo Borba por todo o apoio, disponibilidade e orientação para desenvolver este trabalho.
- O meu agradecimento para o Sr. Professor Moreira da Silva por ser a pessoa maravilhosa que é. Simples, humilde e um grande homem.
- Gostaria de agradecer a um amigo recente Frederico Carvalho, que sem o seu conhecimento informático, eu ainda não tinha terminado este trabalho.
- Ao meu grande amigo Dr. Vergílio Schneider
- Por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer a todos aqueles que de uma forma ou de outra contribuíram para levar este trabalho a bom termo.

I – INTRODUÇÃO

Os processos que permitem aos agricultores armazenar o excesso de forragem produzida na época de excesso, para as poderem utilizar nas épocas de escassez, mantendo o mais possível as condições nutritivas, de palatabilidade e inocuidade, tem sido utilizados desde há milénios e estudados, sobretudo, na última metade do século XX, início do século XXI. A variação das condições climáticas, principalmente a distribuição pluviométrica ao longo do ano, leva a que a produção de forragens seja sazonal, existindo épocas de elevada produção e épocas de baixa ou nula produção. Mesmo ajustando os picos de necessidade dos animais com os picos de produção de forragens, verifica-se que na generalidade as necessidades de consumo têm pequenas variações ao longo do ano, enquanto que a produção de forragens apresenta curvas muito irregulares. Assim, há a necessidade de recorrer à conservação para fazer o aproveitamento dos picos de produção, aplicando-se a forragem conservada nas épocas de maior carência (Carreiro, 1989).

O princípio da conservação é, sempre, evitar que se verifiquem perdas de nutrientes, por respiração celular e ou putrefacção, nas forragens armazenadas. As principais formas de conservação de forragens são o feno e a ensilagem. O feno é produzido parando a respiração celular por um processo de desidratação da planta forrageira, fazendo que a humidade da forragem desça a valores inferiores a 15%, valor esse que permite o armazenamento sem o desenvolvimento de bolores. Além das características normais de uma boa forrageira (palatabilidade quando seca, produtividade, perenicidade, etc.), para produzir um feno de boa qualidade, deve-se escolher uma espécie que tenha boa quantidade de folhas e caules finos e tenros, para que o processo de secagem ocorra de maneira uniforme (Calvalcante, 2003).

No processo de ensilagem, o princípio de conservação da silagem é a paragem da respiração celular pela redução do pH (aumento da acidez) provocada pela fermentação dos açúcares solúveis da planta. Sendo o milho e o sorgo as melhores culturas para a ensilagem, porque têm um elevado teor de açúcares solúveis, aliado a um baixo teor proteico, isto é uma baixa capacidade tampão, dando, normalmente, uma silagem de boa qualidade. É muito importante, evitar a existência de fungos. Que

aparecem em várias ocasiões, principalmente quando o teor de Matéria Seca é muito elevado. Os fungos desempenham um papel essencial na decomposição da matéria orgânica e têm papéis fundamentais nas trocas e ciclos de nutrientes. Muitas espécies produzem compostos bioactivos chamados micotoxinas, em que vários deles são tóxicos para os animais e para o humano (Barug *et al.*, 2003). As micotoxinas são compostos tóxicos e carcinogénicos produzidos por várias espécies de fungos que se desenvolvem em produtos agrícolas (Whitaker e tal, 2005). Sendo muito importante o controlo das condições ambientais relacionadas com o armazenamento (Averkíeva, 2009).

O impacto económico de micotoxinas inclui para além da possibilidade de perda de vida humana e animal, o aumento das necessidades de cuidados de saúde, os custos veterinários, a redução na produção animal e a perda de alimentos por eliminação dos alimentos contaminados.

Existem essencialmente dois métodos de conservação, nomeadamente, o método por via seca e o método por via húmida aos quais correspondem respectivamente, o processo de fenação e o processo de ensilagem, como os mais representativos. Independentemente do método de conservação escolhido, a conservação será tanto mais eficiente quanto menores forem as alterações biológicas e as perdas ocorridas durante o processo. Dentro de cada método de conservação existem vários processos de a fazer, estando a sua escolha dependente da conjugação de um conjunto de factores de origem ambiental, biológica, económica e tecnológica (Gervásio, 1995).

Para que as silagens não ofereçam toxicidade para os animais e de forma directa e indirectamente para os humanos, através dos produtos de origem animal, estas não devem sofrer uma fermentação aeróbica, evitando-se deste modo a proliferação de microrganismos indesejáveis. Quando isto acontece vários problemas podem ocorrer:

- Silagem muito húmida, resultando na fermentação clostrídica e causando diminuição da ingestão voluntária;
- A instabilidade aeróbica é grande, resultando no aparecimento de *Listeria monocytogenes* e provocando listerioses;
- Muito seca, através da mesma instabilidade aeróbia, resultando no desenvolvimento de bolores e micotoxinas (Seglar, 1999).

O desenvolvimento de fungos em silagens é muito frequente. Estes para além de ocasionarem perdas nutritivas, podem elaborar metabolitos secundários, as micotoxinas, que são tóxicas para os animais e para o homem.

O *Aspergillus fumigatus* é muito frequentemente isolado de silagens e pode produzir várias micotoxinas, entre elas: gliotoxina, fumitreogene B e C e fumigaclavina B e C.

O objectivo deste trabalho foi fazer uma pesquisa bibliográfica recente sobre as micotoxinas na alimentação e conseqüentemente na saúde animal e humana e do fungo *Aspergillus fumigatus* e a sua capacidade toxicológica.

II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Ensilagem

A silagem é definida como o material produzido pela fermentação controlada de forragem verde ou outros alimentos com elevado conteúdo de humidade, armazenada sob condições anaeróbicas. O processo através do qual a silagem é feita chama-se ensilagem, sendo o recipiente ou reservatório utilizado o silo (McDonald, 1981; Woolford, 1984). Este último deve fornecer à matéria-prima protecção contra a luz, ar e humidade exteriores, para se obter um produto com um mínimo de perdas da matéria seca e de valor nutritivo, sem que a sua ingestão possa ter uma acção negativa sobre o crescimento e saúde animal (Vanbelle *et al.*, 1981; Cañeque *et al.*, 1987).

A ensilagem é uma técnica que tem por finalidade conservar as forragens num estado o mais próximo do fresco possível, por meio de uma fermentação. Os processos de conservação visam parar a respiração celular, para evitar as perdas das reservas de glúcidos. A ensilagem é um processo complexo no qual um número considerável de compostos é formado, como consequência da fermentação (Krizsan *et al.*, 2007).

Os elementos nutritivos contidos nas células vegetais e parcialmente libertados no momento do corte são utilizados pelas bactérias lácticas e transformados por algumas delas em ácido láctico. Este tem o efeito de baixar o pH impedindo o desenvolvimento de outras espécies nocivas (Dunthil, 1986).

A conservação da forragem através do método da ensilagem envolve algumas transformações bioquímicas na forragem verde. As transformações bioquímicas resultam numa primeira fase da acção das enzimas das plantas, numa segunda fase da acção dos microrganismos e por último numa terceira fase que ocorre após a abertura do silo pela acção de fungos (Carreiro, 1987; citado por Gervásio, 1995).

A silagem é o produto da fermentação de hidratos de carbono (açúcares) na ausência de oxigénio, que ocorre em duas fases distintas, uma aeróbia e uma anaeróbica. O êxito ou fracasso de uma silagem depende em primeiro lugar de três parâmetros químicos da planta a ensilar, que são: o nível de matéria seca na altura do corte; a

quantidade de glúcidos solúveis disponíveis e o tipo de população microbiana existente (Serrano e Portugal Melo, 1984).

A quantidade de açúcares necessária para assegurar uma boa conservação da silagem é muito variável, dependendo de muitos factores, de destacar o teor em proteína da forragem, que determina a quantidade de ácido láctico que é necessária para se atingir o pH estável, pois embora o ácido láctico faça diminuir o pH, as proteínas e os seus produtos de degradação opõem-se a essa diminuição, a chamada capacidade tampão.

O milho apresenta-se como a planta ideal para ser ensilada, se for colhida no estado de maturação correcto, pois apresenta teores de hidratos de carbono solúveis elevados, teores de proteína baixos e matéria seca dentro dos parâmetros indicados. O ponto ideal para se fazer a silagem de milho é aquele em que o grão já está parcialmente seco. Neste ponto, é possível a produção de uma silagem de melhor qualidade fermentativa e com maior rendimento em matéria seca (www.nordeste rural,2003). Outro aspecto importante que pode comprometer a qualidade da fermentação e o valor nutritivo da silagem é o teor de humidade ou a percentagem de matéria seca (MS), na planta no momento da colheita. Plantas com baixo teor de matéria seca, produzem, quando compactadas dentro do silo, elevadas quantidades de efluentes líquidos, que escorrem para fora do silo uma alta percentagem de nutrientes, tanto para as bactérias anaeróbias, quanto para os animais que consumirão a silagem. (Jay, JM., 2005). O teor em matéria seca mais elevado tem como consequência o aumento do teor em açúcares, mas também a pressão osmótica. A pressão osmótica e a baixa do pH completam-se (Borba, 1992).

Para se efectuar o corte das forragens para conservar, é necessário ter-se em conta que o máximo de produção de matéria seca por hectare (M.S./há) corresponde a um valor nutritivo próximo do mínimo, havendo a necessidade de se estabelecer um compromisso entre a produção (M.S./ha) e o valor nutritivo relativamente elevado (Gervásio, 1995).

A conservação de forragens traduz-se numa mais valia em termos de optimização da produção animal. Deste modo, nas épocas em que a erva é muito jovem e demasiado aquosa, pode-se facultar ao animal erva conservada de uma forma seca (o feno). Por outro lado, um alimento rico em água (silagem), permitirá fornecer um complemento equilibrado nos períodos em que predomina a pastagem com baixo teor em água.

Assim sendo, pode-se equilibrar a qualidade do alimento ingerido pelos animais, através da administração de feno durante o Inverno e silagem durante o Verão (Dunthil, 1986;Franco, 1997). A composição botânica da silagem tem uma acção sobre as suas características de fermentação (Hildebrand *et al.*, 2010).

Quando as condições oferecidas pelas plantas a ensilar não são as melhores, como teor de humidade elevado, baixo teor de glúcidos fermentescíveis e elevado poder tampão, poderá recorrer-se à pré-fenação ou à utilização de aditivos (McDonald *et al.*, 1988).

2- Princípios da Conservação de Forragens

Os alimentos podem ser conservados de várias formas. O conteúdo de humidade pode ser reduzido a um nível que irá prevenir o crescimento de bactérias e fungos tanto na fenação como na desidratação artificial. Existem substâncias que podem ser adicionadas com vista a inibir o crescimento bacteriano ou um meio ácido pode ser criado originando um efeito similar. Isto em conjunto com o fluxo de ar durante a ensilagem, fornece-nos a base de produção de silagem. Por último o produto pode ser mantido a baixas temperaturas. O congelamento tem sido usado apenas para experimentação no caso da erva, devido aos seus elevados custos a técnica está longe de ser utilizada como técnica corrente nas explorações agrícolas (Holmes, 1982).

Os principais objectivos da conservação de forragem são:

- Fazer um produto que seja o mais semelhante quanto possível à matéria-prima original, em termos de valor alimentar;
- Tenha sofrido um mínimo de perdas e que seja aceitável para o animal.

É infelizmente verdade que grande parte da forragem conservada é de baixa qualidade devido ao facto da matéria-prima possuir um baixo valor alimentar podendo ser também resultado de uma metodologia de conservação ineficiente ou desapropriada (Jackson *et al.*, 1974; McDougall e Jackson, 1977).

Mesmo sendo apenas necessário uma forragem de baixa qualidade para alimentar por exemplo bovinos de carne de baixa produtividade, não é razão para aceitar um produto elaborado de forma incorrecta. No caso da produção de leite e da fase de

acabamento dos bovinos de carne, torna-se necessário administrar aos animais um produto com elevado valor alimentar. É importante que as perdas de nutrientes sejam controladas durante todos os estádios do processo, incluindo as perdas no campo, durante o armazenamento e quando a forragem é administrada aos animais. A importância relativa destas fontes de perdas dependerão da técnica de conservação, no entanto as perdas de nutrientes representam um desperdício de recursos e acrescidos custos de produção sendo desejável preservar a matéria-prima original tanto quanto possível (Holmes, 1982).

Todo o processo de conservação de alimentos, baseia-se no parar o crescimento de microrganismos que, em condições aeróbias, provocam a degradação do produto. No caso da ensilagem, o que limita a proliferação desses microrganismos é o abaixamento do pH resultante da acumulação de ácido láctico produzido por bactérias anaeróbicas. Neste processo de fermentação, há três factores fundamentais: substrato que contenha hidratos de carbono solúveis, a presença de bactérias lácticas e anaerobiose (ausência de oxigénio). Esses factores, são muito importantes a ter em conta (páginacampeira.com, 2001).

2.1- Fenómenos químicos e biológicos de uma ensilagem

2.1.1 – ACÇÃO DAS ENZIMAS DAS PLANTAS

As forragens verdes são objecto de transformações e perdas ocasionadas pela influência da respiração que se mantém enquanto existir oxigénio disponível nas células através das enzimas vegetais.

As primeiras alterações bioquímicas que ocorrem no silo são devidas à acção das enzimas das plantas ensiladas sendo estas responsáveis essencialmente pela respiração e proteólise. A forragem após o corte continua a sua actividade enzimática, transformando os hidratos de carbono da planta em dióxido de carbono, água e energia. Assim, a libertação desta energia sob a forma de calor vai provocar o aumento da temperatura no silo. No entanto, se esta for muito elevada poderá provocar uma destruição destas mesmas enzimas através da sua desnaturação.

Esta fase aeróbia do silo é sensível pois diminui o conteúdo de hidratos de carbono solúveis disponíveis para a fermentação láctica que é o tipo de fermentação desejável para a realização de uma boa silagem. Nestas primeiras fases de ensilagem verificam-se algumas alterações nos hidratos de carbono solúveis, estes compostos que representam cerca de 5 a 15% da matéria seca das plantas forrageiras são rapidamente hidrolizáveis em glicose e frutose, que serão as principais fontes de energia. Também se verificam modificações na concentração do malato enquanto que a concentração do acetato aumenta. As proteínas que representam cerca de 75 a 90% do azoto total das plantas também podem ser afectadas pela actividade enzimática das plantas (a percentagem de azoto não proteico é cerca de 10 a 25%).

As quantidades de oxigénio existente num silo variam com a espécie vegetal que é ensilada, tendo em conta o tecido histológico, o calçamento, a dimensão do corte, etc. Para limitar esta actividade enzimática de modo a não perigar o valor nutritivo do silo, é necessário isolá-lo hermeticamente para que o oxigénio nele existente seja totalmente consumido nas primeiras semanas (McDonald *et al.*, 1988).

2.1.2 – FERMENTAÇÃO LÁCTICA

Quando as condições de anaerobiose e a concentração em hidratos de carbono solúveis são as mais desejáveis desencadeia-se a fermentação láctica. As bactérias que a efectuam (*Lactobacillus*) são microrganismos não esporulados, gram-positivos, anaeróbios estritos e facultativos, sendo a sua temperatura óptima de desenvolvimento de 25 a 30°C.

Estas bactérias multiplicam-se rapidamente para construir em menos de 8 horas a quase totalidade da flora do silo, logo que as condições sejam favoráveis para o seu desenvolvimento, ou seja, inexistência de oxigénio e presença de grande quantidade de hidratos de carbono. As bactérias anaeróbias facultativas transformam parte dos açúcares em ácido acético e CO₂. Esta fermentação contribui para o início da acidificação do meio.

A acção destes microrganismos é de curta duração pois são muito sensíveis ao abaixamento do pH provocado pelo desenvolvimento rápido da flora láctica cessando

mesmo a sua actividade a pH 4,5. Por fim, perduram somente as bactérias anaeróbias estritas, constituídas essencialmente por bactérias lácticas as quais são um grupo de bactérias mais importante para a ensilagem (McDonald *et al.*, 1988).

Estas bactérias podem dividir-se em duas categorias: as homofermentativas e as heterofermentativas. Ambas transformam os açúcares em ácido láctico, contudo, com rendimentos diferentes.

As homofermentativas têm um alto rendimento originando praticamente só ácido láctico, por outro lado, as heterofermentativas originam além do ácido láctico outros produtos apresentando assim, um menor rendimento (Carreiro, 1987, citado por Gervásio, 1995).

O ácido láctico estabiliza a forragem conservando-a ao fazer baixar o pH, mas as proteínas e os produtos da sua degradação opõem-se a este poder de acidificação através do seu poder tampão.

Ao elevar-se o conteúdo de proteínas é necessário elevar também a quantidade de ácido láctico de forma a alcançar o pH desejado (McDonald *et al.*, 1988)

2.1.3 – FERMENTAÇÃO BUTIRICA

As fermentações que dão origem a grandes perdas no valor nutritivo do silo são do tipo butírico, produzidas por microrganismos anaeróbios do género *Clostridium* que se encontram geralmente na terra sob a forma de esporos e utilizam para seu crescimento açúcares, ácido láctico e proteína.

Nos primeiros dias após o ensilamento, se o silo não ficar bem fechado inicia-se o desenvolvimento dos esporos, contribuindo assim para o aumento exponencial bacteriano.

A fermentação dos aminoácidos poderá ser feita de três formas:

- Desaminação, na qual a amónia é libertada deixando um resíduo de ácido orgânico;
- Descarboxilação, conduzindo à formação de aminas que são extremamente tóxicas para os animais;
- Oxidação/Redução, na qual um aminoácido é oxidado enquanto o outro é reduzido.

Os aminoácidos normalmente oxidados são: alanina, histidina, isoleucina, leucina,

fenilalanina, serina, triptófano e tirosina. Os aminoácidos reduzidos são: arginina, ácido aspártico, cisteína, glicina, metionina, ornitina, prolina, triptófano e tirosina (McDonald *et al.*, 1988).

A oxidação dos aminoácidos é convertida em ácidos gordos voláteis com menos um carbono que o composto original, nos dois tipos de reacção, excepto a prolina e a amónia que são libertadas. Os açúcares e o ácido láctico são utilizados como fonte de energia para formar o ácido butírico, o dióxido de carbono e o hidrogénio.

Conclui-se que o crescimento destas bactérias (Clostrídicas) é de todo indesejável devido às grandes perdas que provoca no valor nutritivo das silagens, assim como na percentagem de matéria seca ingerida pelos animais, conduzindo a menores rendimentos das explorações. Assim sendo, o seu controle poderá ser feito através de uma diminuição rápida do pH na fase inicial da fermentação.

Caso não seja possível aumentar o teor de matéria seca, devem-se utilizar aditivos, uma vez que estas bactérias têm uma grande preferência por elevados índices de humidade (Baião, 1993).

2.1.4 – ACÇÃO DE OUTROS MICRORGANISMOS

Outro tipo de fermentações devidas a microrganismos tem lugar geralmente depois da abertura do silo e são devido à presença de bolores e leveduras.

O seu desenvolvimento é tanto mais importante quanto maior é o conteúdo em açúcares da silagem.

Sobre estes microrganismos não se pode actuar através da alteração do pH, uma vez que estes são resistentes a valores baixos do mesmo (os fungos desenvolvem-se a pH de 2,5 – 3,5 e as leveduras a pH de 1,3 – 2,5).

O seu crescimento diminui com a presença do ácido propiónico ou butírico, pelo que se encontram em menores quantidades em silagens de baixa qualidade, originando podridão, sendo facilmente controlados evitando a entrada de ar nos silos.

As leveduras são responsáveis pela deterioração da silagem exposta ao ar não tendo estas, de uma maneira geral, grande importância porque formam um pequeno grupo. Por vezes, o seu crescimento não é totalmente indesejável porque alguns álcoois

formados têm uma acção conservadora. Por outro lado, a fermentação por leveduras faz com que haja perdas de matéria seca na forma de dióxido de carbono e pela volatilização dos álcoois formados.

As leveduras são indesejáveis porque estão associadas a deteriorações aeróbias do silo e por outro lado, competem com as bactérias lácticas em relação aos açúcares que fermentam para produzir principalmente o etanol.

Estas, apesar de não serem inibidas pela fermentação láctica, são pelos ácidos gordos voláteis.

Os bolores são microrganismos que existem apenas nas zonas em contacto com o ar, como seja, nas paredes laterais do silo e à superfície do mesmo. Estes são bastante prejudiciais, uma vez que decompõem os açúcares e o ácido láctico através da via respiratória, hidrolizam e metabolizam a celulose e os compostos orgânicos originando perdas elevadas de matéria seca, levando a uma perda da qualidade da silagem.

Produzem micotoxinas, que originam micotoxicoses nos animais, provocando desequilíbrios na sanidade dos efectivos das explorações.

2.2 – Perdas Ocorridas Durante a Ensilagem

O objectivo da conservação de forragens é preservar tanto quanto possível os nutrientes da forragem original e em particular a proteína e energia. Contudo, na ensilagem, tal como noutros processos e especialmente naqueles onde a natureza tem papel importante, estão implícitas perdas que são variáveis na sua magnitude. Visto que as perdas estão geralmente confinadas à fracção digestível da forragem, a depreciação no valor nutritivo pode ser considerável quando as perdas de MS são altas (Woolford, 1984, citado por Reis, 1994).

A maioria das perdas de MS e de nutrientes durante a ensilagem devem-se à respiração da planta, à actividade microbiana indesejável durante a fermentação, ao efluente e à oxidação, originada pela entrada de ar resultante de uma selagem deficiente ou após a abertura do silo (Gordon, 1989).

2.2.1 – PERDAS NO CAMPO

Se o corte e a ensilagem se realizam no mesmo dia, as perdas são muito escassas, inclusive depois de um período de 24 horas, as perdas não superam 1 a 2% da matéria seca. Se demora mais de 48 horas até ensilar, podem produzir-se grandes perdas de nutrientes, que dependem das condições climáticas. Normalmente, estas perdas são da ordem dos 6% depois de um período de pré-secagem de 5 dias e de 10% depois de 8 dias no campo. Os nutrientes mais afectados são os hidratos de carbono solúveis, assim como as proteínas que se hidrolizam com formação de aminoácidos (McDonald, 1988).

2.2.2 – PERDAS POR RESPIRAÇÃO

Enquanto prevalecem no silo condições aeróbias a respiração das células das plantas e da flora aeróbia continuará, o que resulta numa desassimilação dos hidratos de carbono em CO₂ e H₂O. Mesmo na presença de baixas concentrações de oxigénio, os microrganismos aeróbios continuam a sua acção. Estes microrganismos podem tolerar condições em que o oxigénio representa apenas 0,5% do volume da atmosfera do silo. A respiração não conduz somente a uma depleção dos açúcares mas também resulta no aumento da temperatura no silo. As perdas por respiração são maiores quando a forragem tem um baixo teor em matéria seca e quando a temperatura ambiente é alta (Reis, 1994).

2.2.3 – PERDAS POR FERMENTAÇÃO

Durante a fermentação têm lugar notáveis trocas bioquímicas, especialmente dos hidratos de carbono solúveis e das proteínas, as perdas globais da matéria seca e energia subsequente à actividade das bactérias ácido lácticas, são baixas.

Considera-se que as perdas de matéria seca são inferiores a 5% e as perdas de energia bruta, devido à formação de compostos de alta energia como o etanol, são inclusive menores.

Nas fermentações por clostrídeos, como consequência da formação de gases, tais como dióxido de carbono, hidrogênio e amoníaco, as perdas de nutrientes podem ser muito maiores do que nas fermentações lácticas (Reis, 1994).

2.2.4 – PERDAS POR EFLUENTES

A maioria dos silos permite a saída de líquidos que arrastam nutrientes solúveis.

As quantidades produzidas dependem em elevado grau do conteúdo inicial de humidade da forragem, aumentando logicamente se o silo não for coberto, penetrando a chuva.

Os líquidos contêm açúcares, compostos nitrogenados solúveis, minerais e ácidos produzidos na fermentação. Todas estas substâncias têm grande valor nutritivo.

As forragens ensiladas com níveis de matéria seca da ordem dos 150g/kg podem sofrer perdas até 10%, enquanto as forragens pré-fenadas até níveis de 300g MS/kg produzindo pouca quantidade de líquidos se é que os produzem (McDonald *et al.*, 1988).

2.2.5 – PERDAS POR DETERIORAÇÃO AERÓBIA

Estas perdas ocorrem à superfície e lados do silo durante o armazenamento e após a abertura do silo. As perdas superficiais são mais frequentes nos silos trincheiras, sendo uma das principais fontes de perdas de matéria seca nos silos das explorações agrícolas.

A intensidade de deterioração está relacionada com a eficiência com que o silo é selado. Se no final da ensilagem o silo for coberto com uma folha de plástico e esta for coberta com um material que faça pressão (por exemplo terra e/ou pneus) as perdas superficiais podem ser virtualmente eliminadas (Reis, 1994).

2.3 – Classificação das silagens

Inicialmente, as fermentações em silos eram classificadas em cinco tipos: láctica, butírica, acética, pré-ferada e com conservantes químicos (aditivos). Segundo McDonald *et al.*, (1981, 1988) temos outro tipo que é o das silagens deterioradas aerobicamente e posteriormente referiram outro tipo, o das silagens sobreaquecidas.

2.3.1 – SILAGENS LÁCTICAS

São as silagens mais comuns, produzidas a partir de forragens com elevada concentração em hidratos de carbono solúveis, sendo o processo de fermentação dominado pelas bactérias ácido lácticas (McDonald, 1981). Podem incluir-se nesta categoria silagens de forragens com baixa concentração de hidratos de carbono solúveis às quais se adicionou um produto estimulante da fermentação láctica (Rego, 1988).

A fermentação láctica tem como resultado uma silagem com pH baixo entre 3,7 e 4,2, uma elevada concentração de ácido láctico entre 80 a 120g/kg MS e pequenas concentrações de ácido fórmico, acético, propiónico e butírico, encontrando-se ainda presentes concentrações variáveis de manitol e etanol como resultado da actividade das bactérias heterofermentativas e das leveduras (McDonald *et al.*, 1988).

Nas silagens de milho, o teor em ácido láctico é geralmente mais baixo do que o de silagens de erva bem conservadas devido ao elevado teor de matéria seca e ao baixo poder tampão da forragem de milho (McDonald, 1981).

O poder tampão das silagens lácticas é alto (3 a 4 vezes o da forragem utilizada) devido à formação dos ácidos na fermentação. A concentração de hidratos de carbono solúveis que permanecem depois da fermentação é muito baixa geralmente inferior a 2% (McDonald, 1981).

O alto teor em azoto não proteico solúvel juntamente com os baixos níveis de açúcares destas silagens podem dar lugar a altas concentrações de amoníaco no rúmen o que conduz a uma má utilização do azoto da silagem.

Uma desvantagem destas silagens é a menor ingestão de matéria seca (I.M.S.) em comparação com a forragem verde ou desidratada oferecida *ad libitum*.

2.3.2 – SILAGENS ACÉTICAS

Em condições pouco definidas as bactérias produtoras de ácido acético podem dominar a fermentação. Estas silagens são raras, quando o produto utilizado são forragens das zonas temperadas, mas mais comuns quando se utilizam forrageiras tropicais (McDonald, 1981).

As silagens acéticas caracterizam-se por teores elevados em ácido acético e baixos em ácido láctico, por um pH ligeiramente superior ao das silagens lácticas e também por uma maior desaminação dos aminoácidos, sendo as outras características semelhantes às das silagens lácticas (McDonald *et al.*, 1988).

O seu valor nutritivo, embora a correlação negativa entre o ácido acético e a ingestão de matéria seca sugira que a ingestão destas silagens é baixa (McDonald, 1981).

2.3.3 – SILAGENS BUTIRICAS

As silagens butíricas também conhecidas por clostrídicas, formam-se por ausência de flora láctica e de hidratos de carbono solúveis nas concentrações adequadas na forragem verde, o pH baixa lentamente e mantêm-se em valores superiores a 4,2, criando-se condições favoráveis à proliferação de bactérias clostrídicas (Reis, 1994).

Estas silagens caracterizam-se pelo facto dos hidratos de carbono solúveis e o ácido láctico se converterem em ácido butírico, encontrando-se geralmente ácido acético em grandes quantidades (McDonald, 1981). Devido à intensa hidrólise dos aminoácidos provocada pelos clostrídeos, as silagens deste tipo contém altas concentrações de N-NH₃ geralmente superiores a 20% do N.T. (McDonald *et al.*, 1988). Segundo McDonald (1981) produzem-se aminas como consequência da descarboxilação dos aminoácidos.

A utilização dos compostos azotados e da ingestão de matéria seca pelos ruminantes é baixa verificando-se uma correlação negativa entre a ingestão e a concentração de N-NH₃ na silagem (McDonald *et al.*, 1988).

2.3.4 – SILAGENS PRÉ-FENADAS

A desidratação de uma forragem limita a fermentação tanto mais, quanto maior for o teor de matéria seca. Nestas silagens a actividade dos clostrídeos é mínima enquanto que o crescimento da flora ácido láctica dá-se até valores de cerca de 50% de matéria seca (McDonald *et al.*, 1988).

Estas silagens caracterizam-se por um pH mais elevado quando comparado com o de silagens lácticas de corte directo (Rego, 1988). Como consequência da restrição da fermentação as silagens pré-fenadas apresentam concentrações carateristicamente baixas em ácidos gordos voláteis (acético e butírico), álcoois e em N-NH₃ (McDonald *et al.*, 1988).

Os teores em hidratos de carbono solúveis residuais são mais elevados do que nas silagens lácticas. Os teores em ácido láctico são mais baixos em comparação com as silagens lácticas (McDonald, 1981).

A pré-fenação não evita a proteólise mas reduz consideravelmente a desaminação dos aminoácidos e melhora a utilização dos compostos azotados no rúmen (McDonald *et al.*, 1988). Um dos efeitos mais importantes da pré-fenação é a melhoria da ingestão de matéria seca, para além disso a pré-fenação tende a diminuir a digestibilidade da silagem apesar de uma redução no conteúdo em fibra.

As vantagens do processo estão ligadas a uma maior oportunidade de êxito na conservação de forragens difíceis de ensilar (com baixo teor em hidratos de carbono solúveis) sem o recurso a aditivos e a uma diminuição da perda de nutrientes solúveis por efluentes, que é praticamente inexistente a partir de 30% de matéria seca (McDonald, 1981).

2.3.5 – SILAGENS TRATADAS COM ADITIVOS

Os aditivos utilizados nas silagens podem classificar-se em dois grandes grupos: estimulantes, como inóculos e açúcares, que estimulam a multiplicação das bactérias ácido lácticas e inibidores como os ácidos e o formaldeído que inibem parcial ou totalmente o crescimento microbiano.

Estimulantes – existem uma série de inóculos comerciais que contêm cultivos liofilizados de bactérias ácido lácticas homofermentativas. A maioria contém *Lactobacillus plantarum* e por vezes outros microrganismos adequados como o *Pediococcus acidilactici*. O perfeito controlo da fermentação ao usar estes inóculos depende de uma série de factores como o grau de inoculação, que deve ser no mínimo 10^5 (sendo preferível 10^6) microrganismos/g de forragem seca e a existência de um nível adequado de hidratos de carbono fermentáveis. O rápido domínio da fermentação pelas bactérias homoláticas, permite o uso mais eficiente dos hidratos de carbono hidrosolúveis de modo que os níveis destes na forragem são críticos, aumentam as possibilidades de obter uma silagem láctica bem fermentada.

Os melaços, subproduto da indústria açucareira, foi um dos primeiros aditivos usados em silagens como fonte de açúcares. Este subproduto, apresenta um conteúdo em hidratos de carbono hidrosolúveis da ordem de 700g/kg MS, havendo-se comprovado que o seu uso faz aumentar os conteúdos em matéria seca e ácido láctico assim como baixar o PH e os níveis de amoníaco nas silagens tratadas (McDonald *et al.*, 1988).

Inibidores – como inibidores potenciais da fermentação, usam-se numerosos compostos químicos, no entanto poucos são aceites comercialmente. Os ácidos, geralmente os sulfúricos e o clorídrico, adicionam-se à forragem durante a ensilagem, em quantidade suficiente para baixar o pH a menos de 4. Nos últimos anos o ácido fórmico tem substituído os ácidos minerais, aceitando-se como aditivo devido ser menos corrosivo que os ácidos minerais. O produto comercial mais usado contém 85% de ácido fórmico, sendo aplicado sem diluição. A dose recomendada é de 2,7kg/ton. de forragem fresca. Aplicado na erva vai baixar o pH até aproximadamente 4,8. Não se produz a inibição total do crescimento microbiano e tem lugar uma certa fermentação ácido-láctica. Para inibir as bactérias ácido-lácticas, recomenda-se utilizar uma dose 3 a 4 vezes superior, sendo maiores as quantidades necessárias para forragens com maior conteúdo em humidade. Estão comprovados os benefícios do ácido fórmico sobre as características de fermentação das forragens difíceis, de baixo conteúdo em hidratos de carbono, como as leguminosas e as gramíneas. Também se tem obtido melhorias nos rendimentos dos animais e na ingestão de matéria seca.

Mais recentemente tem-se prestado atenção ao uso de formaldeído em solução de 40% que se aplica só ou com melhores resultados com algum ácido como o sulfúrico ou o fórmico. Infelizmente, o nível de suplementação com formaldeído resulta pouco. Se se aplica uma concentração demasiado alta, afecta-se a actividade microbiana normal do rúmen, o que reduz a digestibilidade e a ingestão de matéria seca. O nível de incorporação óptimo, varia com a espécie vegetal e o conteúdo em proteína, no entanto não deve superar os 50g de formaldeído/kg de proteína (McDonald *et al.*, 1988).

2.3.6 – SILAGENS DETERIORADAS AEROBICAMENTE

A contínua infiltração de ar no silo, durante o período de armazenamento e/ou a abertura do silo, facilita o crescimento de microrganismos aeróbios que hidrolizam a matéria orgânica até se obter um material pútrido indesejável para a alimentação animal (McDonald *et al.*, 1988).

Inicialmente, os componentes solúveis das silagens como os ácidos orgânicos, álcoois e açúcares são oxidados. Contudo, uma exposição contínua ao ar conduzirá à destruição de outros componentes mais estáveis como os polissacáridos da parede celular, devido à acção das leveduras e bactérias e mais tarde também aos bolores (McDonald, 1981).

Quando se restringe a fermentação mediante a pré-fenação ou adição de produtos químicos, as silagens são mais propensas à deterioração por fermentação aeróbica do que quando existiu actividade da flora produtora de ácido láctico ou dos clostrídeos (McDonald *et al.*, 1988). Segundo estes autores, a presença dos ácidos propiónico e butírico melhora a estabilidade destas silagens em presença do ar.

Um aumento dos níveis de N-NH₃, que ocorre durante a deterioração, resulta também numa menor utilização do N da silagem (McDonald, 1981). Segundo este autor, o crescimento de bolores pode resultar, como já foi referido, na formação de toxinas que podem ser potencialmente letais.

2.3.7 – SILAGENS SOBREAQUECIDAS

Estas silagens produzem-se a partir de materiais excessivamente secos e ensilados geralmente em silos monte ou trincheira sem um calçamento adequado (McDonald *et al.*, 1988).

A temperatura óptima durante a fermentação de uma silagem láctica varia entre os 25-30°C e de uma butírica entre os 35-40°C. O aquecimento excessivo constitui um problema das silagens com pouca humidade, as quais não são fáceis de compactar bem de forma a excluir o oxigénio (McDonald, 1981).

Se a temperatura da massa ensilada ultrapassa os 55°C a digestibilidade da proteína diminui (McDonald *et al.*, 1988). Segundo estes autores, silagens sobreaquecidas de cor parda escura ou inclusivamente negras, podem ter uma boa ingestão pelos animais, embora sejam de baixo valor nutritivo devido à excessiva oxidação dos nutrientes solúveis.

3 - Fungos (Leveduras e Bolores)

Os fungos são seres eucariotas e heterotróficos que podem desenvolver-se como seres unicelulares (leveduras) ou como colónias filamentosas multicelulares, os bolores. São abundantes no solo, na vegetação e na água, onde se desenvolvem em material vegetal em degradação. Obtêm nutrientes para o seu crescimento secretando enzimas extracelulares (proteases, lipases, amilases, celulasas) que degradam complexos orgânicos moleculares em monómeros simples que são absorvidos através das suas membranas celulares. As paredes dos fungos contêm uma mistura de componentes fibrilares e amorfos. Os componentes fibrilares incluem citrina e celulose, o que confere rigidez às paredes. Por outro lado, os componentes amorfos incluem proteínas e glucanos (Deacon, 1980).

A maioria dos fungos, são aeróbios estritos (requerem oxigénio para se desenvolverem), enquanto outros, incluindo uma série de leveduras e alguns fungos filamentosos, podem desenvolver-se sob condições anaeróbias, obtendo assim energia

suficiente para o seu crescimento fermentativo (Deacon, 1980 citado por McDonald et al., 1991).

O crescimento de certos bolores, como o *Aspergillus* e *Fusarium* nas silagens, podem produzir micotoxinas que são nocivas para os animais e para o homem (Muck, 1988).

3.1 – Leveduras

A presença de leveduras na silagem foi observada pela primeira vez em 1932 por Rushman e Graf. Embora a sua importância tenha sido ignorada até 1964, quando Beck e Gross demonstraram que as leveduras desenvolvem um papel importante na deterioração da silagem exposta ao ar (McDonald, 1981) e é também conhecido que não são inibidas pelas condições ácidas (Woolford, 1984).

Segundo Muck (1988) as leveduras utilizam vários substratos, mas os mais importantes são os hidratos de carbono rapidamente degradáveis, ácidos orgânicos e proteínas. Os hidratos de carbono e os ácidos orgânicos são transformados, o que implica perdas de matéria seca e energia com produção de calor.

As silagens de milho, as silagens de erva tratadas com ácido fórmico e as silagens nas quais a fase aeróbica inicial é prolongada, apresentam normalmente grande número de leveduras (McDonald, 1981).

O número de leveduras aumenta normalmente durante a pré-fenação, devido não só às condições favoráveis de crescimento mas também como resultado da contaminação do solo durante o processo da ensilagem (Woolford, 1984; Henderson *et al.*, 1972; Honing e Woolford, 1980).

3.2 – Bolores ou Fungos Filamentosos

Segundo Woolford (1984) pensa-se que os bolores não têm significado na fermentação da silagem, embora seja aceite que eles contribuem para o desperdício, à superfície e dos lados, quando o silo não é selado ou é selado deficientemente.

Quando a silagem é bem preservada, isto é, pH baixo e anaerobiose, associado a boas condições do silo, não se verifica crescimento fúngico, estando este crescimento geralmente associado apenas a áreas de silagem expostas ao ar, como nos lados e à

superfície do silo. A presença de fungos na silagem é indesejável já que eles degradam não só açúcares e o ácido láctico como também hidrolizam e metabolizam a celulose e outros componentes da parede celular (McDonald, 1981).

Finalmente, o crescimento de certos bolores (por exemplo, certas espécies de *Fusarium* e *Aspergillus*) nas silagens podem produzir micotoxinas, que são nocivas para os animais (Muck, 1988).

As leveduras e *Bacillus* são mais vulgarmente encontrados em silagens de milho sendo responsáveis pela sua deterioração aeróbia. Por outro lado, os bolores parecem ser os principais responsáveis pela deterioração de silagens de erva expostas ao ar (McDonald, 1981).

3.3 - Prevenção e controlo de Micotoxinas

Os fungos não podem crescer (ou micotoxinas serem produzidas) em alimentos devidamente secos. Por isso a secagem eficiente dos produtos e a sua conservação sem humidade é uma medida eficaz contra o crescimento de fungos e a produção de micotoxinas. Seguir as boas práticas de ensilagem, nomeadamente ter em conta o teor de matéria seca e o armazenamento, fazendo uma boa compactação e fechar muito bem o silo.

- Usar aditivos, sejam eles estimulantes (inoculantes e enzimas) ou inibidores da fermentação (ácido propiónico, acético, cítrico e sórbico) quando a silagem de milho apresenta um teor de matéria seca muito baixo (<22%) ou muito alto (>35%) ou quando a ensilagem ocorre com temperaturas elevadas. Nas silagens de erva deverá usar-se sempre aditivos.

- Limpar os silos antes da colheita da forragem

- Inspeccionar frequentemente os silos e os rolos, se houver buracos, tapá-los e consumir logo que possível essa silagem.

- Depois de abertos os silos, consumir diariamente uma fatia de 10 cm pelo menos e retirar apenas a silagem necessária para aquela refeição. O material utilizado para desensilar deve cortar e não arrancar a silagem para evitar a entrada de ar no silo.

- No caso de silagem feita em rolo, depois de aberto, o rolo deve ser consumido num período máximo de 2 dias. Desta forma evita-se a deterioração da silagem.

- Os alimentos secos, como os concentrados e fenos, devem ser armazenados com baixo teor de humidade (<14%) e protegidos para permanecerem secos. O arejamento dos concentrados é importante, pois reduz a migração de humidade e mantém os alimentos em boas condições. Caso não seja possível manter estas condições, usar um aditivo como ácido propiónico, ácido acético ou ácido sórbico.
- Limpar e desinfetar frequentemente os locais de armazenamento dos alimentos concentrados, principalmente os silos.
- Limpar diariamente a manjedoura.
- Limpar os equipamentos usados na colheita, armazenamento e distribuição dos alimentos imediatamente após serem usados (BIS, 2011)).

Para além do risco para a saúde, as perdas económicas e as implicações das micotoxinas são enormes. Muitos países desenvolvidos já perceberam que a redução dos níveis de micotoxinas em alimentos não só reduz os encargos financeiros sobre os cuidados de saúde, como trás vantagens no comércio internacional como as exportações para outros mercados internacionais (Schwarzer, 2009).

As toxinas produzidas por fungos filamentosos são denominadas de micotoxinas. As micotoxinas, são compostos químicos venenosos produzidos por certos fungos. São metabólitos secundários, aparentemente sem qualquer função no metabolismo normal dos fungos. Elas são produzidas, ainda que não exclusivamente, à medida em que o fungo atinge a maturidade. São moléculas um tanto quanto diferentes, com estruturas que variam de simples anéis heterocíclicos apresentando peso molecular de até 50 Da, a grupos de 6 a 8 anéis heterocíclicos irregularmente dispostos e com peso molecular total >500 Da e que não apresentam imunogenicidade (FAO, 2003). Estudos têm revelado a existência de pelo menos cerca de 400 micotoxinas diferentes (Betina, 1984). Em virtude da diversidade da sua estrutura química, das origens da sua biossíntese, dos seus amplos efeitos biológicos e de serem produzidas por uma enorme variedade de espécies fúngicas. Alguns médicos poderiam denominá-las de acordo com as doenças causadas no homem, enquanto que os micologistas as classificam pelo nome do fungo produtor, tais como toxinas de *Aspergillus*, toxinas de *Penicillium*, toxinas de *Fusarium*, etc. (Bennet e Klick, 2003).

As micotoxinas podem entrar nas cadeias alimentares humana e animal por meio de contaminação directa e indirecta. A contaminação indirecta de alimentos e rações ocorre quando um ingrediente qualquer foi previamente contaminado por um fungo tóxico e mesmo que o fungo tenha sido eliminado durante o processamento, as micotoxinas ainda permanecem no produto final. A contaminação directa, ocorre quando o alimento ou a ração, é contaminado por um fungo tóxico, com posterior formação de micotoxinas. Sabe-se que a maioria dos alimentos e rações pode permitir o crescimento e o desenvolvimento de fungos tóxicos, tanto durante a produção, quanto durante o processamento, o transporte e o armazenamento (Frisvad e Samson, 1992). A ingestão por micotoxinas por seres humanos ocorre principalmente pela ingestão de produtos vegetais contaminados, bem como pelo consumo de produtos derivados dos alimentos, tais como leite, queijo, carnes e outros produtos animais (Smith *et al.*, 1995).

São regularmente encontrados em alimentos e rações para os animais. A contaminação das matérias-primas e dos alimentos compostos para animais pelos fungos é um problema grave para as explorações pecuárias, causando avultados prejuízos sanitários e conseqüentemente económicos. Esta contaminação, encontra-se associada à má qualidade das matérias-primas ou ao armazenamento mal acondicionado destes ou dos próprios alimentos compostos. Os alimentos podem ser contaminados antes, durante ou após a colheita, durante o armazenamento, na transformação ou durante a distribuição aos animais.

A completa avaliação da qualidade de um alimento deve ter em conta, para além dos aspectos nutritivos, estas substâncias potencialmente tóxicas que podem diminuir a sua qualidade.

Sabemos que as micotoxinas podem estar presentes nas silagens, nos fenos, nas palhas e nos alimentos concentrados usados na alimentação de vacas leiteiras. Quando ingeridas acima de determinados limites, as micotoxinas têm impacto negativo na produção de leite, pois provocam alterações patológicas nos animais. Em situações extremas, causam toxicidade, mas o mais comum é causarem depressão do sistema imunitário, o que aumenta a susceptibilidade às doenças (inclusive mamites) e conseqüente quebra de produção (Etzel R.A., 2002. Mycotoxins. J. Am. Assoc. 287: 425-427).

A ocorrência das micotoxinas em alimentos e derivados não é um problema apenas de países em desenvolvimento. As micotoxinas afectam o negócio de muitos países, interferindo ou até mesmo impedindo a exportação, reduzindo a produção animal e agrícola e em alguns países, afecta também a saúde humana (Jelinek *et al.*, 1989; Miller, 1995; Leung *et al.*, 2006).

3.4 - Principais factores que afectam o desenvolvimento dos fungos

- **Teor de humidade:** a maioria dos fungos requer uma actividade hídrica ou seja a quantidade de água disponível para o desenvolvimento fúngico depois de estabelecido o equilíbrio hídrico no sistema (meio ambiente alimento), acima de 0.62, sendo este valor muito variável. Os valores de Aw (disponibilidade de água) necessários para o crescimento fúngico variam em função de substrato e da temperatura. Desta forma, uma boa secagem dos alimentos concentrados e fenos e boas condições de armazenamento previnem muitos problemas.

- **Temperatura:** os fungos podem desenvolver-se num intervalo de temperaturas, sendo aqueles designados por *Aspergillus* os que requerem temperaturas elevadas e o *Fusarium* aquele que se desenvolve a temperaturas mais baixas. A temperatura óptima para o desenvolvimento fúngico ronda os 25°C, existindo no entanto espécies de fungos que crescem a 0°C como o *Penicillium expansum* e outras que crescem a 50°C como o *Aspergillus fumigatus*.

- **Quantidade de oxigénio e acidez (pH) do meio:** o intervalo óptimo de crescimento situa-se entre 2 e 7.5, suportando os fungos melhor o meio ácido. Em alimentos húmidos, como a silagem, o crescimento dos fungos depende da quantidade de oxigénio e do pH, pois a maioria dos fungos são aeróbios (precisam de oxigénio) e as condições de anaerobiose (falta de oxigénio) e baixo pH limitam o seu desenvolvimento.

- **Composição do substrato:** sob ponto de vista nutricional os fungos não são exigentes, nutrem-se dos micro-elementos existentes no substrato onde se desenvolve. Logo, a composição do substrato tem muita importância para a produção de micotoxinas.

- **Integridade do grão:** os grãos intactos estão fisicamente protegidos para serem utilizados como fonte de energia ou de azoto pelos fungos. Qualquer dano causado na colheita, por insectos durante o armazenamento, a moagem ou o descasque, são factores que facilitam o desenvolvimento de fungos.
- **Potencial de oxi-redução (O₂/CO₂):** a maioria dos fungos são aeróbios, podendo no entanto, viver em ambientes de microaerofilia. A presença de O₂ e CO₂ pode reduzir a produção de aflatoxinas, mas só se consegue a redução do crescimento de fungos e da produção de micotoxinas com níveis inferiores a 0.2% de O₂.
- **Presença do esporo do fungo:** para que haja fungos tem de haver esporos (a “semente” do fungo) transportados no ar, pelos insectos e por outros meios.
- **Factores biológicos:** a presença de insectos, ácaros e roedores actua como agente de disseminação da microflora (Cleveland *et al.* 2003).

3.5 - Ecologia dos fungos e produtores Micotoxina

Os fungos que produzem micotoxinas, dividem-se, de modo geral, em dois grupos: os fungos que atacam antes da colheita, chamados fungos de campo, e aqueles que ocorrem somente após a colheita, chamados fungos de armazenamento.

Há três tipos de fungos tóxicos no campo:

- Agentes patogénicos de plantas, como *F. graminearum* (*deoxinivalenol*, *nivalenol*)
- Fungos que crescem em plantas senescentes, como *F.moniliforme* (fumosinas) e *A. flavus aflatoxina*
- Fungos que inicialmente surgem na planta antes da colheita e predispõem o produto a contaminação de micotoxina depois da colheita, como a *P. verucossum* (ocratoxina) e a *A. flavus aflatoxina*

As espécies *Aspergillus* e *Fusarium* são provavelmente os mais significativos fungos de campo, produtores de micotoxinas (www.fao.org/WAIRDOCS/X50120/X5012o01.htm, 2011).

Há cinco tipos de micotoxinas que são consideradas económica e toxicologicamente importantes:

- aflatoxinas (AFs)

- ocratoxina A (OTA)
- tricotecenos (desoxinivalenol (DON))
- nivalenol (NIV) e HT2-toxina (HT-2))
- zearalenona (ZEA) e fumonisinas (FB1, FB2)

Em laboratórios de micologia alimentar, existem três fungos que devem ser observados com atenção. Estes fungos são, *Aspergillus fumigatus*, *Rhizopus stolonifer* e *Chrysonilia sitophila*. O primeiro deles é patogénico para os humanos, enquanto que os outros podem causar contaminação em cadeia de difícil controle (Pitt e Hocking, 1996).

O principal habitat para o *Aspergillus fumigatus* é a vegetação em deterioração, normalmente durante a combustão espontânea dos fenos, palhas, fermentação do tabaco, milho ensilado, etc. (Fassatióvá, 1986). Produzem esporos encontrados na atmosfera durante todas as estações do ano. Pode ser encontrado com grande facilidade no solo, em vegetais ou qualquer outra matéria orgânica em decomposição aeróbia, o que explica a fácil propagação dos seus conídios pelas correntes aéreas (Kremer *et al.*, 2007).

O *Aspergillus fumigatus fresenius*, possuem cabeças conidiais com coloração verde a verde-escuro, possuem vesículas férteis em metade ou 2/3 da sua superfície. Os conidióforos possuem um aspeto verde fumado. Quanto à forma os conídios são globulares e elipsoidais (Fassatióvá, 1986).

As colónias são pouco volumosas, aveludadas, com coloração azul esverdeado, com textura aveludada e por vezes podem surgir com um aspeto floculoso, com micélios brancos e densos podendo apresentar-se nos estádios mais avançados em azul esverdeado ou verde acinzentado ou até verde-escuro. Pode surgir uma descoloração em algumas linhagens, podendo a cor chegar a amarelo ou vermelho escuro noutras.

Os conidióforos são curtos, crescendo densamente a partir das hifas com mais de 100µm de comprimento e 2-6µm de largura. Estes crescem de micélios aéreos curtos. Os conidióforos passam a uma larga vesícula com 20-30µm de diâmetro, em que apenas 2/3 são cobertos por fialídios na sua parte superior, paralelamente ao eixo

principal do conidióforo. Os fialídios dispõem-se numa camada com 6-9µm de comprimento e 2-3µm de largura. Os conídios são globulosos em espiral com 2.5-3µm de diâmetro.

Esta espécie é abundante e bastante distribuída no solo, em diferentes materiais orgânicos e vulgarmente em produtos molhados que se encontrem armazenados, tais como grãos, farinhas e ensilados. É uma espécie termofílica com temperatura óptima de 37°C (Fassatióvá, 1986). E consegue crescer desde os 12°C até 50°C. O *Aspergillus fumigatus* é um xerófilo marginal, registando valores de actividade da água (aw) de 0.82 como valor mínimo de crescimento, isto para 40°C. Requer mais do que 15% CO₂ para reduzir as taxas de crescimento em metade a 0.98 aw embora apenas 2,5% a 0.90aw (Pitt e Hocking, 1996).

Produz o antibiótico antibacteriano “Fumigatin”. É conhecido como patogénico nos animais e no homem. Tem sido isolado a partir de feridas de aves e mamíferos. Nas aves causa uma doença semelhante à tuberculose e no homem causa uma espécie de bronquite e problemas pulmonares.

Também pode provocar micotoxicoses devido à produção de micotoxinas, fumigacilina e giotoxinas (quinonas) surgido como hemorragias em bovinos (Fassatióvá, 1986).

4 – Micotoxinas

4.1 – AFLATOXINAS

4.1.1 – Ocorrência

As Aflatoxinas são micotoxinas produzidas por muitas espécies de fungos *Aspergillus*, principalmente *Aspergillus flavus*, *Aspergillus Níger* e *Aspergillus parasiticus*. As *aflatoxinas* merecem especial atenção por parte da indústria dos alimentos, porque são substâncias altamente tóxicas e cancerígenas para o homem e animais. Este facto levou, nos últimos anos, a uma intensa investigação no sentido de as detectar e prevenir, utilizando diversos métodos analíticos. Entre eles encontram-se os métodos imunológicos, que tem vantagens e inconvenientes (<http://es.wikipedia.org/wiki/Aflatoxina>).

As aflatoxinas são derivados de difuranocumarina produzidos por muitas cepas de *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus flavus*. As aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 são os únicos compostos de ocorrência natural e a aflatoxina B1 é a mais comum e de maior atividade biológica. As aflatoxinas são encontradas em ingredientes tais como o milho, tanto no campo quanto durante a armazenagem. As culturas, entretanto, podem ser contaminadas por aflatoxinas ainda no campo, quando as condições ambientais são favoráveis (Cotty *et al.*, 1994). Estas espécies causam problemas em condições de climas quentes e húmidos e podem ser produzidas por algumas espécies de fungos *Aspergillus* em temperaturas superiores a 21°C e em níveis de humidade superiores a 14%. Embora as aflatoxinas não sejam consideradas um grande problema em regiões mais frias ou temperadas, deve-se ter cuidado ao usar ingredientes tais como milho, soja, oleaginosas e outros grãos importados de países de clima tropical. (Lisker, N., and E.B. Lillehoj, 1991).

O termo micotoxina, foi criado em 1962, quando ocorreu a famosa mortalidade de perus jovens na Inglaterra, após a ingestão de ração à base de amendoim proveniente do Brasil e da África (Blout, 1961; Forgacs, 1962). Após a confirmação de que um metabólito secundário produzido por *A. flavus* era o responsável pelas mortes das aves, verificou-se uma verdadeira corrida para o estudo dessas toxinas. O termo aflatoxina foi formado a partir do nome do seu principal agente produtor (***Aspergillus flavus* toxina**). As principais aflatoxinas conhecidas são denominadas de B1, B2, G1 e G2. Elas são produzidas por *A. flavus*, *A. parasiticus*, embora mais recentemente as espécies *A. nomius*, *A. bombycis*, *A. pseudotamari* e *A. ochraceoroseus* também se tenham mostrado tóxicas (Kurtzman *et al.*, 1987; Peterson *et al.*, 2001; Moss, 2002).

Alguns substratos são extremamente favoráveis ao crescimento de fungos aflatoxigênicos e à formação de aflatoxinas. A contaminação natural de cereais, sementes oleaginosas, amêndoas, especiarias é ocorrência comum em inúmeros países. Tanto a habilidade genética para a formação de aflatoxinas, quanto a capacidade para a contaminação dos alimentos com essas toxinas, são altamente variáveis entre os fungos (Klick, 1987; Diener *et al.*, 1987).

Em virtude da capacidade de se ligarem ao DNA das células, as aflatoxinas afectam a síntese proteica, além de contribuírem para a ocorrência da aplasia tímica (ausência congénita do timo e das paratireóides, como consequente deficiência da imunidade celular, também conhecida como síndrome de Di George) (Raisuddin, 1993).

4.1.2 - Toxicidade

As contaminações ocorrem com maior intensidade em nozes, amendoins e outras sementes oleosas, incluindo o milho e sementes de algodão. Estas toxinas, *B1*, *B2*, *G1* e *G2*, são geralmente encontradas associadas a vários alimentos e rações, em diferentes proporções. Entretanto, a *aflatoxina B1* é geralmente predominante, sendo também a mais tóxica. A *aflatoxina M*, o principal metabólito da *aflatoxina B1*, em animais, é geralmente excretada no leite e urina de vacas de leiteiras e outras espécies de mamíferos que tenham consumido alimento ou ração contaminada por *aflatoxina*.

A *aflatoxina* causa necrose aguda, cirrose e cancro no fígado em diversas espécies animais. Nenhuma espécie animal é resistente aos efeitos tóxicos da *aflatoxina*, assumindo-se que humanos possam ser igualmente afectados. As espécies animais respondem diferentemente quanto à susceptibilidade a toxicidade crónica e aguda da *aflatoxina*. A toxicidade pode ser influenciada por factores ambientais, quantidade e duração de exposição, idade, estado de saúde e nutricional.

4.1.3 – Sintomas nos Animais e Humanos

A *aflatoxina B1* é potencialmente cancerígena em muitas espécies, incluindo primatas, pássaros, peixes e roedores. Em cada espécie, o fígado é o primeiro órgão atacado. O metabolismo tem importante papel na determinação da toxicidade da *aflatoxina B1*. Estudos mostram que esta aflatoxina requer activação do metabolismo para exercer efeito cancerígeno e estes efeitos podem ser modificados pela indução ou inibição das funções combinadas do sistema oxidase.

Em países desenvolvidos, a contaminação por *aflatoxina* raramente ocorre em alimentos, a ponto de causar aflatoxicose aguda em humanos. Em vista disso, estudos em humanos para se conhecer a toxicidade a partir da ingestão da aflatoxina, baseiam-

se no seu potencial cancerígeno. Além da sua associação com doenças no fígado, as aflatoxinas podem afectar o rim, o baço e pâncreas.

Os efeitos adversos das aflatoxinas em animais e humanos têm sido classificados em duas formas gerais:

a aflatoxicose aguda é produzida quando índices moderados a altos de aflatoxinas são consumidos. Podem ocorrer hemorragias, danos hepáticos agudos, edema, alteração na digestão, absorção e/ou metabolismo de nutrientes e possíveis óbitos.

a aflatoxicose crónica é resultante da ingestão baixa a moderada de aflatoxinas. Os efeitos geralmente são subclínicos e dificultam o reconhecimento. Alguns sintomas comuns são atrasos no crescimento com ou sem síndrome evidente da aflatoxina (FDA/CFSAN 2003) <http://www.cfsan.fda.gov/chap41.html> (<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Aflatoxinas.htm>).

4.1.4 – Métodos de Detecção

Entre os métodos imunológicos utilizados na dosagem de *aflatoxinas* os mais comuns são o ELISA (enzymelinked immunosorbent assay) aprovado como método oficial da AOAC (Assotiation of Official Analitical Chemis't) para triagem de aflatoxinas (Scott, 1990), RIA (radio-imuno-assay) e IAC (immunoaffinity chromatography). As duas técnicas RIA e ELISA, são baseadas na competição de ligação entre a toxina não marcada proveniente da amostra e a toxina marcada sobre os locais específicos do anticorpo; a imunoafinidade é uma técnica cromatografica baseada directamente na ligação antigénio (toxina) com o anticorpo fixado numa coluna (Fremy e Chu, 1989).

A primeira técnica imunológica a ser introduzida foi o radioimunoensaio em finais dos anos 50. A partir daqui, os imunoensaios tornaram-se instrumentos importantes de análise na química clínica, sendo utilizados na análise de alimentos, mais concretamente na pesquisa de micotoxinas, a partir dos anos 80 (Fremy e Chu, 1989). Este atraso, deveu-se ao facto das micotoxinas serem haptenos, o que significa que não são imunogéneas, tendo que conjugar-se com uma proteína antes de ocorrer a imunização, para se obter o antisoro. Estas conjugações podem complicar-se, porque a maioria das micotoxinas não têm um grupo reactivo adequado na molécula para se poderem unir à proteína suporte. Este facto levou ao desenvolvimento rápido de

métodos para preparação de conjugados de micotoxinas e em particular de conjugados de aflatoxinas. Actualmente, pode dispôr-se de antisoros contra algumas micotoxinas e micotoxinas marcadas com indicador, tendo a maioria destes antisoros sido já utilizados na determinação de aflatoxinas (Bergere, 2001).

Os métodos ELISA, são hoje ainda largamente usados, devido: à sua sensibilidade, à enorme quantidade de amostras que se podem manipular num dia, o que se traduz em baixos custos por análise e à necessidade de pequenas quantidades de anticorpo diluído, podendo usar-se a mesma quantidade para um grande número de amostras. Este método tem sido posto em causa devido a possíveis interferências de outros componentes da amostra e variabilidade devida às condições do teste. Outro problema possível é a especificidade e selectividade do ELISA (Amado, 1999). De facto, muitas micotoxinas têm estruturas químicas estreitamente afins e por isso, existe a possibilidade de poderem ocorrer reacções cruzadas entre os anticorpos produzidos para uma determinada aflatoxina, contra outras toxinas que podem aparecer ao mesmo tempo, dentro do mesmo grupo (Lino *et al.*, 1998). Então, Amado (1999), chegou à conclusão que combinando o método ELISA com o HPLC (cromatografia líquida de alta pressão) conseguia-se a purificação das amostras. O ELISA utiliza-se para uma separação rápida e o IAC/HPLC para análise quantitativa das amostras positivas. Concluíram que este era um processo útil e eficiente, visto que o IAC é uma técnica altamente sensível e selectiva que oferece a possibilidade de extrair/purificar com rigor as amostras ou os seus extratos. (Van Peteghem, 1992).

CROMATOGRAFIA DE IMUNOAFINIDADE (IAC)

Consiste num sistema de colunas, em que estas contêm anticorpos selectivos immobilizados para aflatoxinas. Método muito válido pois com as colunas de imunoafinidade o procedimento para o pré-tratamento da amostra total é reduzido a uma única extracção em fase sólida (Mortimer e tal., 1997). A purificação e separação da amostra utilizando colunas de imunoafinidade, é particularmente eficaz para a detecção de aflatoxinas, passando a amostra directamente através da coluna e depois de várias lavagens, a aflatoxina é eluída num extracto muito limpo e adequado para ser analisado por HPLC. Segundo Gilbert (1993), os resultados são claros e não há interferência de picos nos cromatogramas.

A característica mais importante exigida para os anticorpos a utilizar nas colunas de imunoafinidade, é a sua especificidade, afinidade, estabilidade face às condições de lavagem e reversibilidade. É também essencial que o complexo aflatoxina-anticorpo possa ser dissociado para libertar a aflatoxina (Kartz, 1992).

Embora o IAC, seja uma técnica quer de extracção quer de purificação da amostra considerada por vários investigadores superior a muitas outras (Amado, 1999; Lino e tal., 1998), é necessário não esquecer a fragilidade das colunas e o perigo de contaminação de uma extracção/purificação para outra (no caso das colunas serem reutilizadas) e, por outro lado, o número de moléculas que podem ser controladas, dado este sistema ser restrito, devido à falta de anticorpos disponíveis no comércio. Uma outra desvantagem, é o custo elevado dos kits (Castilho, 1996).

4.1.5 - Prevenção

Os especialistas recomendam a prevenção como método mais seguro para evitar o envenenamento por *aflatoxina B1*:

Na alimentação humana:

- Evitar consumir produtos derivados de cereais com prazo de validade vencido, que apresentam um aspecto deteriorado ou tenha a embalagem deteriorada.
- Guardar os alimentos em locais sem humidade e com boa ventilação para evitar temperaturas favoráveis ao desenvolvimento da toxina.
- Não comprar produtos de cereais de origem duvidosa.

Na alimentação de animais:

- Manejar bem a ração evitando humidade, água e condições ideais ao desenvolvimento das aflatoxinas.
- Desprender resíduos presos nos depósitos, silos, roscas transportadoras e comedouros.
- Verificar o teor de humidade, quantidade de grãos quebrados e infestação de fungos quando da aquisição de milho ou outros produtos agrícolas.
- Na produção própria de grãos e na sua conservação, precaver-se da migração de humidade, proliferação de fungos e infestação de insectos, proteger contra

roedores, da contaminação de insecticidas, como também evitar ao máximo possível a quebra dos grãos.

- Fazer a melhor ensilagem possível, mantendo um rigoroso controle sobre aeração e outras medidas na técnica da armazenagem adequada.
- O consumidor deverá tomar muito cuidado quanto a embalagens violadas, validades vencidas, ou produtos a granel com aparência duvidosa. Ao abrir uma embalagem, antes de consumir o produto, fazer uma inspecção rigorosa quanto ao aspecto e sabor do alimento (FDA/CFSAN, 2003).
- Para além do risco para a saúde, as perdas económicas e as implicações das micotoxinas são enormes. Muitos países desenvolvidos já perceberam que a redução dos níveis de micotoxinas em alimentos não só reduz os encargos financeiros sobre os cuidados de saúde, como trás vantagens no comércio internacional como as exportações para outros mercados internacionais. É fundamental o país proteger a sua população de micotoxinas incluindo vontade de tratar a micotoxina e capacidade de testar os alimentos contaminados (Wagacha e Muthomi, 2008).

4.2 – FUMONISINAS

4.2.1 – Ocorrência

As Fumonisinias, são micotoxinas descobertas mais recentemente, produzidas por espécies de fungo do género *Fusarium*, especialmente o *Fusarium moniliforme*.

São conhecidas, atualmente 16 estruturas moleculares designadas pelo termo fumonisina, porém a toxina predominante produzida por linhagens de *Fusarium moniliforme* é a *Fumonisinina B1*. Somente a *Fumonisinina B1*, além das *Fumonisininas B2* e *B3*, foram detectadas, quando a produção de fumonisinias ocorreu em condições naturais.

As *fumonisininas* foram identificadas como causadoras de várias síndromes em algumas espécies animais, como a leucoencefalomalácia dos equinos e a síndrome de edema pulmonar de suínos.

O mecanismo de acção das *fumonisin*as está relacionado com a síntese de esfingolípídios, que são estruturas importantes para a manutenção da integridade da membrana celular, além da regulação de receptores de superfície celular, bombas de prótons e outros sistemas vitais para o funcionamento e sobrevivência da célula.

A interrupção da formação de esfingolípídios, conseqüentemente, acumula esfinganina e esfingosina, que constitui o mecanismo pelo qual se manifestam os efeitos de toxicidade aguda e carcinogenicidade das *fumonisin*as (Brown, D., SP McCormick, Alexander NA, Proctor RH e Desjardins AE., 2001).

As fumonisin

as, são produzidas por espécies do género *Fusarium* (Charmely e tal., 1994). Os membros pertencentes a este género são economicamente importantes, uma vez que são fungos patogénicos para plantas, causando, todos os anos, vastos prejuízos, nomeadamente em culturas de milho e sorgo (Jurgenson e tal., 2002). O interesse sobre as fumonisin

as tem aumentado e, a nível mundial, continuam a realizar-se investigações para melhor as conhecer, bem como aos prejuízos por elas provocados. Este grande interesse deve-se a duas razões fundamentais: ao facto das fumonisin

as se encontrarem em concentrações mensuráveis no milho e ao facto de estudos epidemiológicos realizados as associarem ao cancro esofágico em humanos (Rheeder *et al.*, 2002).

O mecanismo de acção em todas as espécies de animais estudadas, verificou-se que a absorção das fumonisin

as no tubo digestivo é diminuta, sendo rapidamente eliminadas. O fígado e o rim, são os órgãos que retêm a maior parte das fumonisin

as absorvidas (FAO/WHO, 2001; Williams e tal., 2003).

O modo de acção das fumonisin

as relaciona-se com a sua interferência com o metabolismo da esfingosina – esfinganina (So – Sa) (Cirillo e tal., 2003), perturbando o metabolismo dos esfingolípídios (Turner e tal., 1999).

Os esfingolípídios estão presentes nas membranas celulares, desempenhando um papel fundamental na regulação celular e no controlo de proteínas membranares, mediando o crescimento celular, a diferenciação e a morte das células (Turner e tal., 1999). Os esfingolípídios mais simples são as bases esfingóides. Nas células dos mamíferos as bases esfingóides mais comuns são a esfingosina e a esfinganina. Normalmente a concentração de esfingosina é 3 a 5 vezes mais elevada do que a de

esfinganina (Riley e tal., 1994). Estudos in vivo e in vitro foi demonstrado que as fumonisinas, são potentes inibidores competitivos da esfinganina N-aciltransferase e da esfingosina N-aciltransferase (ceramida sintetase) uma vez que, estruturalmente, são análogas de bases esfingóides. As enzimas anteriormente referidas são elementos chave para a via metabólica da boissíntese dos esfingolípidos de novo e turnover dos membros. Deste modo, as fumonisinas podem alterar a concentração e a proporção entre a esfinganina e a esfingosina, diminuindo a biossíntese de esfingosina e acumulando esfinganina (Riley e tal., 1994; turner e tal., 1999; Desai e tal., 2002, Carratù e tal., 2003), como mostra a figura abaixo.

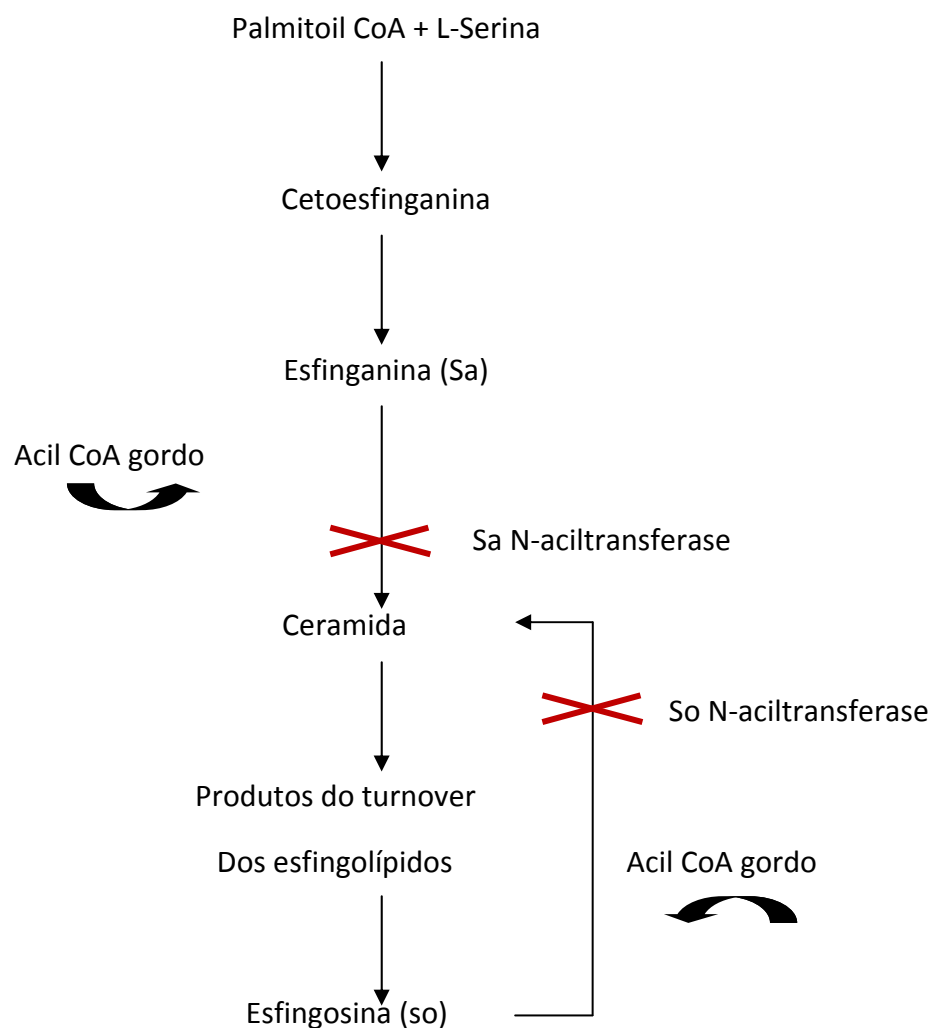


Figura – Modo de Acção das fumonisinas (Carratù e tal., 2003)

Podem também bloquear a biossíntese de esfingolípidos complexos em células eucarióticas. Os esfingolípidos complexos desempenham funções muito importantes a nível membranar, estando também na base da formação de mensageiros secundários que controlam diferentes processos celulares, incluindo a expressão genética e a activação/desactivação de proteínas específicas (Riley *et al.*, 1994). Assim, estas micotoxinas contribuem para uma variedade de consequências a nível celular, como sejam a indução da apoptose e efeitos cancerígenos (Turner *et al.*, 1999; Momany e dombrink-Kurtman, 2001; Desai *et al.*, 2002, Meyer *et al.*, 2003).

4.2.2 - Toxicidade

A contaminação de alimentos e alimentos compostos com fumonisinas tem sido associada a várias doenças, quer em animais quer em humanos. As manifestações clínicas que decorrem das toxicoses provocadas pelas fumonisinas, bem como os órgãos atingidos variam de espécie para espécie. Nos cavalos conduzem ao aparecimento de leucoencefalomalacia (ELEM), em suínos provocam edema pulmonar (PPE). Em ovelhas, ratos e coelhos induzem a toxicidade renal, sendo também hepatotóxicas para os segundos. Outras espécies também são atingidas por toxicoses provocadas por estas micotoxinas (Creppy *et al.*, 2004).

No homem, a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Cancro (IARC), classificou esta micotoxina como possivelmente cancerígena. Os níveis de fumonisinas em milho com fungos estão epidemiologicamente correlacionados com alta incidência de cancro esofágico (EC) em humanos (Marasas *et al.*, 2004).

A incidência de fumonisinas verifica-se a nível mundial e é clara a sua presença em alimentos destinados a humanos e animais, dada a incidência destas micotoxinas no milho (Shepard e tal., 1996), uma vez que cerca de 90% do *F. moniliforme* se encontra no milho (Fuminisins Page). A *FB1* é a fumonisina predominante, encontrada no milho contaminado naturalmente, e constitui normalmente cerca de 70% da quantidade total de *fumonisin* presentes (Polling e Plattner, 1999).

Em Portugal, entre 1996 e 1999, foi analisada a qualidade micológica de alimentos compostos para bovinos. No que respeita ao género *Fusarium*, este foi encontrado em

20% das amostras, o que corresponde a um ligeiro decréscimo da contaminação dos referidos alimentos relativamente a épocas anteriores, perspectivando, assim, uma evolução qualitativa positiva (Martins e Martins, 2001).

4.2.3 – Sintomas nos Animais e Humanos

A prevalência desta micotoxina em cereais está aparentemente correlacionada com a alta ocorrência de cancro no esófago em humanos (Marasas, 1998).

Os sintomas dos animais contaminados com a micotoxina, incluem decréscimo na ingestão de alimentos e produção de leite (Whitlow e Hagler, 1999). Podem causar irritação e hemorragias no tracto digestivo, deprimem o processo regenerativo na medula óssea e no baço, afectam a função do sistema imunológico e causam alterações nos órgãos reprodutivos (Altech, 2000). Os animais afectados apresentam perda de peso, baixa eficiência alimentar, falta de apetite, vómitos, diarreia com sangue, aborto e em casos graves pode levar à morte (Newman, 2000).

4.2.4 – Métodos de Detecção

A extensão da contaminação do milho bruto com fumonisinas está dependente de diversos factores como a localização geográfica, as práticas agronómicas e de conservação, a vulnerabilidade das plantas à invasão por fungos durante todas as fases de crescimento, conservação e processamento. Os níveis de fumonisinas são também influenciados por factores ambientais como a temperatura, humidade e chuva durante os períodos de pré-colheita e colheita e pela infestação com insectos (USFDA-CFSAN, 2001).

Existem diferentes métodos de descontaminação: físicos, químicos e biológicos. Porém, de acordo com a European Mycotoxin Awareness Network (EMAN) (EMAN, 2000), o processo ideal de descontaminação deve ser fácil de usar, económico, não deve dar origem à formação de compostos que ainda apresentem toxicidade, ou alterar as propriedades nutricionais e a palatibilidade do grão e respetivos derivados. O grau de descontaminação depende do método usado e da toxicidade que subsiste na amostra tratada (Soriano e Dragacci, 2004).

Os métodos físicos e químicos possuem grandes desvantagens, nomeadamente eficácia limitada, perda de nutrientes e alto custo, pelo que muitos investigadores são de opinião que a melhor solução para a descontaminação, no futuro, será a descontaminação por biodegradação. A descontaminação de micotoxinas por processos biológicos tem enveredado pelo recurso a bactérias, iniciando-se esta nos anos sessenta, a processos fermentativos, em que o uso de leveduras se iniciou nos anos oitenta (Bata e Lásztity, 1999).

O milho transgénico, milho Bt, expressa uma toxina de *Bacillus thuringiensis* (Bt) que aumenta a resistência da planta ao fungo uma vez que aumenta a resistência da mesma a insectos. A diminuição da infecção por *Fusarium* pode também dever-se ao aumento da expressão de proteínas anti-fúngicas específicas e metabolitos ou conseguir-se acentuando as próprias defesas da planta nos tecidos dos grãos. Outra estratégia de modificação genética, consiste no uso de genes que codificam enzimas que degradam as fumonisinas. Estas enzimas foram identificadas em fungos isolados no milho, em que os genes que as codificam foram clonados e colocados em milho transgénico (Duvick, 2001).

4.3 – Zearalenona

4.3.1 – Ocorrência

A zearalenona, é uma micotoxina com efeitos estrogénicos, produzida por *Fusarium graminearum* ou outras espécies *Fusarium sp* que contaminam frequentemente cereais (principalmente o milho) mas também outros produtos como a banana e o tomate.

A zearalenona é reduzida pela 3 α e 3 β – hidroxisteróide desidrogenase a α -zearalenol e β -zearalenol, respectivamente. O metabolismo α é considerado o mais abundante. Esta redução da zearalenona aos seus metabolitos ocorre fundamentalmente no fígado. Os metabolitos podem ser excretados como compostos livres ou sofrem conjugação com o ácido glucurónico pela acção da uridina difosfato glucuronil transferase (UDPGT). Depois da conjugação eles vão ser eliminados na bÍlis, na urina e nas fezes. A porção eliminada na bÍlis é reabsorvida, metabolizada pelas células da mucosa intestinal, entra no fígado e na circulação sistémica via veia porta (Hagler *et al.*, 2001).

As variáveis que afectam a contaminação são:

1. O processamento de alimentos, preparação e cozimento – ZEA é termo estável, não havendo alteração durante o cozimento. A moagem por via seca concentra a ZEA na fracção glúten e produção de cerveja diminui os teores de ZEA em percentagens variáveis.
2. Condições meteorológicas e o clima
3. Humidade e tempo frio favorecem o desenvolvimento de ZEA
4. Método de produção agrícola, organofosforados e carbamato reduzem ou inibem a produção de ZEA
5. Variedades das plantas cultivadas, em que diferentes variedades apresentam diferentes susceptibilidades à formação de micotoxinas
6. Condições de armazenamento, se o milho tiver bastante humidade na altura da colheita e não for devidamente seco, promove-se o crescimento de fungos produtores de ZEA em colheitas previamente sem fungos. Baixas tensões de CO₂ diminuem o crescimento fúngico e formação de micotoxinas
7. Radiação gama, reduz eficazmente a ocorrência natural de micotoxinas de *Fusarium* em trigo, farinha e pão, bem como em milho
(<http://pt.wikipedia.org/wiki/Zearalenona>)

4.3.2 – Toxicidade

As micotoxinas tricotecenos (TCT) são compostas por um vasto conjunto de mais de 100 metabólitos fúngicos com a mesma estrutura básica. Vários géneros de fungos são capazes de produzir TCT, no entanto, a maioria deles têm sido isolados de *Fusarium spp.* Todos os tricotecenos são toxicológicos. Ao nível celular, o principal efeito tóxico de micotoxinas TCT parece ser uma inibição da síntese proteica primária. Afectam as células que revestem o trato gastrointestinal, a pele, linfóide e células eritróides. A acção tóxica da TCT resulta numa necrose extensa da mucosa oral, e da pele em contacto com a toxina, tem efeitos agudos sobre o aparelho digestivo e diminuição da medula óssea e função imunológica (Schwarzer, 2009).

A exposição a essa micotoxina, ocorre diariamente através do consumo de cereais e derivados de cereais contaminados.

4.3.3 – Sintomas nos Animais e Humanos

O α -zearalenol tem uma capacidade de se ligar ao receptor dos estrogénios 17x mais forte do que o etinil-estradiol. Daí advém muitos efeitos adversos relacionados com os seus potentes efeitos estrogénicos, nomeadamente puberdade precoce, fibrose do útero, cancro da mama, carcinoma do endométrio, hiperplasia do útero, diminuição da fertilidade, influência nas actividades das glândulas adrenal, tiróide e pituitária. Nos indivíduos do sexo masculino, pode ocorrer inflamação da glândula prostática, atrofia testicular e quistos nas glândulas mamárias. A zearalenona parece ser também hematotóxica, podendo haver problemas na coagulação do sangue, com alteração dos hematológicos (hematócrito, número de plaquetas...). Como consequência do consumo de alimentos com esta micotoxina podem ainda surgir adenomas ou carcinomas hepáticos comprovados pela alteração dos parâmetros hepáticos (transferase, fosfatase alcalina, bilirrubina, γ -GT). Além disso, a zearalenona reduz a visibilidade celular, inibe a síntese proteica e de DNA e induz peroxidação lipídica. Quanto ao seu uso farmacológico, existe um medicamento de uso veterinário, cujo princípio activa é o zeranol, um metabólito da Zearalenina. É usado para promover o crescimento dos animais. Aplica as suas propriedades estrogénicas na terapia de reposição animal (Zinedine *et al.*, 2007).

4.3.4 – Métodos de Detecção

São necessários métodos sensíveis, na ordem dos ng/g, que permitam detectar tricotecenos nos grãos de cereal e produtos alimentares. Como os tricotecenos encontram-se estruturalmente muito relacionados entre si, os métodos analíticos são normalmente delineados de modo a determinar mais de um tricoteceno. No entanto, os tricotecenos que ocorrem naturalmente em cereais podem ser divididos em substâncias polares, carregando um grupo cetona em C8 (tricotecenos tipo B) e menos polares (tricotecenos tipo A), os quais não contêm nenhuma função cetona em C8 e

apresentam geralmente menos grupos hidroxilo livres (Sforza *et al.*, 2006). Daí que, dependendo do grupo de tricotecenos que está a ser analisado, os procedimentos analíticos geralmente difiram nas etapas de extracção, purificação e de determinação final (Josephs *et al.*, 2004).

De entre os métodos cromatográficos, o GC é a técnica mais usada na determinação de tricotecenos, devido à selectividade e sensibilidade, mas também, porque a sua versatilidade facilita o desenvolvimento de métodos para análise de rotina de amostras contaminadas com estas micotoxinas. Os solventes usados na extracção são de carácter polar, como o metanol ou acetonitrilo em misturas com água. Quando se usa o metanol, é necessária uma etapa adicional de clarificação (Oliveira e Valente Soares, 2001).

4.4 - Tricotecenos - Deoxinivalenol/Nivalenol(Vomitina) e Toxina T2

4.4.1 - Ocorrência

Os tricotecenos, são micotoxinas típicas de campo e são produzidas em culturas que entram na ração através de ingredientes contaminados. São produzidos por diferentes género de fungos tais como *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Myrothecium*, *Trichotecium*, *Phomopsis*, *Trichoderma*, entre outros, sendo que estes fungos são também conhecidos como patogénicos de plantas produtoras de grãos (Miller, 1995). 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 actividade da transferase peptídica (Stanford e McLaughlin, 1973; Wei *et al.*, 1974).

Actualmente temos 170 compostos diferentes chamados tricotecenos que já foram isolados, mas apenas alguns deles ocorrem naturalmente como o desoxinivalenol (DON) conhecido também como *vomitoxina*, a *toxina T2*, o *diacetoxiscirpenol* (DAS) a *toxina HT2*, o *nivalenol* (NIV). A ocorrência de tricotecenos tem sido descrita em trigo, milho, cevada, sorgo e em outros cereais (Miller *et al.*, 2001).

4.4.2 – Toxicidade

O DON é uma das micotoxinas mais comuns encontradas em grãos. Quando ingerido em doses elevadas por animais, 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 desoxinivalenol é conhecido como vomitotoxina ou factor de recusa de alimento. Embora menos tóxico que os outros tricotecenos, o DON é mais comum em sementes de cártamo, cevada, centeio, trigo e em misturas de alimentos (Miller *et al.*, 2001). Outros tricotecenos são amplamente produzidos pelos fungos *Myrothecium*, *Stachybotrys* e *Trichothecium*. Dentro deles, destacam-se a atranona, a roridina, a satratoxina e a verrucarina (Hinkley e Jarvis, 2001). DON e a toxina T2 têm sido associadas a grãos de milho, a farelo de trigo e a produtos de panificação (Furlong *et al.*, 1995; Prado *et al.*, 1997; Oliveira e Soares, 2001).

O fungo *Strachybotrys 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 foram responsáveis por um surto de pneumonia hemorrágica em crianças da cidade de Cleveland (USA) (Lourenço, 2006). A doença é também conhecida como hemosiderose pulmonar. A estaquibotriose já havia sido confirmada como uma doença ocupacional de agricultores envolvidos na manipulação de feno com mofo. 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 húmidos como tetos, forros de diversas naturezas e até em tubagens de ar condicionado, em que a dispersão aérea dos propágulos torna-se facilitada. Os tricotecenos produzidos por *S. atra* (atranonas, roridina, estaquilisina, satratoxinas, tricoverróis, trocoverrininas e verrucarinas, e outros) são inibidores da síntese proteica em células eucarióticas, podendo provocar cefaleia, irritação na garganta e nos olhos, vertigens e sangramentos nasais (Lourenço, 2006).

Desoxinivalenol (DON), tem sido o tricoteceno mais encontrado no trigo, milho e cevada utilizadas para o consumo humano e de animais (Feinberg *et al.*, 1989).

4.4.3 - Sintomas nos Animais e Humanos

Sintomas característicos dos efeitos tóxicos dos tricotecenos em humanos são vômitos, angina necrótica, diarreia, anorexia, alterações hematológicas, distúrbios neurológicos, destruição da medula óssea e hemorragias generalizadas, seguidos ou não de morte. Os mesmos sintomas podem ser observados em animais intoxicados.

Os efeitos agudos de DON são: náuseas, vômito, diarreia, dor abdominal, dor de cabeça, tonturas e febre, podem-se desenvolver no prazo de 30 minutos da exposição e é difícil distinguir das condições gastrointestinais atribuídas a microorganismos como toxinas de *Bacillus cereus* (WHO, 2001).

Os tricotecenos, em especial a DON, interferem no consumo alimentar dos animais, pois essas substâncias agem sobre o transporte do triptofano na barreira hematoencefálica, aumentando os níveis deste aminoácido no cérebro e fazendo com que a quantidade de serotonina cerebral, um neurotransmissor responsável pelo comportamento e apetite, também se eleve, diferente do que se era pensado no passado quando se associava a diminuição de ingestão de alimento pelos animais atingidos às lesões orais clássicas (Leeson *et al.*, 1995). Ao nível celular, o principal efeito tóxico de micotoxinas TCT parece ser uma inibição da síntese proteica primária. TCT afetam as células que revestem o trato gastrointestinal, a pele, linfóide e células eritróides. A acção tóxica dos resultados da TCT são uma extensa necrose da mucosa oral e pele em contacto com a toxina, tem efeitos agudos sobre o aparelho digestivo e diminui a função imunológica da medula óssea (Schwarzer, 2009). Exemplos da TCT do tipo A incluem as toxinas T2, HT2 e diacetoxiscirpenol (DAS). Exemplos da TCT do tipo B são os mais comuns a Fusarenona-X (FUX), desoxinivalenol (DON) e nivalenol (NIV). Os tricotecenos dos tipos A e B são distinguidos pela presença ou ausência de um grupo carbonila na posição C8, respetivamente (Schwarzer, 2009).

4.4.4 – Métodos de detecção

Investigaram em cobaias o metabolismo dessa micotoxina para o estabelecimento metodológico de um biomarcador na exposição humana. Cobaias Sprague-Dawley receberam uma única dose de DON marcado com C^{14} e a distribuição pelos fluidos corporais foi investigada depois de 72 horas. O Don e os seus metabolitos foram detectados no plasma dos ratos em altos níveis após oito horas, 9% ligados a proteínas plasmáticas. Aproximadamente 37% do DON que foi administrado foi excretado na urina na forma conjugada com ácido glicurônico, o que o implica como o maior metabolito urinário. Esse resultado reforça a conclusão de vários estudos que sugerem como biomarcadores em potencial para a exposição ao desoxinivalenol os produtos do seu metabolismo e adutos macromoleculares (proteína/DNA) presentes nos fluidos biológicos humanos. Além disso, os estudos em animais têm identificado o metabolito epóxido de DON (DOM-1) e o conjugado glicurônico como possíveis biomarcadores para exposição ao DON (Meky *et al.*, 2003).

4.5 – Ocratoxina

4.5.1 – Ocorrência

A Ocratoxina A tem sido encontrada em aveia, cevada, centeio, trigo, grãos de café e em outros produtos para consumo humano e animal. Existe a preocupação de que essa micotoxina possa ocorrer também em vinhos, quando os frutos da videira estejam infectados por *Aspergillus carbonarius* (Marquardt e Frohlich, 1992; Pitt, 2000; Van Egmond e Speijers, 1994).

O grupo das ocratoxinas é composto por três tipos de substâncias, A, B e C, sendo a mais comum a *ocratoxina A*.

Estas toxinas podem ser produzidas tanto pelo *Aspergillus ochraceus* ou *Aspergillus alutaceus*, quanto por outras cinco espécies de *Aspergillus* e ainda por seis espécies do gênero *Penicillium*. A citrina e o ácido oxálico também são produzidos por esses bolores. As *ocratoxinas* são ubiqüitárias tanto em climas tropicais quanto em climas

temperados e são frequentemente encontradas na aveia, na cevada, no trigo e no milho (Bayman, 2002).

4.5.2 – Toxicidade

A introdução de ocratoxina na ração de animais de produção monogástricos leva à contaminação de órgãos, gordura, músculos e sangue. Quando ingerida por um período de tempo prolongado, essa micotoxina pode contaminar a maior parte dos tecidos comestíveis e pode produzir uma lesão renal que pode levar à condenação da carcaça. A ocratoxicose aguda (concentrações acima de 5 ppm na dieta animal) é caracterizada por nefropatia (prejuízo à função renal), enterite, esteatose hepática, necrose de linfonodos e imunossupressão, juntamente com uma variedade de outras condições patológicas. Nos casos agudos, pode haver morte por insuficiência renal aguda. O interesse nessa micotoxina tem sido focado na natureza cancerígena do composto, já que ele se pode acumular na carne de animais e causar problemas à saúde humana (Abarca *et al.* 1994).

A ocratoxina inibe a fenilalanina tRNA-sintetase, porque a molécula de fenilalanina da ocratoxina compete com o seu análogo na cadeia de aminoácidos, durante a síntese dessa enzima. Sendo assim, se a fenilalanina tRNA-sintetase está envolvida no passo inicial da síntese de proteínas e de outras enzimas do metabolismo animal, a debilidade geral dos animais expostos às ocratoxinas, provavelmente será consequência da diminuição do aproveitamento dos alimentos provenientes da dieta, em face da menor disponibilidade de várias enzimas, e da alcalose metabólica resultante das perdas de protões e glicose pelos rins lesados (Fink-Gremmels, 1999).

4.5.3 - Sintomas nos Animais e Humanos

A ocratoxina A está associada a nefropatias em todos os animais estudados até ao momento. É no ser humano, onde essa substância tem a mais longa meia-vida para sua eliminação (Creppy, 1999).

Além de ser reconhecidamente nefrotóxica, a ocratoxina A comporta-se também como hepatóxica, imuno-supressora, teratogénica e cancerígena (Beardall e Miller, 1994; Kuiper-Goodman e Scott, 1989; Pléstina, 1996; schlatter *et al.*, 1996). Ela tem sido encontrada no sangue e em outros tecidos animais e no leite, inclusive em leite humano (Marquart e Frohlich, 1992), bem como em carne suína para consumo humano (Fink-Gremmels, 1999). A ocratoxina A tem sido responsabilizada pela nefropatia suína, amplamente estudada nos países escandinavos. A doença é endémica em suínos da Dinamarca, onde também está associada à morte de aves (Krogh, 1987; Burns e Dwivedi, 1986; Hamilton *et al.*, 1982). Estudos revelaram que embora pequenas quantidades de ocratoxina A possam suportar o processamento e o metabolismo e suínos e aves, é improvável que ela possa ser detectada em leite ou em carne bovina (Scudamore, 1996).

A Agência Internacional para Pesquisa do Cancro classificou a ocratoxina A como possível cancerígeno humano (Beardall e Miller, 1994). Aproximadamente 50% das amostras de arroz, feijão, milho e trigo, analisadas no Brasil, apresentaram níveis de ocratoxina A (Caldas *et al.*, 2002), além da sua presença também ser confirmada em café torrado e moído e em café solúvel (Prado *et al.*, 2000).

4.5.4 – Métodos de Detecção

Os potenciais indicadores biológicos na exposição à ocratoxina ainda estão pouco estudados e alguns trabalhos sugerem possíveis biomarcadores. Avaliaram a ocratoxina em trabalhadores de indústrias alimentares expostos a essa micotoxina suspensa no ar. No monitor verificou-se que os níveis de ocratoxina foram de 0,94 a 3,28ng/ml e maiores quando comparados com controles não expostos à ocratoxina. Esse estudo concluiu que a medida de ocratoxina no soro é efectiva para a avaliação da dose interna e a exposição ocupacional pode representar um risco à saúde de trabalhadores expostos no processamento industrial de grãos. Um monitor ambiental e biológico é necessário nesses ambientes (Iavicoli, 2002).

Realizaram um levantamento com 50 pessoas que apresentavam nas suas dietas um consumo diário de 0,26 a 3,5 mg/kg de ocratoxina. Verificaram que em todas as amostras de plasma e em 46 amostras de urina desses indivíduos a ocratoxina estava

presente. A utilização de ocratoxina na urina foi sugerida como biomarcador simples para identificar a exposição a essa micotoxina (Gilbert, 2001).

4.6 – Citrina

4.6.1 – Ocorrência

A Citrinina foi primeiramente isolada a partir de metabolitos secundários de *Penicillium citrinum*, bem antes da Segunda guerra Mundial (Hetherington e Rainstrick, 1931). Posteriormente, outras espécies de *Penicillium* (*Penicillium expansum* e *Penicillium viridicatum*) e até mesmo de *Aspergillus* (*Aspergillus niveus* e *Aspergillus terreus*) mostram-se também capazes de produzir essa substância. Certos isolados de *Penicillium camemberti*, utilizados na produção de queijo e *Aspergillus oryzae*, empregados na produção de alimentos asiáticos, como o sakê, o miso e o molho de soja, podem igualmente produzir a citinina. Mais recentemente, a citinina foi isolada a partir de metabolitos dos fungos *Monoascus ruber* e *Monoascus purpureus*, espécies industrialmente usadas para a produção de pigmentos vermelhos (Manabe, 2001; Blane *et al.*, 1995).

4.6.2 – Toxicidade

A citrinina foi associada à síndrome do “arroz amarelo” no Japão, em 1971, em virtude da constante presença de *Penicillium citrinum* nesse alimento (Saito *et al.*, 1971). Também tem sido responsabilizada pela nefropatia suína e de outros animais, muito embora a sua toxicidade aguda varie dependendo da espécie animal (Carlton e tuite, 1977). Grãos de aveia com mofo, de centeio, de cevada, de milho e de trigo são excelentes para a formação de citrina (Abramson e tal., 2001). Essa micotoxina que tem uma estrutura de poliquetídio, tem sido também encontrada em produtos naturais coloridos com pigmentos de *Monoascus*, bem como em salsichas naturalmente fermentadas na Itália (Chu, 1991; Anderson, 1995).

4.6.3 – Sintomas nos Animais e Humanos

Em relação a animais experimentais, existem poucas evidências quanto à capacidade cancerígena dessa micotoxina. Tem sido sugerido que a citrina poderia estar envolvida na nefropatia endêmica dos Balcãs, uma doença renal, geralmente fatal. Entretanto, parece improvável que a citrina apresente risco à saúde humana, uma vez que ela se mostra instável durante o processamento industrial dos cereais. O maior risco, provavelmente, seria para os animais de criação, especialmente suínos, caso se alimentem de cereais contaminados (Rosa *et al.*, 1985).

4.6.4 – Métodos de Detecção

A extração líquido-líquido e extração em fase sólida são os métodos tradicionais usados na preparação e extração da amostra para análise de citrina em alimentos (FAO, 1997). A extração com solventes polares, tais como o acetato de etilo ou acetona, é a mais comum. MacDonald and Illida *et al.* Fazem referência a métodos para a determinação da citrina baseados na extração líquido-líquido com acetato de etilo. No entanto, as etapas necessárias de evaporação acabam por ter uma influência negativa na reprodutibilidade. Para além disso, este tipo de extração é muito geral e se não existir nenhuma etapa adicional de purificação, a análise pode ser facilmente distorcida (Boonzaaijer *et al.*, 2005). A etapa seguinte de purificação pode ser executada com uma coluna cromatográfica usando a sílica gel 60, florisil ou a celite. Um outro método inclui o uso de uma solução de carbonato de sódio como agente de lavagem. As colunas Mycosep® (#224) podem também ser usadas, sobretudo quando é necessária uma purificação rápida e fácil (><http://www.micotoxinas.com.br/patufacts.htm><).

5 – Resumo

Os *Tricotecenos*, relacionados a fungos do género *Fusarium*, *Acremonium* (*Cephalosporium*), *Myrothecium*, *Trichoderma* e *Stachybotrys*, são capazes de produzir sintomas respiratórios, como angústia respiratória ou hemorragias.

O *deoxinivalenol/nivalenol* (*vomitina*). Tricoteceno encontrado no milho, trigo, cevada. Produzido pelas espécies *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium crookwellense*. É tóxico para homens e animais, especialmente porcos. Foi identificado como causador de surtos de doenças gastrointestinal aguda em humanos.

A *Toxina T-2*, tricoteceno capaz de danificar o sistema digestivo e causar a morte rápida por hemorragia interna. Causador da *Aleukia* e da *Hemossiderose* pulmonar em humanos.

A *ocratoxina A*. Encontrada em cevada, trigo e outros produtos. Produzida pelas espécies *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium verrucosum*. É considerada nefrotóxica e associada a nefropatias endémicas e tumores de trato urinário. Suspeita-se que tenha acção cancerígena no homem. A sua acção cancerígena é comprovada em porcos e animais de laboratório.

A *zearelona*. Produzida por diversas espécies de *Fusarium*, contamina cereais e é causadora de uma síndrome estrogénica específica em animais. Semelhante à hormona feminina estrogénio, ataca o sistema reprodutor.

As *Fumosinas*, particularmente a *Fumossina B1*, são encontradas em sementes de milho procedentes de vários continentes. Produzidas pelo *Fusarium moniliforme* e outras espécies menos comuns, estão ligadas ao cancro, sendo comprovadamente tóxicos para porcos e aves domésticas. Nos cavalos é causadora da *leucoencefalomalácia equina*, que é fatal.

A *citrina* é produzida por espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* e causam danos renais, vasodilatação e broncoconstrição.

A *patulina* é produzida por fungos dos géneros *Penicillium*, *Aspergillus* e outros géneros e causam hemorragia no cérebro e pulmões. Embora associada a maçãs fermentadas, pode ser encontrada em frutos aparentemente sadios. Curiosamente, sabe-se que esta substância também tem actividade contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e até sobre o *Mycobacterium tuberculosis*, causador da tuberculose. No entanto é muito tóxica para uso humano, causando hiperemia, congestão e lesões hemorrágicas, particularmente no trato gastrointestinal. É também mutagénica, teratogénica e cancerígena. A sua presença já foi detectada em sucos produzidos na Turquia, Portugal e Bélgica, entre outros países. A sua presença em sucos fermentados e sidras é diminuída devido ao metabolismo pela *Saccharomyces cerevisiae*. Vários estudos têm sido feitos sobre o seu controlo por meio de conservantes e embalagens especiais.

A *sterigmatocistina* é produzida pelo *Aspergillus versicolor*, é nefrotóxica, hepatotóxica e cancerígena.

As *aflatoxinas* são encontradas no milho, amendoim, nozes, algodão e outras sementes oleosas, bem como nos seus produtos secundários. Foram descobertas em 1960, na Inglaterra, após a morte de 1.000.000.000 de aves, perus, que se alimentaram com ração feita de amendoim procedente do Brasil. As formas B1 e B2 são produzidas pelo *Aspergillus flavus*, além dessas, o *Aspergillus parasiticus* é capaz de produzir as formas G1 e G2. A forma M é o metabólito principal da *aflatoxina B1* e pode ser encontrada no leite de vacas que tenham comido ração contaminada. A *Aflatoxina* é causadora de necrose aguda, cirrose e carcinoma do fígado em diversas espécies de animais. Também é referida como mutagénica, imunossupressora e neoplásica. Estudos em populações africanas e sul-asiáticas sugerem a associação de cancro com o teor de *aflatoxina* na dieta (Hussein *et al.*, 2001).

Os três fungos principais produtores de micotoxinas são: *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. As toxinas mais comuns por estes fungos e que podem encontrar-se nos alimentos para animais são:

Aflatoxina B1 (AFB1), condições favoráveis para o seu aparecimento são a temperatura e humidade elevadas e pH entre 3.5 e 8. Os sintomas de intoxicação são diarreia, necrose hepática, baixa eficiência reprodutiva, diminuição da taxa de crescimento, quebra de produção e efeito cancerígeno.

Zearelenona (ZEN), as condições favoráveis para o seu aparecimento são baixas temperaturas e humidade elevada, pelo que é muito frequente em regiões temperadas. Os sintomas de intoxicação são vaginites, secreção vaginal, cios irregulares, quistos ováricos, abortos, quebras de produção e dilatação da glândula mamária em novilhas.

Deoxinivalenol (DON) ou *Vomitoxina*, as condições favoráveis para o seu aparecimento são ambientes amenos e chuvosos seguido de um período seco. Os sintomas de intoxicação são redução da ingestão, perda de peso, quebra de produção, diarreia, abortos, hemorragias e alterações nervosas.

Toxina T2, as condições favoráveis para o seu aparecimento são chuvas prolongadas no momento da colheita. Os sintomas de intoxicação são redução da ingestão, quebra de produção, gastroenterites, diarreia com sangue, redução da eficiência reprodutiva e em casos extremos a morte.

Fumisina, as condições favoráveis para o seu aparecimento são o tempo seco e quente. Os sintomas de intoxicação são a redução da ingestão, quebra de produção, efeitos tóxicos no sistema nervoso central, fígado, pâncreas, rins e pulmões.

Platulina, as condições favoráveis para o seu aparecimento são as temperaturas baixas (pode desenvolver-se abaixo de 2°C) e a valores de pH entre 4.5 e 5. Os sintomas de intoxicação são a redução acentuada na ingestão, paragem ruminal, falta de coordenação dos movimentos, tremores, excitação, paralesia e morte (Asquith, 1991).

VI – DISCUSSÃO

Como é do conhecimento geral, a produção de silagens tem grande influência na base económica e alimentar das explorações açoreanas. Assim sendo, o alimento ensilado é uma mais valia, pois constitui uma reserva alimentar que serve de suporte nas épocas do ano em que a erva para o pastoreio é escassa, evitando assim que seja necessário adquirir concentrados ou outros complementos alimentares (Carreiro, 1989). No entanto, para que esse produto seja realmente uma mais valia é necessário que este reúna as condições elementares de alimentos, ou seja, deve ser nutritivamente rico e não possuir na sua composição elementos que ponham em risco a saúde animal e das pessoas que com eles trabalham (Seglar, 1997; Seglar, 1999).

Os fungos são responsáveis por várias doenças que podem atingir os efectivos animais, podendo levar a graves repercussões patológicas como micoses, alergias e micotoxicoses. Por outro lado, a presença do fungo não implica a produção da micotoxina, porque para além da capacidade genética do fungo é necessário que certos condicionalismos sejam satisfeitos para que o fungo produza a micotoxina. Acontece também a micotoxina ser detectada sem a presença do fungo produtor, uma vez que as formas vegetativas e germinativas do fungo podem ser inativadas por processos químicos ou por alteração dos factores ecológicos, enquanto que as micotoxinas permanecem no substrato (Martins, 1989).

O desenvolvimento do fungo deverá ser evitado ao máximo já que a sua presença, para além de constituir *per si* um patogénico, também produz toxinas, podendo provocar todos os problemas de sanidade animal já referenciados.

Para se obter uma silagem de boa qualidade deve-se garantir desde o início um bom controle de infestantes; colher a matéria-prima com as condições ideais de humidade, maturidade e de inoculo, ensilar o máximo de erva de qualidade; adubar correctamente; nunca deixar a erva espigar; evitar ensilar em dias chuvosos; não sujar a erva com terra; calcar muito bem a erva no silo; isolar o silo rapidamente isolando-o do ar e da água; encher o silo rapidamente, cortar a matéria-prima do tamanho ideal, manter uma taxa de vazão do silo que permita a menor degradação possível da silagem. Para além disso, e tendo em conta que os alimentos fermentados que são

geridos apropriadamente possuem propriedades fermentativas ideais e são seguras como alimento animal. Todas as silagens provavelmente contêm esporos patogênicos. Contudo, uma silagem fermentada convenientemente dá origem a um ambiente inóspito para os indesejáveis patogênicos como é o caso dos clostrídeos, Listeria, leveduras e fungos. Com estas medidas evitam-se avultadas perdas em termos sanitários e nutritivos quer das silagens de erva quer das silagens de milho.

VII- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca, M.R. Bragulat, M.L., G. Sastella e Cabanes F.J., 1994. A ocratoxina. A produção de *Aspergillus Níger* var. *Níger*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60: 2650-2652.
- Abramson, D.; Usleber, E.; Marlbauer, E., 2001. Immunochemical method for citrin. In: Trucksess, M. W., Pohland, A. F. (ed.). *Mycotoxin protocols*. Totowa: Humana Press, pp. 195-204.
- Aflatoxinas e outras micotoxinas [http://www.cve.saude.sp.gov-br/htm/hidrica/Aflatoxinas.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Aflatoxinas.htm), 2008. Acessado em 25/04/2011
- AL-TECH, Comércio e Importação Ltda. Efeitos das micotoxinas sobre a saúde e a produtividade de animais. Disponível em <http://www.altech.com.br/i01.htm>.> Acesso em 05/02/2001.
- Amado, M.A., 1999. Avaliação da micoflora natural e ocorrência da Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em amendoim e amêndoa de caju. Viseu: Instituto Politécnico: 1999. Dissertação apresentada em concurso de provas públicas para acesso à categoria de Professor coordenador.
- Anderson, S. J. 1995. Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages. *Journal of Food Protection*, v. 58, pp. 426-429.
- Asquith, 1991. R.L. Asquith, *Micotoxinoses*. In: J. Smith e E.R.A. Anderson, Editiors, *Micotoxinas e alimentos animais*, CRC Press, Bota Raton, FL (1991), pp. 679-688.
- Azerkiewa, 2009. O. Azerkiewa, micotoxinas nos grãos colhidos em 2008. O trigo, a Kemin Industries, Inc., 2009.
- Baião, A. 1993. Análise qualitativa da silagem de erva na ilha Terceira. Relatório de estágio nº 121. Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores. Angra do Heroísmo.
- Barug, D., H. Van Egmond, R. Garcia-Lopez, T. Van Osenbruggen e A. Visconti, 2003. Reunião, o Pimentinha “Micotoxinas”, Wageningen Academic Publishers, Holanda, 2003.

- Bata, Á e Lásztity, R. 1999. Detoxification of mycotoxin contaminated food and feed by microorganisms. *Trends in Food Science & Technol.* 10, 223-228.
- Bayman, P.; Baker, J. L.; Doster, M. A.; Michailides, T. J.; Mahoney, N. E. 2002. Ochratoxin production by the *Aspergillus ochraceus* group and *Aspergillus alliaceus*. *Applied Environmental Microbiology*, v.68, pp. 2.326-2.3.
- Beardall, J. M.; Miller, J. D. 1994. Disease in humans with mycotoxins as possible causes. In: Miller, J. D.; Thenholm, H. L. (Ed). *Mycotoxins in grains: compounds other than aflatoxin*. St. Paul: Eagen Press, pp. 487-539.
- Bennet, J. W.; Klich, M., 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*. Washington, DC, v. 16, n. 3, pp. 497-516.
- Bergere, J.L., 1996. Techniques d`analyse immunochimiques, in *Tecnicas d`analyse et contrôle dans les industries agro-alimentaires*. Linden G. Goord. Paris: Apria. 2: 343-370.
- Betina, V., 1984. *Mycotoxins: production, isolation, separation and purification*. Amsterdam: Elsevier, pp. 528.
- BIS, 2011. Brazil Industrial Solutions, 80210-000.Curitiba PR. central@bisbrazil.com.br. www.bisbrazil.com.br/dicas/aflatoxina.htm.
- Blane, P. J.; Loret, M. O.; Goma, G. 1995 Production of citrinin by various species of *Monoascus*. *Biotechnology letter*, v. 17, pp. 291-294,.
- Boonzaaijer, G., Bobeldijk, I. and Van Osenbruggen, W. A. 2005. Analysis of citrinin in dutch food, an evaluation of a SPE based method. *Food Control*, 16: 587-591,
- Brown, D., SP McCormick, Alexander NA, Proctor RH e Desjardins AE., 2001. Uma abordagem bioquímica e genética no estudo da diversidade de tricotecenos em *Fusarium graminearum*. *Fung. Genet. Biol.*, 32: 121-133.
- Burns, R. P.; Dwivedi, P. 1986. The natural occurrence of ochratoxin A and its effects in poultry. A review. Part I. Pathology and immunology. *World Poultry Science*, v. 42, pp. 48-62,

- Caldas, E. D., Silva, S. C.; Oliveira, J. N. 2002. Aflatoxinas e ochratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. *Revista de Saúde Pública*, v. 36, n. 3, pp. 319-323.
- Carlton, W. W.; Tuite, J. 1997. Metabolites of *P. viridacatum* toxicology. In: Rodricks, J. V.; Hesseltine, C. W.; Mehlman, M. A. (ed.). *Mycotoxins in human and animal health*. Park Forest South: Pathotox, pp. 525.
- Carratù, M. R.; Cassano, T.; Coluccia, A.; Borracci, P. e Cuomo, V. 2003. Antinutritional effects of fumonisin B1 and pathophysiological consequences. *Toxicology Letters*, 140-141, 459-463.
- Cañeque, V.; Lauzurica, S.; Guia, E. 1987. Bases técnicas del ensilado de forrages. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Servicio de investigacion Unidad de Produccion Animal.
- Carreiro, F., 1989. A Utilização dos Fenos e Silagens de Aveia e Aveia X Ervilhaca na Alimentação de Borregos em Crescimento – Acabamento. U. T. L.; F. M.V. Lisboa.
- Castilho, M.C. – Resíduos de hormonas analizantes: estudos de metodologias analíticas multiresíduos. Coimbra: faculdade de Farmácia: 1996. Tese de Doutoramento.
- Cavalcante, R.C.A., 2003. Conservação de forragem como estratégia de alimentação no período seco. Nordeste Rural. <http://Nordesterural.com.br/nordesterural/matler.asp?newsId=383>.
- Charmley, L. L.; Rosenberg, A. e Trenholm, H. L. (1994). Factors responsible for economic losses due to *Fusarium* mycotoxin contamination of grain, foods and feedstuffs. In: *Mycotoxins in Grains*. Miller J. D. e Trenholm H. L. (eds). St. Paul, MN: Eagan Press, pp. 471.
- Centers for Disease Control (<http://www.cdc.gov/>) Acessado em 25/04/2001
- Chu, F. S. 1991. Current immuno-chemical methods for mycotoxin analysis. In: Vanderlaan, M.; Stanker, L. H.; Watkins, B. E.; Roberts, D. W. (ed.). *Immunoassays*

for trace chemical analysis: monitoring toxic chemicals in human, food and the environment. Washington, DC, American Chemical Society, pp. 140-157.

- Cleveland *et al.* 2003. T.E. Cleveland, P.F. Dowd, A.E. Desjardins, D. Bhatnagar and P.J. Cotty, United States department of Agriculture – agricultural research service on pre-harvest prevention of mycotoxins and mycotoxigenic fungi in US crops, *Pest Manage. Sci.* 59 (2003), pp.629-642.
- Cotty *et al.*, 1994. Cotty , P.J., P. Bayman, D.S. Egel and K.S. Elias, 1994. Agriculture, aflatoxins and *Aspergillus*, pp.1-27. In K.A. Powell, A. Renwick, and J.F. Peberdy (ed.), *The genus Aspergillus*. Plenum Press, New York, N.Y.
- Creppy, E. E.; Chiarappa, P.; Baudrimont, I.; Borracci, P.; Moukha, S.; carratù, M. R. (2004). Synergistic effects of fumonisin B1 and ochratoxin A: are in vitro cytotoxicity data predictive of in vivo acute toxicity? *Toxicology*, 201(1-3), 115-123.
- Creppy, E. E. Human ochratoxicosis. *Journal of Toxicology and Toxin Review*, v. 18, pp. 277-293, 1999.
- Desai, K.; Sullards, M. C.; Allegood, J.; Wang, E.; Schmelz, E. M.; Hartl, M.; Humpf, H. U.; Liotta, D. C.; Peng, Q. e Merrill; Jr, A. H. (2002). Fumonisin and fumonisin analogs as inhibitors of ceramide synthase and inducers of apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1585, 188-192.
- Diener, U. L.; Cole, R. J., Sanders, T. H., Payne, G. A.; Lee, L. S.; Klich, M. A 1987. Epidemiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. *Annual Review of Phytopathology*, v. 25, pp. 249-270, 1987.
- Duvick, 2001. Qualfood.biostrument.com, 2001.
- Duthil, J. (1986). *A produção de forragens*. Editorial Presença. Lisboa, pp. 44-196.
- EMAN (2000). European Mycotoxin Awareness Network (<http://www.micotoxins.org>). 7-04-2004 FAO/WHO (2001). Fifty-sixth meeting, Geneva, Summary and conclusions (<http://www.who.int/pcs/jecfa/summary56.pdf>), 14-09-2003.

- Fassatiová, O., 1986. Moulds and filamentous fungi in technical microbiology. Elsevier. Volume 22, pp. 144-146.
- FAO. World wide regulations for micotoxins in food and in feed in 2003. FAO. Food and Nutrition Paper, 81. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e07.htm>. Acesso em 10-10-2011.
- FAO, 1997. Worldwide Regulations for Mycotoxins 1995. A compendium. FAO Food and Nutrition Paper 64. Rome, Italy.
- FAO/WHO. Worldwide regulations for micotoxins in food and in feed in 2001. Disponível em: <http://w.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e07.htm>. Acesso em 28-7-2011.
- FDA/CFSAN, 2003. Bad Bug Book. Aflatoxinas. URL: www.cfsan.fda.gov/mow/chap41.html.
- Feinberg, B., and C.S. McLaughlin, 1989. Biochemical mechanism of action of trichothecene mycotoxins, pp.27-35.
- Ferreira, H., Pittner, E, Sanches, H.F. Monteiro, M.C. 2006. Aflatoxinas: um risco à saúde humana e animal. *Ambiência – Revista do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais*, V. 2, No 1, jan/jun. 2006. Acessado em 25/04/2011
- Fink-Gremmels, J., 1999. Mycotoxins: their implications for human and animal health. *Veterinary Quarterly*, v. 21, pp. 115-120.
- Food and Agriculture Organization of the United States, *Micotoxins*; <http://www.fao.org/wairdocs/X50120/X5012001.htm>, 2008. Acessado em 25/04/2011.
- Forgacs, J. Mycotoxicoses – the neglected diseases. *Feedstuffs*, Mineapollis, v. 34, pp. 124-134, 1962.
- Freire, F. C. O.; Kozakiewicz, Z., 2005. Filamentous fungi, bacteria and yeasts associated with cashew kernels in Brazil. *Revista Ciência Agronômica*, v. 36, n. 2, pp. 249-254.

- Freire, F. C. O.; Kozakiewicz, Z.; Patterson, R. R. M. 2000. Mycoflora and micotoxins in Brazilian black pepper, white pepper and Brazil nuts. *Mycopathologia*, v. 149, pp. 13-19.
- Freire, F. C. O.; Kozakiewicz, Z.; Paterson, R. R. M. 1999. Mycoflora and mycotoxins of Brazilian cashew kernels. *Mycopathologia*, v. 145, pp. 95-103.
- Freymy, J. M.; Chu, F.S. 1989– Immunochemicals methods of analysis for Aflatoxins, in *Micotoxins in Dairy Products*. Van Emond ed. New York: Elsevier, 1989, pp.97-125.
- Frisvad, J. C.; Samson, R. A., 1992. Filamentous fungi in foods and feeds: ecology, spoilage and mycotoxin production. In: Arora, D. K., Mukerji, K. G., Marth, E. H. (ed.). *Food and Feeds*. New York: Marcel Dekker, pp. 31-68. (Handbook of applied mycology, 3).
- Furlong, E. B.; Valente Soares, L. M.; Lasca, C. C.; Kohara, E. Y. 1995. Mycotoxins and fungi in wheat harvested during 1990 in test plots in the state of São Paulo, Brazil. *Mycopathologia*, v. 131, pp. 185-195,
- Gervásio, G. (1995). Efeito do modo de conservação do Triticale forrageiro (*Triticale* sp.) sobre o seu valor nutritivo. Relatório de estágio nº 170. Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores. Angra do Heroísmo.
- Gilbert, J. 1993. Recent advances in analytical methods for mycotoxin. *Food Additives and Contaminants*. 10 (1993) 37-48.
- Gilbert, J.; Brereton, P.; Macdonald, S. 2001. Assessment of dietary exposure to ochratoxin A in the UK using a duplicate diet approach and analysis of urine and plasma samples. *Food Addit Contam*, v.18, n.12, pp. 1088-1093.
- Gonçalves, E, Pinto, M.M., Manginelli, S., Felício, J.D. 2004. Intoxicação de vacas leiteiras por farelo de algodão naturalmente contaminado com aflatoxinas. *Ciência Rural*, v.34, n.1, jan-fev, p. 171-174, 2004. Acessado em 25/04/2011

- Gordon, F. J., 1989. The principals of making and storing high quality, high intake silage. In silage for milk production. Edited by C. S. Mayne. BGS Occasional Symposium nº 23. Hurley, Maidenhead, Berkshire. U.K.
- Groopman, J.D.; Kensler, T. W. 1999. The light and the end of the tunnel for chemical specific biomarkers: daylight or healight? *Carcinogen* v.20, n.1, pp. 1-1.
- Hagler, W.M., Jr., N.R. Towers, C.J. Mirocha, R.M. Eppley, and W.L. Bryden, 2001. Mycotoxin Zearalenone, pp.321-331. In B.A. Summerell, J.F.Leslie, D. Backhouse, W.L. Bryden, and L.W. Burgess (ed.), *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. Aps Press, St. Paul, Minn.
- Hamilton, P. B.; Huff, W. E.; Harris, J. R.; Wyatt, R. D. 1982. Natural occurrences of ochratoxicosis in poultry. *Poultry Science*, v. 61, pp. 1832-1836.
- Henderson, A. R.; McDonald, P. e Woolford, M. K. (1972). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 23, pp. 1079-1087.
- Hetherington, A. C.; Raistrick, H. 2007. Studies in the biochemistry of microorganisms. Part XIV. On the production and chemical constitution of a new yellow colouring matter, citrinin, produced from glucose by *Penicillium citrinum* Thom. *Phylosophical Transactions of the Royal Society of London, Serie B*, v. 220B, pp. 269-295, 1931. Freire, F. C. O.; Vieira, I. G. P.; Guedes, M. I. F.; Mendes, F. N. P. *Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal*. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, CE.
- Hildebrand, B.; Boguhn, J. e Rodehutschord, M., 2010. Effect of maize silage to grass silage ratio and feed particle size on ruminal fermentation *in vitro*. *Animal*, 5: 528-536.
- Holmes, W., 1982. *Grass its Production and Utilization*. British Grassland Society. Blackwell scientific Publications, pp. 174-215.
- Hooning, A. G. and Woolford, M. K., 1980. The determinal effects of air on silage. *J. Appl. Bacterial*, 68, pp. 101-115.

- Hsieh, D. 1988. Potencial human health hazards of mycotoxins. In: Natori, S.; Hashimoto, K.; Ueno, Y. (ed.). *Mycotoxins and phytotoxins*. Third Joint Food and Agriculture Organization/WHO/United Nations Program International Conference of Mycotoxins. Amsterdam: Elsevier. pp. 69-80.
- Hussein , H.S., and J.M. Brasel, 2001. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167: 101-134.
- Iavicoli, I. *et al.* 2002. External and internal dose in subjects occupationally exposed to ochratoxin A. *Int Arch Occup Environ Health*, v.75, n.6, pp. 381-386, 2002.
- Jackson, N.; O'Neill, S. J. B. e Dawson, R. R., 1974. The composition and quality of grass silages made in Northern Ireland. *Rec. Agric. Res., Northern Ireland*, 22, pp. 45-54.
- Jackson, P. E., Groopman, J. D. 1999. Aflatoxin and liver cancer. *Baillières Clin Gastroenterol*, v.13, n.4, pp. 545-555,.
- Jay, JM. 2005. *Microbiologia dos alimentos*. Porto Alegre: Artmed, 2005. Ed. 6ª, pg. 132-137.
- Jelinek, E. P.; Miguel, M. A. S. and Varsavsky, E. (1989). Detección de aflatoxina y hongos en muestras de maíz de exportación. Council for Agricultural Science and Technology, 1989.
- Joffe, A. Z. 1978. *Fusarium poae* and *F. sporotrichioides* as principal causal agents of alimentary toxic aleukia. In: Willie, T. D.; Morehouse, L. G. (Ed). *Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses*. New York: Marcel Dekker, . V. 3, pp. 21-86.
- Josephs, R. D., Schuhmaker, R. and Krska, R. 2001. International interlaboratory study for the determination of the *Fusarium* mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol in agricultural commodities. *Food Addit. Contam.*, 18(5): 417-430.
- Jurgenson, J. E.; Zeller, K. A. e Leslie, J. F. (2002). Expanded genetic map of *Gibberella moniliformis* (*Fusarium verticillioides*). *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(4), 1972-1979.

- Katz, S.E.; SIEWERSKI, M. 1982. Drug residue analysis using immunoaffinity chromatography. *Journal of Chromatography*. 642 (1992) 403-409.
- Klick, M. A. 1987. Relation of plant water potential at flowering to subsequent cottonseed infection by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology*, v. 7, pp. 739-741.
- Kremer, A., Westrich, L., Li, S.M., 2007. Synthase from *Aspergillus fumigates*: overproduction, purification and biochemical characterization. *Microbiology* 153: 3409-3416.
- Krizsan, S.J.; Westad, F.; Adnoy, T.; Odden, E.; Aakre, S.E. e Randby, A.T., 2007. Effect of volatile compounds in grass silage on voluntary intake. *Animal*, 1: 283-292.
- Krogh, P. 1987. Ochratoxin in foods. In: Krogh, P, (Ed). *Mycotoxins in foods*. London: Academic Press, pp. 97-110.
- Kuiper-Goodman, T.; Scott, P. M 1989. Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomedic Environmental Science*, v. 2, pp. 179-248,.
- Kurtzman; C. P.; Horn;, B. W.; Hesseltine, C. W. 1987 *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamari*. *Anton Leeuwenhoek*, v. 53, pp. 147-158.
- Lacaz, C.S., Porto, E., Martins, J.E.C., Heins-Vacari, E.M. Melo, N.T. 2001. *Tratado de Micologia Médica*. São Paulo, SP: Sarvier, 9a edição, 2002. ISBN 85-7378-123-8. Acessado em 25/04/2011
- Leung, M. C. K.; Diaz-Llano, G.; Smith, T. K. 2006. Mycotoxins in pet food: review on worldwide prevalence and preventative strategies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, pp.9.623-9.635.
- Leeson, S.; Diaz, G. J.; Summers, J. D. 1995. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. Guelph: University Books, 1995, pp. 352.
- Lillards S. 2007 Mycotoxins list <<http://www.mold-help.org/content/view/457/>>, Acessado em 25/04/2011

- Lino, C.M. et al., 1998. Research on medical plants.II.Contamination with aflatoxins B1, B2, G1 and G2. Livro de actas do 1º Encontro Internacional de Plantas Aromáticas e Medicinais. Ansião, 1998, pp. 112-117.
- Lisker, N., and E.B. Lillehoj, 1991. Prevention of micotoxin contamination at the preharvest stage, pp.689-719. In J.E. Smith and R.S. Henderson (ed.), Mycotoxins and animal foods. CRC Press, Boca Raton, Fla.
- Louenço, A., 2006. Estaquibotriose: não é só pela boca que morre o peixe. Disponível em: <http://www.micotoxinas.com.br>. Acesso em 30 Julho 2011
- Manabe, M. 2001. Fermented foods and mycotoxins. Mycotoxins, v. 51, pp. 25-28.
- Marquardt, R. R.; Frohlich, A. A. 1992. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. Journal of Animal Science, v. 70, pp. 3.968-3.988.
- Marasas, W.F.O. , R.T. Riley, K.A. Hendricks, V.L. Stevens, T.W. Sadler, J. Gelineau-van Waes, S.A. Missmer, J. Cabrera, O. Torres, W.C.A. Gelderblom, J. Allegood, C. Martinez, J. Maddox, J.D. Miller, L. Starr, M.C. Sullards, A. Roman, K.A. Voss, E. Wang and A.H. Merrill. 2004. Fumonisin disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo: a potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin contaminated maize, J. Nutr. 134 (2004), pp. 711-716.
- Marquardt, R. R.; Frohlich, A. A., 1992.A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. Journal of Animal Science, v. 70, pp. 3.968-3.988.
- Martins, M. L.; Martins, H. M. e Bernardo, F. (2001). Fumonisin B1 and B2 in black tea and medicinal plants. J. Food Prot., 64(8), 1268-1270.
- McDonald, P., 1981. The Biochemistry of Silage. John Wiley & Sons Ltd. Chichester. U.K.
- McDonald, P.; Edwards, R. A.; Greenhalgh, J. F. D., 1988. Nutrition Animal 4ªEdition. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza (Espanña).

- McDonald, P.; Henderson, A. R.; Heron, S. J. E., 1991. The Biochemistry of Silage. Second Edition. Chalcombe Publications, pp. 123-151.
- McDougall, I. e Jackson, N., 1977. Chemical Composition and Nutritional Value of Hay, made in Northern Ireland during the period 1966-1975. Rec. Agric. Res., Northern Ireland,25, pp. 63-90.
- Miller, J. D. Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. Journal Stored Products Research, Amsterdam, v. 31, n. 1, pp. 1-16, 1995.
- Miller, J. D.; Apsimon, J. W.; Blackwell, B. A.; Greenhalgh, R.; Taylor, A. Deoxynivalenol: a 25 year perspective on a trichothecene of agricultural importance. In: Summerell, B. A.; Leslie, J. F.; Backhouse, D.; Bryden, W. L., Burgess, L. W., (Ed). Fusarium. St Paul: APS Press, pp. 31-319, 2001.
- Meky, F. A. *et al.* 2003. Development of a urinary biomarker of human exposure to deoxynivalenol. Food Chem Toxicol, v.41 pp. 265-73.
- Momany, F. A. e Dombrink-Kurtzman, M. A. (2001). Molecular Dynamics simulations on the mycotoxin fumonisin B1. J. Agric. Food Chem., 49, 1056-1061.
- Mortimer, D.N. et al., 1997. Rapid and highly sensitive analysis of aflatoxins M1, in liquid and powdered milk using affinity column cleanup. Journal of Chromatography. 407 (1997) 393-398.
- Moss, M. O., 2002. Mycotoxin review- 1. *Aspergillus* and *Penicillium*. Mycologist, v. 16, pp. 116-119.
- Moss, M. O.; Long, M. T., 2002. Fate of patulin in the presence of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Food Additives and Contaminants, v. 19, pp. 387-399.
- Mycotoxins. <http://www.romerlabs.com/mycotoxins.html> , 2008. Acessado em 25/04/2011
- Newman, K., 2006. The biochemistry behind esterified glucomannans – titrating mycotoxins out of the diet. In: Biotechnology in the feed Industry, Proceedings of

- Alltech's 16th Annual Symposium. Loyons, T. P., Jacques, K. A. Nottingham University Press, UK. pp. 511.
- Oliveira, A. Q. e Valente Soares, L. M. 2001. Avaliação de métodos para determinação de tricotecenos em milho por cromatografia gasosa. Ver. Inst. Adolfo Lutz, 60 (2): 129-134.
 - Oliveira, M. S.; Prado, G.; Abrantes, F. M.; Santos, L. G.; Veloso, T. 2002. Incidência de aflatoxinas, desoxinivalenol e zearalenona em produtos comercializados em cidades de Minas Gerais no período de 1998-2000. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 61, n. 1, pp. 1-6.
 - Pereira, M. M. G.; Carvalho, E. P.; Prado, G.; Rosa, C. A. R.; Veloso, T.; Souza, L. A. F.; Ribeiro, J. M. M. 2005. Aflatoxinas em alimentos destinados a bovinos e em amostras de leite da região de Lavras, Minas Gerais, Brasil. Ciência Agrotécnica, v. 29, n. 1, pp. 106-112.
 - Peterson, S. W.; Ito, Y.; Horn, B. W.; Goto; T. 2001. *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species *A. nomius*. Mycologia, v. 93, pp. 689-703, 2001.
 - Pitt, J. I. 2000. Toxigenic fungi: which are important? Medical Mycology, v. 38, pp. 17-20, 2000. Suplemento 1.
 - Pitt, J. I.; Hocking, A. D. 1986. Mycotoxins in foods: implication for human health. In: Wahlqvist, M. L.; Truswell, A. S. (Ed). Recent advances in clinical nutrition. London: John Libby, pp. 161-168,.
 - Pitt, J. I.; Hocking, A. D. 1999. Methods for isolation, enumeration and identification. In: Fungi and food spoilage. 2.ed. Gaithersburg: Aspen, pp.21-57.
 - Poling, S. M. e Plattner, R. D. (1999). Rapid purification of fumonisins and their hydrolysis products with solid-phase extraction columns. J. Agric. Food Chem., 47, 2344-2349.

- Prado, G.; Oliveira, M. S.; Abrantes, F. M.; Santos, L. G.; Veloso, T.; Barroso, E. S. Incidência de ochratoxina A em café torrado e moído e em café solúvel consumido na cidade de Belo Horizonte, MG. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 20, n. 2, pp. 192-196, 2000.
- Puchades, R. e tal., 1992. A Comprehensive Overview on the Application of Low Injection Techniques in Immunoanalysis. *Critical Review in Analytical Chemistry*, 23;4 (1992) 300-321.
- Raisuddin, S., 1993. Toxic responses to aflatoxins in a developing host. *Journal of Toxicology: Toxin Review*, v. 12, pp. 175-201.
- Reis, P., 1994. Análise da qualidade das silagens de milho e de erva na ilha Terceira. Tese de licenciatura em Engenharia Zootécnica. Relatório de estágio nº 143. Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores.
- Rheeder, J.P., W.F. Marasas, and H.F. Vismer, 2002. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol*, 68: 2102-2105.
- Rosa, C. A. R.; Cruz, L.C. H.; Chagas, W. A.; Veiga, C. E. M. O. Ocorrência natural de nefropatia micotóxica suína causada pela ingestão de cevada contaminada com citrinina. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 7, pp. 87-90, 1985.
- Saito, M.; Enomoto, M., Tatsuno, T. Yellowed rice toxins: luteoskyrin and related compounds, chlorine-containing compounds and citrinin. In: Ciegler, A.; Kadis, S.; Ayl, S. J. (Ed). *Microbial toxins*. New York: Academic Press, v. 6, pp. 299-380, 1971.
- SANTOS, C.C.M, LOPES, M.R.V., Kosseki, S.Y. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados. *Ver. Inst. Adolfo Lutz*, 60(2):153-157, 200. Acessado em 25/04/2011
- Schwarzer, 2009. Schwarzer, K., 2009. Harmful effects of mycotoxins on animal, physiology. In: 17 th Annual ASAIM SEA Feed Technology and Nutrition Workshop, Hue, Vietnam.

- Schlatter, C. H.; Studer-Rohr, J.; Rásonyi, T. H. 1996. Carcinogenicity and kinetic aspects of ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants*, v. 13, pp. 43-44.
- Schwarzer, H. 2000 Impactos socio económicos dos sistemas rurais no Brasil, 2000. Disponível em <http://www.ipea.gov.br>. Acesso em 10-6-2011.
- Scott, P. M. e Lawrence, G. A. (1992). Analysis of beer for fumonisins. *J. Food Protection* 58(12), 1379-1382. Scudamore, K. A.; Nawaz, S. e Hetmanski, M. T. (1997). Determination of micotoxins in pet foods sold for domestic pets and wild birds using linked-column immunoassay cleanup and HPLC. *Food Add. Contam.*, 14(2), 175-186.
- Scudamore, K. A. 1996. Ochratoxin A in animal feed-effects of processing. *Food Additives and Contaminants*, v. 13, pp. 39-42,
- Seglar, W. J. 1997. Silage Fermentation. *Compendium of Food Animal Medicine and Management*. Vol. 19 (2), pp. 65-83.
- Sforza, S., Dall'Asta, C., and Marchelli, R. 2006. Recent advances in mycotoxin determination in food and feed by hyphenated chromatographic techniques/mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, 25: 54-76,.
- Smith, J. E.; Solomons, G.; Lewis, C., Anderson, J. G. 1995. Role of micotoxins in human and animal nutrition and health. *Natural Toxins*, England, v. 3, n. 4, pp. 187-192.
- Soriano, J. M. e Dragacci, S. (2004). Intake, decontamination and legislation of fumonisins in foods. *Food Research International* 37(4), pp. 367-374.
- Stafford, M. E.; McLaughlin, C. S. 1973. Trichodermin, a possible inhibitor of the termination process of protein synthesis. *Journal of Cell Physiology*, v. 82, pp. 121-124.
- Turner, P. C.; Nikiema, P. e Wild, C. P. (1999). Fumonisin contamination of food: progress in development of biomarkers to better assess human health risks. *Mutation Research*, 443, 81-93.

- Van Egmond, H. P.; Speijers, G. J. A. 1994. Survey of data on the incidence and levels of ochratoxin A in food and animal food worldwide. *Natural Toxins*, v. 3, pp. 125-144, 1994.
- Van Peteghem, C. Review of methods for residue analysis. In *Vitro toxicological studies and real time analysis of residues in food FLAIR*. Concerted. Action nº 8. Proceeding of workshops held in Ghent, May 22-24, 1992, and Thessaloniki, October 30-31, 1992, 41-46
- Wagacha e Muthomi, 2008. J.M. Wagacha and J.W. Muthomi. Mycotoxin problem in Africa: current status, implications to food safety and health and possible management strategies, *Int. J. Food Microbiol.* 124 (2008), pp.1-12.
- Whitaker, T. B.; Slate, A. B.; Johanson, A. S. 2005 Sampling feeds for micotoxin analisis In: DIAZ, D. E. *The micotoxin blue book*. Nottingham: Nottingham University, pp. 1-21.
- <http://pt.wikipedia.org/wiki/Micotoxina>, pág. Modificada em 23 de Março de 2011. Acessado em 25/04/2011
- www.ipv.pt
- USFDA-CFSAN, 2001
- Wei, C. M.; Campbell, I. M.; McLaughlin, C. S.; Vaughn, M. H. 1974. Binding of trichodermin to mammalian ribosomes and its inhibition by other 12, 13 – epoxytrichothecenes. *Molecular Cell Biochemistry*, v. 3, pp. 215-219.
- Whitlow, L. W., Jr. Hagler, W. M., 1999. Association of mycotoxins with production, health and reproduction in dairy cattle and guidelines for prevention and treatment. In: *Biotechnology in the feed industry*, Proceedings of Alltech's 15th Annual Symposium. Lyons, T. P., Jacques, K. A. Nottingham University Press, UK, pp.401.

- WHO. (2002). Evaluation of certain mycotoxins in food. Report of the 56th meeting of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. WHO technic report series 906. Geneve, Switzerland: WHO.
- Williams, L. D.; Bacon, C. W.; Meredith, F. I.; Franzluebbbers, A. J.; Wyatt, R. D.; Smith, M. A. e Riley, R. D. (2003). Leaching and biding of fumonisins in soil microcosms. J. Agric. Food Chem., 51, pp. 685-690.
- Woolford, M. K., 1984. The silage fermentation. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Zinedine,A.; Soriano,J.;Molto,J.; Man,J.; 2007 Review on the toxicity, occurrence, metabolim,detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin; Food and Chemical Toxicology; vol 45; 2007; pag 1-18.
- (FDA/CFSAN 2003)<http://www.cfsan.fda.gov/chap41.html>)
- (<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Aflatoxinas.htm>)
- (<http://www.bisbrasil.com.br/aflatoxina.htm>)
- (www.bisbrasil.com.br/aflatoxina.htm)
- (<http://es.wikipedia.org/wiki/Aflatoxina>).

VIII – ANEXOS

Anexo. 1 Tabela de Micotoxinas, Fungos e Sintomas

Micotoxina	Fungos	Sintomas
Penitrem A	<i>Penicillium palitans</i> <i>P. cyclopium</i> <i>P. crustosum</i> <i>P. spinulosum</i>	Tremogência convulsiva
Fumitremorgem	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>A. caespitosus</i> <i>A. lanosum</i>	
Esporidesmina	<i>Pithomyces chartarum</i>	Eczema facial, fotossensibilidade. Inflamação geral, aumento da permeabilidade capilar e diarreia.
Ergotina	<i>Claviceps purpurea</i>	Ação no sistema nervoso central com convulsões, gangrena e morte.
Maltorizina	<i>Aspergillus oryzae</i>	Paralisia muscular e morte
Chetomini	<i>Chetomium cochlioides</i>	Propriedade antibacteriana.
Diplodiatoxina	<i>Diplodea zea</i>	Salivação, ataxia e morte.
Eslaframina	<i>Rhizoctonia liguminicula</i>	Salivação intensa, diarreia e morte.
Satrotóxina	<i>Stachybotrys atra</i>	Hemorragia, necrose de membranas.
Estaquibotritoxinas	<i>Stachybotrys atra</i>	Hemorragia, necrose de membranas.
Esporidesmina	<i>Pithomyces chartarum</i>	Eczema facial, lesões no fígado e ductos biliares.
Psoralenos	<i>Sclerotonia sclerotiorum</i>	Dermatite
Ác. Epicladospórico	<i>Cladosporium epilhyllum</i>	Aleucia tóxica alimentar (ATA)
Cicloclarotina	<i>Penicillium islandicum</i>	Hepatotóxicas
Ác. Fagicladospórico	<i>Cladosporium fagi</i>	ATA
Satratóxina	<i>Stachybotrys</i>	Hemorragia, dermatite necrótica.
Citochalsina E	<i>Aspergillus clavatus</i>	
Toxina Pr	<i>Penicillium roquiforti</i>	Aborto
Gliotoxinas	<i>Penicillium terlikowskii</i> <i>Gliocladium fimbriatum</i>	Inibe crescimento de fungos
Estachibotriotoxina	<i>Stachybotrys atra</i>	Estomatite, fissuras nos cantos da boca, necrose na pele, leucopenia, agranulocitose, aumento de temperatura, pulso fraco, arritmias e freqüentes diarreias.
Fumigotina	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Hemorragia aborto
Ác. Ciclopiazônico	<i>Penicillium cyclopium</i>	Tremores, convulsões, lesões nos rins.

Nefrotina	<i>Penicillium viridicatum</i>	Danos nos rins
Citrinina	<i>Penicillium citrinum</i>	33,0 subcutânea em ratos Nefroses
Roquefortina	<i>Penicillium roqueforti</i>	Inibição da cadeia
Rugulosina	<i>Penicillium rugulosum</i>	Nefrose e dano ao fígado.
Diacetoxiscinpenol	<i>Fusarium tricinctum</i>	23 Camundongo(intraperitoneal) ATA, diarreia perda de peso necrose da epiderme.
Tricotecenos	<i>Fusarium tricinctum</i> <i>F. equiseti</i> <i>F. toxicum</i>	Diarréias e perda de peso, necrose da epiderme, hemorragia, respiração problemática.
Fusariogenina	<i>Fusarium sporotrichoides</i>	ATA, exaustão da medula óssea, perda de peso e diarreia.
Deoxinivalenol	<i>Fusarium moniliforme</i>	ATA, diarreia e perda de peso.
Moniliformina	<i>Fusarium moniliforme</i> <i>F. proliferatum</i>	Em aves: diarreia escura, ovos com casca suja, promove ganho de peso, hidropericardio, palidez do miocárdio e ascitis. Homem: doença de Keshan.
Fusarochromanona	<i>Fusarium equiseti</i>	Perda de peso, alterações esqueléticas.
Alternariol (Aoh)	<i>Alternaria</i>	Diarreia, prostração, morte, inibição da síntese protéica.
Furocoumarinas	<i>Sclerotinia Sclerotiorum</i>	Efeito fototóxico
Ipomeamarona	<i>Ceratostyxis fimbriata</i>	Morte
Ácido Kojic	<i>A. Tamari A. oryzae</i>	Edema, prostração.
Oosporeina	<i>Oospora colorans</i>	Deposição de urato nos órgãos viscerais e junção das pernas, pró-ventriculite, necrose da mucosa.
	<i>Verticillium psalliotae</i>	
Ac.Penicílico	<i>P.olivino-viriall</i> <i>P.mortersii, P.ochraceus</i> <i>P.cyclopium, P.fenelliae</i> <i>P.pulitans, P.pubersulum</i>	Carcinogênico, citotóxica, hepatotóxica, dilata coronárias e artérias pulmonares.
Phomopsina	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>	Doença da lupinina
Swainsonina	<i>R.leguminicola</i>	Síndrome de Slobber, salivação excessiva

Anexo.2 Tabela dos Fungos e Tóxicas

Existe uma grande variedade de fungos, mas são poucos os que desempenham um papel importante no campo zootécnico. Dentre eles, deve-se destacar os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* e *Alternaria*.

FUNGO	TOXINA
<i>Aspergillus</i>	- Aflatoxinas - Sterigmatocistina - Ocratoxina A
<i>Fusarium</i>	- Tricotecenos (DON, NIV, T2, DAS) - Zearalenonas - Fumonisinias - Fusarina - Moniliformina
<i>Penicillium</i>	- Patulina - Citrinina - Ocratoxina A