

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO

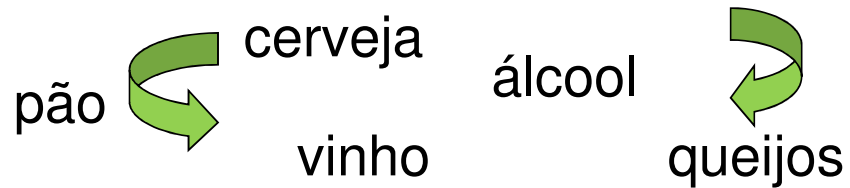
ITAL



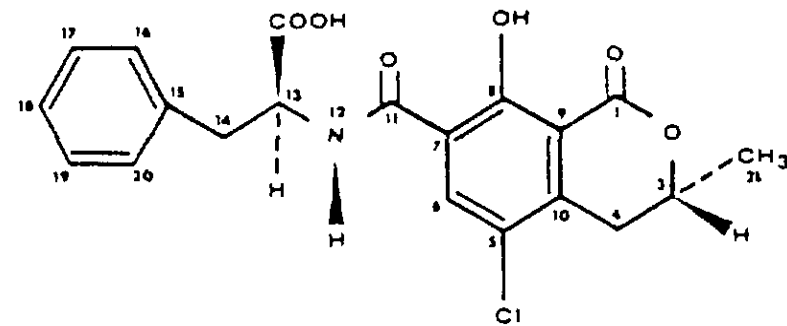
FUNGOS E MICOTOXINAS DE IMPORTÂNCIA EM ALIMENTOS

Importância dos fungos

- ✓ Processos industriais = fermentação, maturação



- ✓ Utilizados como alimentos
- ✓ Produção antibióticos, enzimas, ácidos
- ✓ Causam doenças em animais, homens e vegetais
- ✓ São potenciais deterioradores de alimentos
- ✓ Algumas espécies produzem micotoxinas





Fatores de crescimento e versatilidade dos fungos

- Atividade de água do substrato
 - Crescimento em atividade de água reduzida (0,61 – 0,99)
- Maioria aeróbios (algumas exceções)
- pH
 - Crescimento ampla faixa de pH (2,0-9,0)
- Temperatura
 - Crescimento <0°C a 40°C
 - Maioria não são termorresistentes (algumas exceções)
- Utilizam várias fontes de carbono e nitrogênio
- Não são resistentes aos conservantes (algumas exceções)



Importância dos fungos nos alimentos

Em alimentos de umidade intermediária (a_w 0,60-0,89),
são os principais deterioradores.

Definem a vida de prateleira do produto.

Espécies Fúngicas nos Alimentos

- Brasil tem uma grande biodiversidade de fungos.
- Espécies fúngicas mais comuns nos alimentos:



Aspergillus



Penicillium



Fusarium



Alternaria



Gêneros importantes de fungos filamentosos em alimentos

Aspergillus, *Penicillium*, *Fusarium*, e *Alternaria* são os gêneros mais importantes relacionados às micotoxinas.

Aspergillus é mais importante nos trópicos e sub-trópicos.

Penicillium é mais importante em regiões temperadas e nas regiões polares, mas certas espécies são também comuns nos trópicos.

Fusarium e *Alternaria* são comuns em toda parte.

Principais fungos deterioradores de alimentos

Aspergillus flavus, A. parasiticus



Penicillium expansum



Principais fungos deterioradores de alimentos

Penicillium digitatum



Aspergillus carbonarius, A. niger



Rhizopus stolonifer





Principais fungos deterioradores de alimentos

ESPÉCIA FÚNGICA	ALIMENTOS
<i>Aspergillus flavus</i>	Amendoim, milho
<i>Byssochlamys fulva</i>	Alimentos enlatados ácidos
<i>Botrytis cinerea</i>	Uvas, frutas moles
<i>Aspergillus glaucus</i>	Marmelada, geléia
<i>Aspergillus chevalieri</i>	Grãos, farinhas
<i>Fusarium verticillioides</i>	Milho
<i>Penicillium verrucosum</i>	Cereais (Climas temperados)
<i>Penicillium digitatum</i> (verde)	Frutas cítricas
<i>Penicillium italicum</i> (azul)	Frutas cítricas
<i>Penicillium expansum</i>	Maçãs, peras
<i>Penicillium commune</i>	Queijo cheddar
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Morangos
<i>Xeromyces bisporus</i>	Bolo de frutas, tâmaras secas
<i>Wallemia sebi</i>	Peixes salgados
<i>Alternaria tenuis</i>	Tomates
Leveduras	Bebidas, alimentos líquidos



Micotoxinas



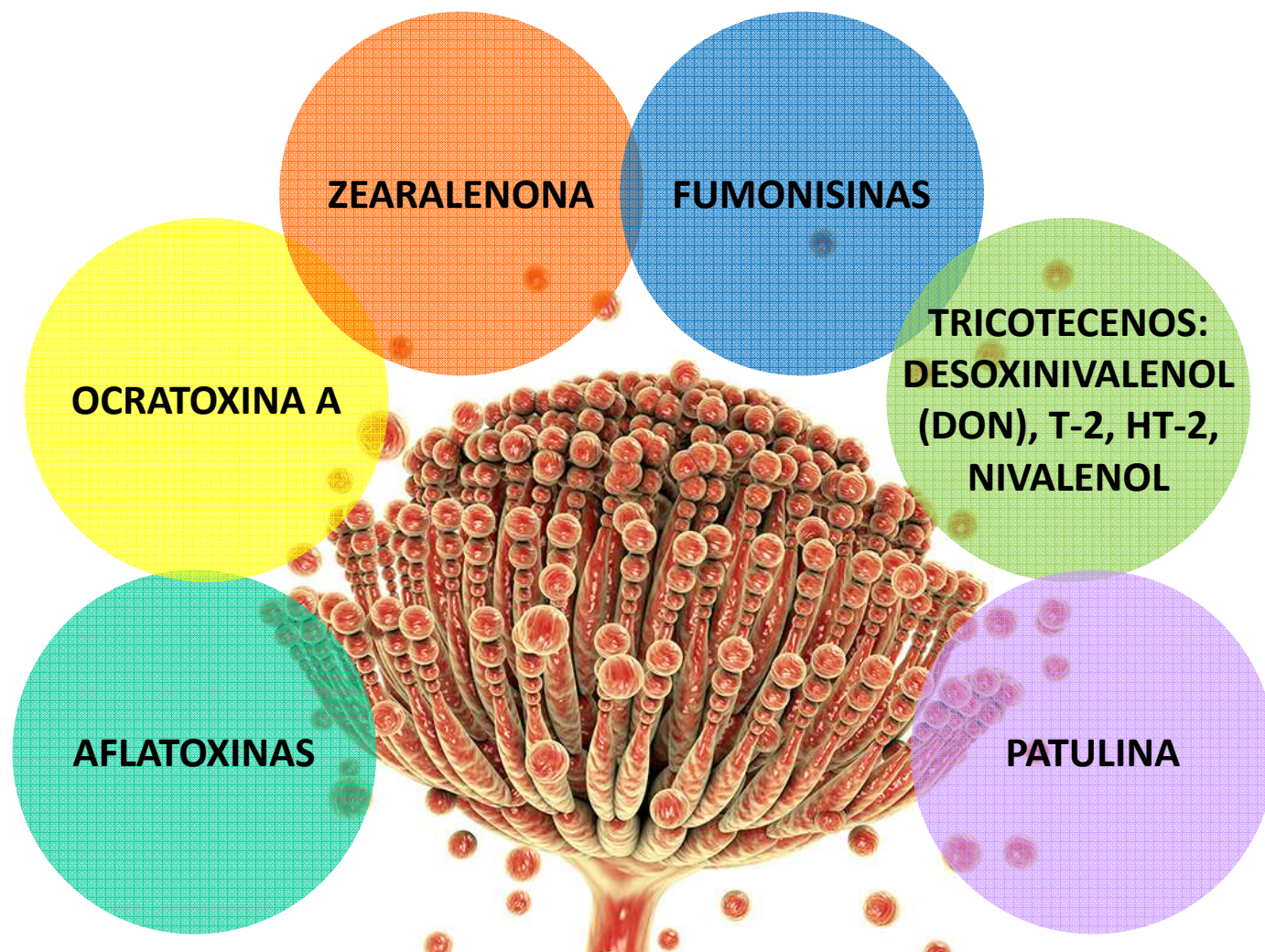
→ Metabólitos tóxicos produzidos por algumas espécies fúngicas

→ Toxigênicas em animais e humanos

→ Podem estar presentes em qualquer tipo de alimentos, mas alguns alimentos são mais susceptíveis que outros.



Principais grupos





Classificação das micotoxinas

- ✿ **Cancerígenas:** aflatoxinas, esterigmatocistina, ácido ciclopiazônico
- ✿ **Mutagênica:** aflatoxinas
- ✿ **Hepatotóxicas:** aflatoxinas
- ✿ **Nefrotóxicas:** ocratoxina A, citrinina
- ✿ **Estrogênica:** zearalenona
- ✿ **Neurotóxica:** patulina, penitrem A, fumonisina



Toxidez de algumas micotoxinas

Substâncias tóxicas	DL 50 (mg/kg)	Animal (via oral)
Aflatoxina B1	0,56	Rato
Patulina	700	Camundongo
Ocratoxina A	3,0	Marreco
Cianeto de potássio	36	Rato
Arseniato de chumbo	500	Rato



Micotoxicoses

Doenças causadas pela exposição às micotoxinas, podem ser manifestas como agudas à crônicas, desde morte rápida à formação de tumores.

Doenças ocultas podem ocorrer se a micotoxina interferir com o processo imunológico, levando o paciente à susceptibilidade de doenças infecciosas.

Micotoxicoses

Ergotismo (desde 1750)

Fungo: *Claviceps purpurea* (esclerócios)

Toxina: alcaloide ergot

Fonte de alimento: grãos principalmente centeio

Sintomas: constrição nos vasos sanguíneos chegando às mãos e pés, causando infecções bacterianas (gangrenas); afeta a mente causando alucinações devido ao ácido lisérgico, em alguns casos mortes.

Exemplos: fogo de Santo Antonio ou São Vitus

Toxinas são alcalóides com uso farmacêutico.

Relatos de casos de ergotismos: Europa (1954); Etiópia (1979); surto de ergotismo com gangrena (King, B. 1979).





Micotoxicoses

Aleucia Tóxica Alimentar (ATA)

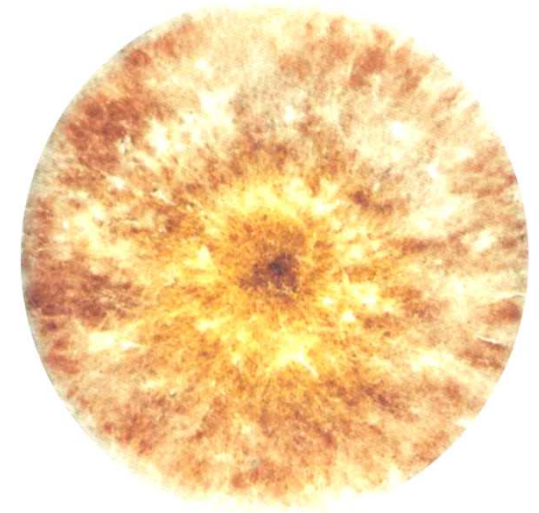
Fungo: *Fusarium poae*, *F. sporotrichioides* (Toxinas: T-2, HT-2)

Fonte de alimento: grãos

Sintomas: atrofia da medula óssea, lesões necróticas, hemorragia no nariz, garganta e gengivas, supressão dos sistema imune e mortes.

Relatos de casos de ATA: Rússia (Orenburg, 1942-1948) devido ao consumo de grãos armazenados no campo. Outros casos na Europa, Rússia, Japão e EUA (Ueno, 1980); câncer esofágico na República de TransKei (África do Sul).

Chuva amarela “yellow rain”: guerra do Vietnã (Laos, ThaiKampuchean)





Micotoxicoses

Beriberi cardíaca aguda (shoshin kakke)

Fungo: *Penicillium citreonigrum*, *Penicillium ochrosalmoneum*

Toxina: citreoviridina

Fonte de alimento: arroz

Sintomas: dificuldade na respiração, náusea e vômito, dores severas, paralisia progressiva levando à falhas na respiração e morte.

Relatos de casos: doença conhecida como “Yellow rice” no Japão (Uraguchi, 1971).

Milho infectado com *Penicillium ochrosalmoneum* contendo altas quantidades de citreoviridina (Wicklow et al. 1988).

2006 – 2008: Surto de beribéri no estado do Maranhão 1028 casos e 32 mortes (Rosa et al., 2010), devido ao consumo de arroz infectado com *P. citreonigrum*. Amostras contaminadas com CTV em níveis de 12 a 96,7 µg/Kg, e duas amostras de farelo de arroz com 128 e 254 µg/Kg.



Micotoxicoses

Aflatoxicoses

Fungo: *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*

Toxina: aflatoxinas

Fonte de alimento: amendoim, milho, castanhas.

Sintomas nos animais: danos no fígado agudo, cirrose hepática, indução de tumores e efeitos teratogênicos e genéticos.



Micotoxicoses

Relatos de casos de aflatoxicoses:

- ❖ Em 1967 em Taiwan 26 pessoas adoeceram e 3 morreram. Arroz contaminado com aflatoxina B₁ (Shank, 1978).
- ❖ Em 1974 na Índia um surto de hepatite afetou 400 pessoas, 100 morreram. Milho altamente infectado com *Aspergillus* e aflatoxinas em concentração de 15 mg/kg. O consumo de alguns adultos afetados foi em estimado torno de 2 a 6 mg em 1 dia.
- ❖ Crianças com síndrome de Reye: doença que afeta o cérebro e o fígado, é causa comum de morte de crianças no Sudeste asiático. Shank et al (1971) encontraram níveis em torno de 1 a 4 g/kg no fígado de 23 crianças tailandesas que morreram da síndrome de Reye.



Micotoxicoses

- ❖ Aflatoxinas e câncer hepático primário: alta incidência na África e Sudeste asiático.
- ❖ Estudos realizados no Quênia, Suazilândia, Uganda, Moçambique e Tailândia, indicaram uma correlação positiva entre ingestão de aflatoxinas e a ocorrência de câncer no fígado (van Rensburg, 1977).
- ❖ As aflatoxinas agem sinergisticamente com o vírus de hepatite B: potencializa a formação do câncer (30 vezes).



Micotoxicoses

Ocratoxicoses

Fungo: *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus*, *A. westerdjikiae*, *A. carbonarius*, *A. niger*

Toxina: ocratoxina A

Fonte de alimento: cereais, vinho, frutas secas, café, cacau e outros

Sintomas nos animais: danos nas funções renais, fibrose intestinal, carcinomas em ratos

Doenças em humanos: Não existem evidências concretas.



Ocratoxina A em tecidos e fluidos de humanos

Tecido ou fluido	País	Nº positivo/Nº amostras	Nível ou media (ng/mL)
Soro	Eslovênia	42/639	1 - 57
Soro	Polónia	77/1065	0,27
Soro	Alemanha	173/306	0,6
Soro	Bulgária	110/576	18
Soro	França	≤ 22%	0,1 - 6
Plasma	Dinamarca	46/96	0,1 – 9,2
Plasma	Bulgária	45/312	14
Leite	Alemanha	4/36	0,017 - 0,3
Leite	Itália	9/50	1,7 – 6,6
Sangue	Canadá	63/159	0,27 – 35,3



Micotoxicoses

Toxicoses de fumonisinas

Fungo: *Fusarium verticillioides*

Toxina: fumonisinas

Fonte de alimento: milho, sorgo

Doenças nos animais: leucoencefalomalácia em equinos,

Em humanos: associação entre o consumo de milho embolorado com altos índices de câncer esofágico, displasia esofágica encontrados na África do Sul, Itália (polenta), China.



Micotoxicoses

Outras relações de fumonisinas:

- Ação sinérgica com aflatoxinas causando o câncer primário
- Populações na região de Transkei e na China que consomem milho embolorado, apresentaram alta incidência de defeitos no tubo neural, provavelmente porque a fumonisina inibe a tomada de ácido fólico via os receptores de folatos.
- Experimentos com animais em laboratórios tem comprovado este efeito.



Micotoxicoses

Toxicoses de Zearalenona

Fungo: *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*

Toxina: zearalenona (estrógeno)

Fonte de alimento: cereais (milho)

Doenças nos animais: afeta o sistema reprodutivo, infertilidade, hiperestrogenismo em suínos, inchaço nas vulvas, aumento nas mamas.

Em humanos: puberdade prematura, aumento prematuro de seios, pseudo-puberdade em proporções epidêmicas em Porto Rico (Saenz de Rodriquea et al. 1985). Suspeitas de afetar o sistema endócrino.



Micotoxicoses

Toxicoses de Desoxinivalenol (DON)

Fungo: *Fusarium graminearum* e *F. culmorum*

Toxina: desoxinivalenol (vomitoxina)

Fonte de alimento: cereais (trigo), fusariose da espiga de trigo

Doenças nos animais: vômito, recusa de alimentos em suínos, perda de peso, diarreia. Intoxicação aguda causa necroses em vários tecidos, na medula óssea e no trato gastrointestinal.

Em humanos: sintomas gastrointestinais, como náusea, vômito, diarreia, dores abdominais, dor de cabeça, tontura e febre.

Ásia: 35 surtos de doenças de origem alimentar foram atribuídos à exposição de DON presente no trigo

Índia: 50.000 pessoas apresentaram sintomas de vômito e tontura, após o consumo de pão feito com trigo danificado. A análise detectou presença de DON.

Micotoxinas em alimentos

ITAL

apta

AGROSP
SUSTENTÁVEL E INOVADOR

SECRETARIA DE
AGRICULTURA E
ABASTECIMENTO

SÃO PAULO
GOVERNO DO ESTADO



Considerações importantes

- ▶ Mais de 300 conhecidas;
- ▶ Não são todos os fungos que produzem as micotoxinas;
- ▶ A ausência de fungos não implica na ausência de micotoxinas;
- ▶ Podem estar presentes em qualquer tipo de alimento, porém existem alimentos que são mais susceptíveis do que outros.



Alimentos com um alto risco de contaminação por micotoxinas

Alimento	Fungo provável	Micotoxinas prováveis
Amendoim Castanha do brasil	<i>A. flavus, A. parasiticus, A. nomius</i>	Aflatoxinas
Milho e cereais a base de milho	<i>A. flavus, A. parasiticus</i>	Aflatoxinas
	<i>Fusarium spp.</i>	Tricotecenos, Zearalenona
	<i>F. verticillioides</i>	Fumonisinhas
Trigo e cereais a base de trigo	<i>Fusarium graminearum</i>	Tricotecenos (DON)
	<i>Alternaria spp.</i>	Alternariol, Ácido tenuazônico
	<i>A. flavus</i>	Aflatoxinas



Micotoxinas encontradas em frutas

Micotoxinas	Frutas	Fungos produtores
Patulina	Maçã	<i>Penicillium expansum</i>
Aflatoxinas	Figo	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
Ocratoxina A	Uvas Figs Tâmaras Groselha	<i>A. ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i>



Regulamento Brasileiro para as Micotoxinas

2011: ANVISA - RDC Nº 7/11

Limites máximos para 6 micotoxinas para mais de 20 categorias de alimentos

Aflatoxinas

Ocratoxina A - OTA

Fumonisinias

Desoxinivalenol - DON

Zearalenona

Patulina

2013: ANVISA - RDC Nº 59/13 aplicação em 01/01/2017

2017: ANVISA - RDC 138/17 aplicação em 01/01/2019

2021: ANVISA – RDC 487/2021 – IN 88/2021

Métodos de detecção de micotoxinas em alimentos

ITAL

apta

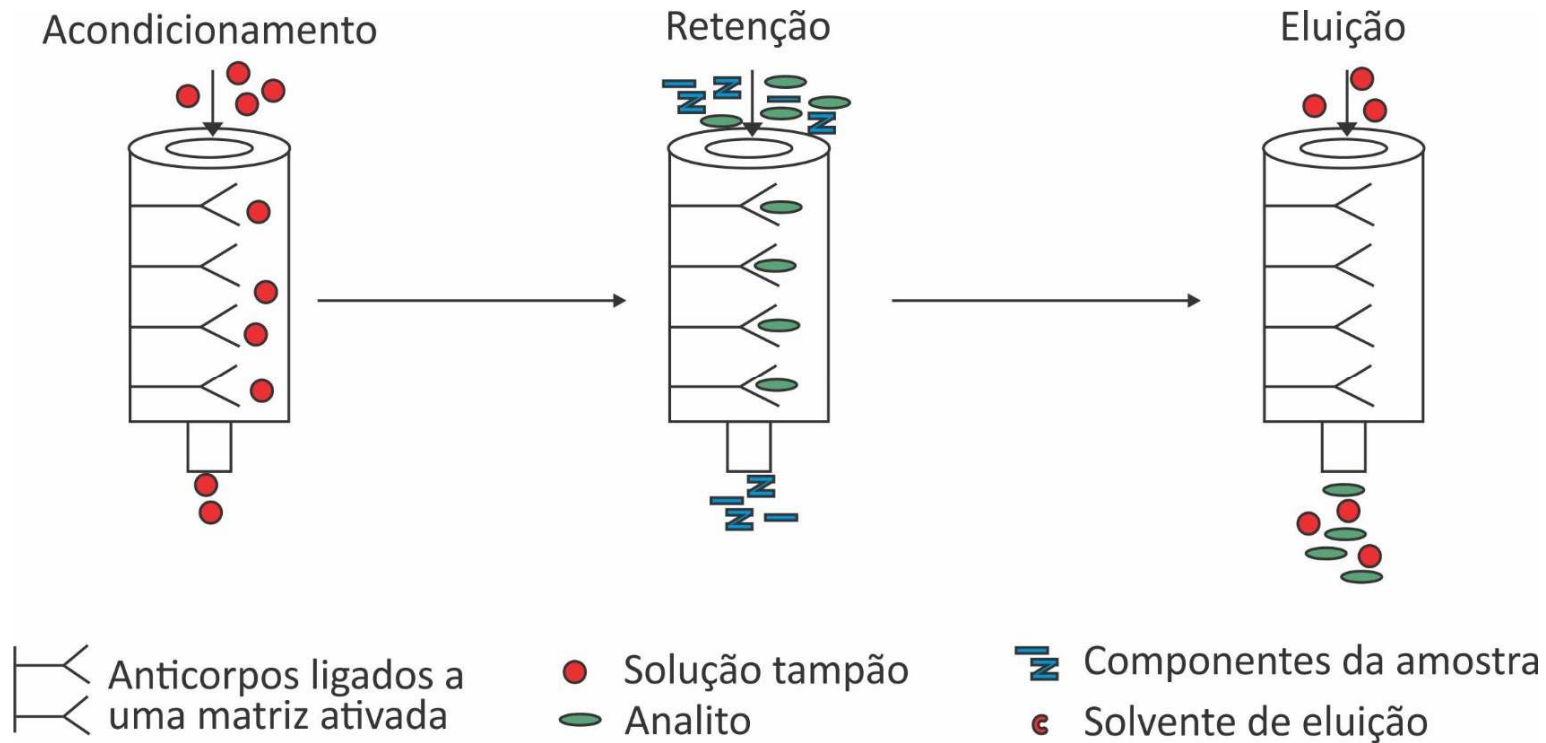
AGROSP
SUSTENTÁVEL E INOVADOR

SECRETARIA DE
AGRICULTURA E
ABASTECIMENTO

SÃO PAULO
GOVERNO DO ESTADO

Métodos de detecção de micotoxinas em alimentos

- 1º) Extração com solventes apropriados
- 2º) Limpeza da amostra (imunoafinidade)





3º) Secagem do extrato, separação e detecção

▶ Técnicas de detecção

- Cromatografia em camada delgada (CCD)
- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)



Cromatografia em camada delgada

ITAL

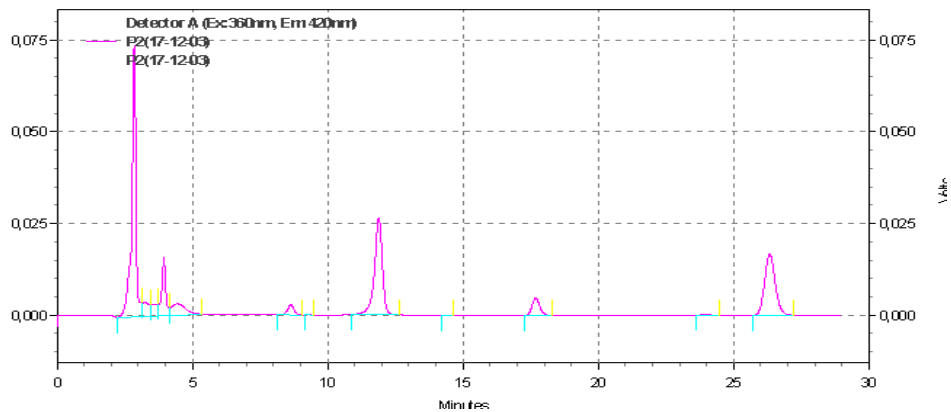
apta

AGROSP
SUSTENTÁVEL E INOVADOR

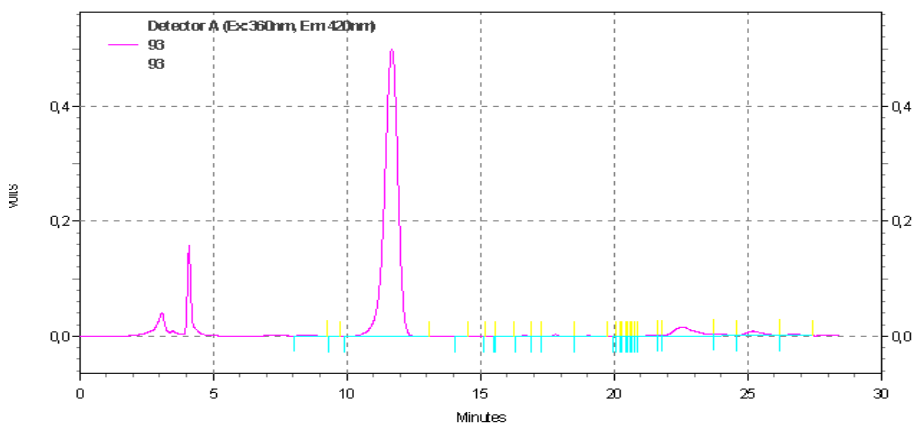
SECRETARIA DE
AGRICULTURA E
ABASTECIMENTO

SÃO PAULO
GOVERNO DO ESTADO

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência



**Padrões de aflatoxinas
B₁B₂G₁G₂**



**Amostra figo seco contaminada
com aflu B₁**



Formação de micotoxinas

Pré colheita: existe uma associação do fungo com a planta enquanto a planta está crescendo

Ex.: aflatoxinas, fumonisinas, tricotecenos e zearalenona

- ☀ Fatores incontroláveis como cultura, clima, ambiente vão determinar se os fungos vão crescer e se as micotoxinas serão formadas
- ☀ O crescimento do fungo associado à planta somente ocorre se houver a planta definida (associação fúngica)
- ☀ Associação: comensal, simbiótica ou fitopatogênica.



Formação de micotoxinas

Pós colheita: não existe uma associação com a planta.

A formação da micotoxina pode ocorrer no produto quando:

- Os frutos apodrecem no pé
- Permanência no solo por muito tempo
- Secagem
- Transporte
- Estocagem

Ex.: ocratoxina A, patulina



Toxinas de *Fusarium*

- ▶ Todas as espécies de *Fusarium* crescem em alta atividade de água (> 0,90).
- ▶ As toxinas (fumonisinas, desoxinivalenol e zearalenona) são formadas antes da colheita ou durante o início da secagem.
- ▶ Ocorrem na estocagem somente sob condições catastróficas ex: enchentes.
- ▶ A produção das micotoxinas ocorre como resultado do crescimento do fungo na planta ou na semente enquanto estiver viva.

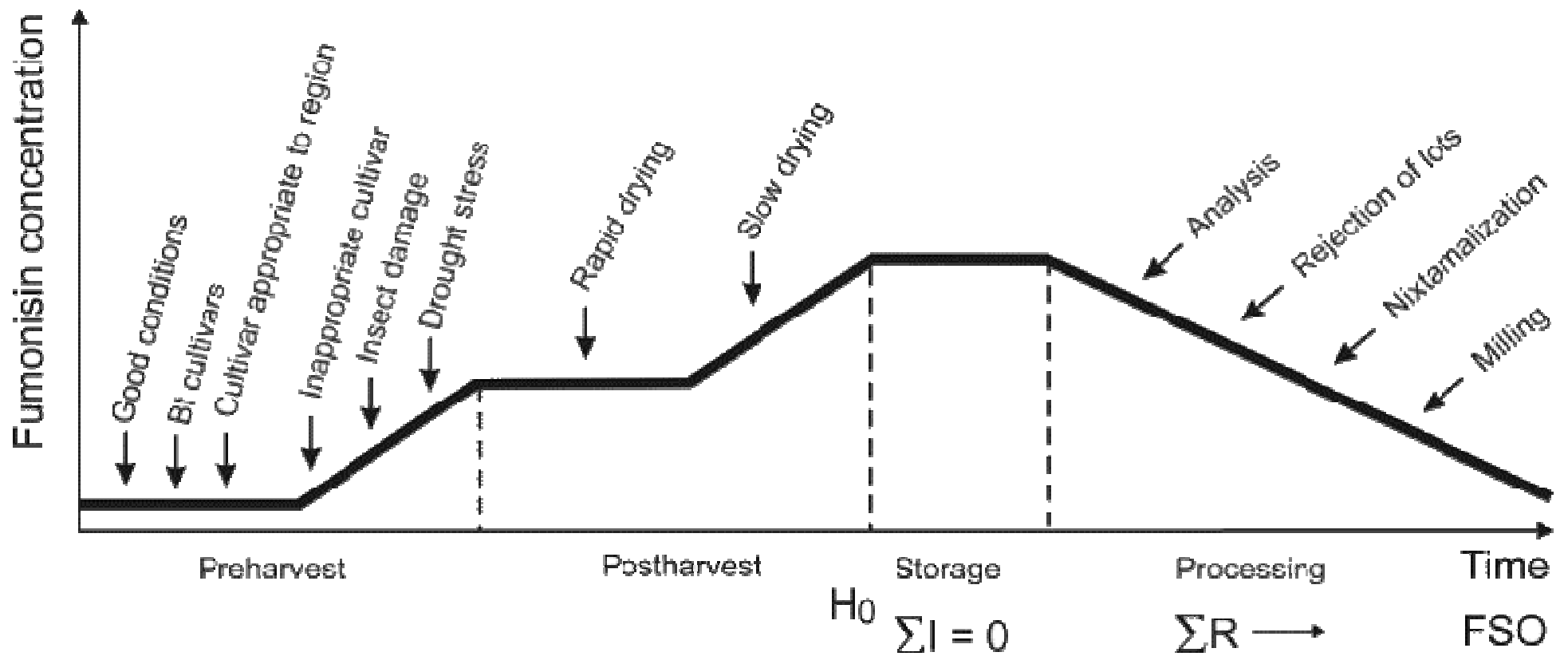


Fumonisin

- Produzidas por *Fusarium verticillioides* e espécies relacionadas
- *F. verticillioides* é um fungo comensal, geralmente presente no milho (endêmica) durante seu crescimento
- As fumonisin são produzidas sob estresse hídrico, portanto é provável que seja produzidas em climas mais quentes e secos



Fumonisin





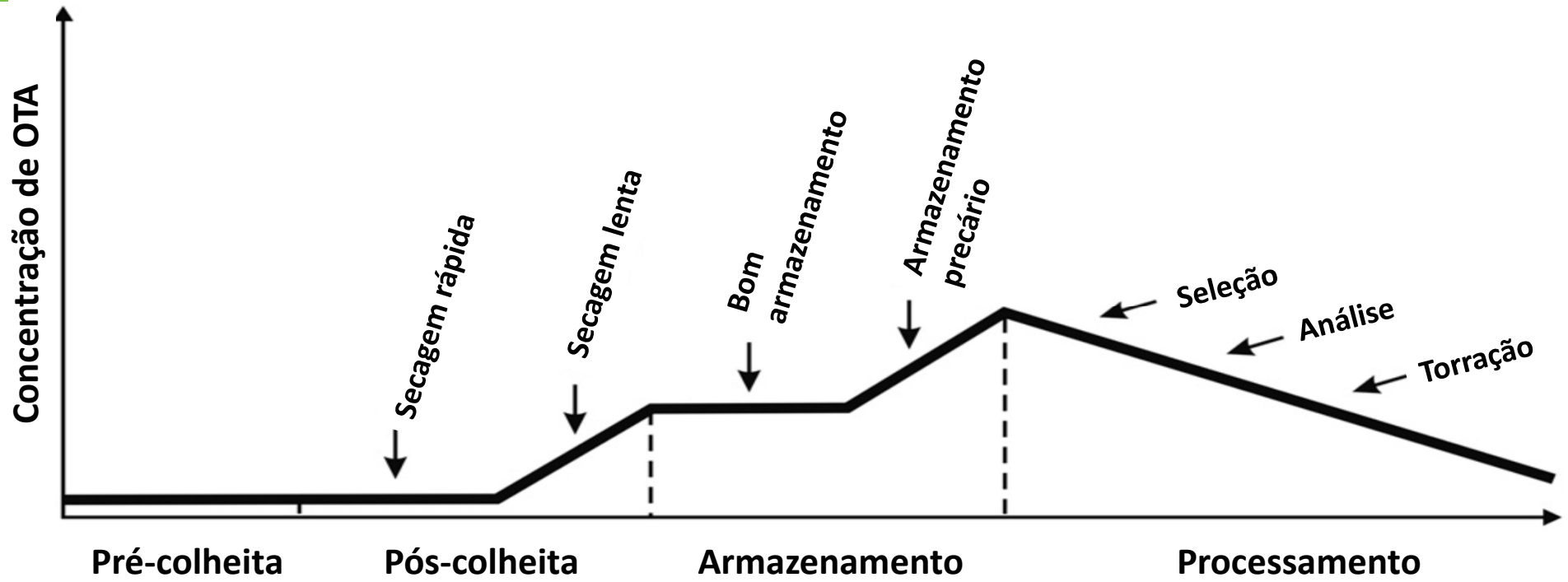
Controle das Fumonisinas

- Pré colheita
 - Cultivar de milho resistentes
 - Controle de insetos pelo uso do milho Bt
- Pós colheita
- Análise de fumonisinas e seleção dos lotes (laser, cor)
- Nixtamalização – tortillas, um processo alcalino
- Moagem

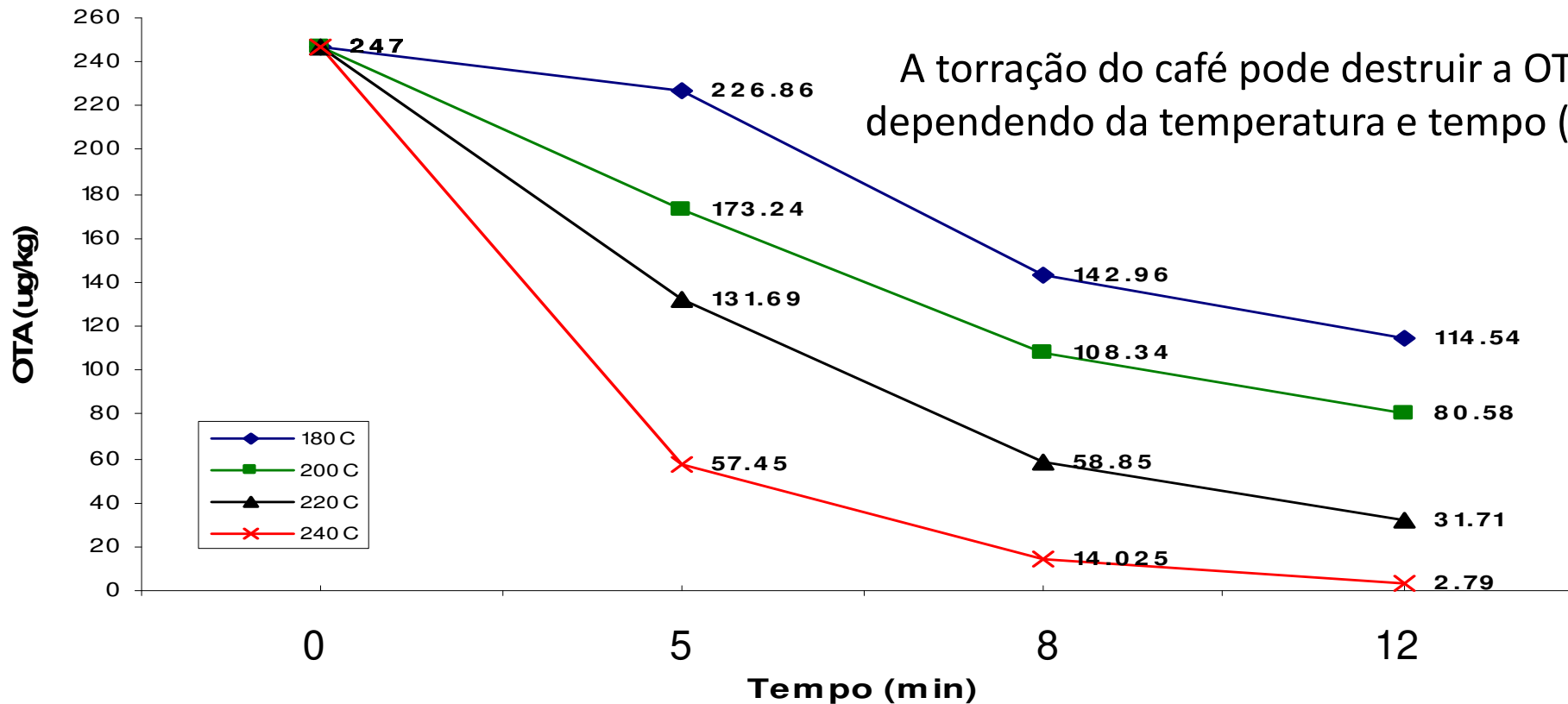


Ocratoxina A (OTA) em Café

- Os pés de cafés são árvores baixas
- *A. westerdijkiae* produtor de OTA não tem associação com a planta
- OTA ocorre quando há uma falha durante a secagem ou armazenamento



Ocratoxina A na cadeia produtiva do café



Ferraz, M. B.M.; Farah, A.; Iamanaka, B.T.; Perrone, D.; Copetti, M.V.; Marques, V.X.; Vitali, A A & Taniwaki, M.H. 2010. Kinetics of ochratoxin A destruction during coffee roasting. **Food Control**, 21: 872-877.



Ocratoxina A em produtos de uvas e frutas secas

- *Aspergillus carbonarius, A. niger*
- Cresce a alta temperatura e sob luz solar
- Produz OTA em uva passa, frutas secas e vinhos

Ocratoxina A em frutas secas

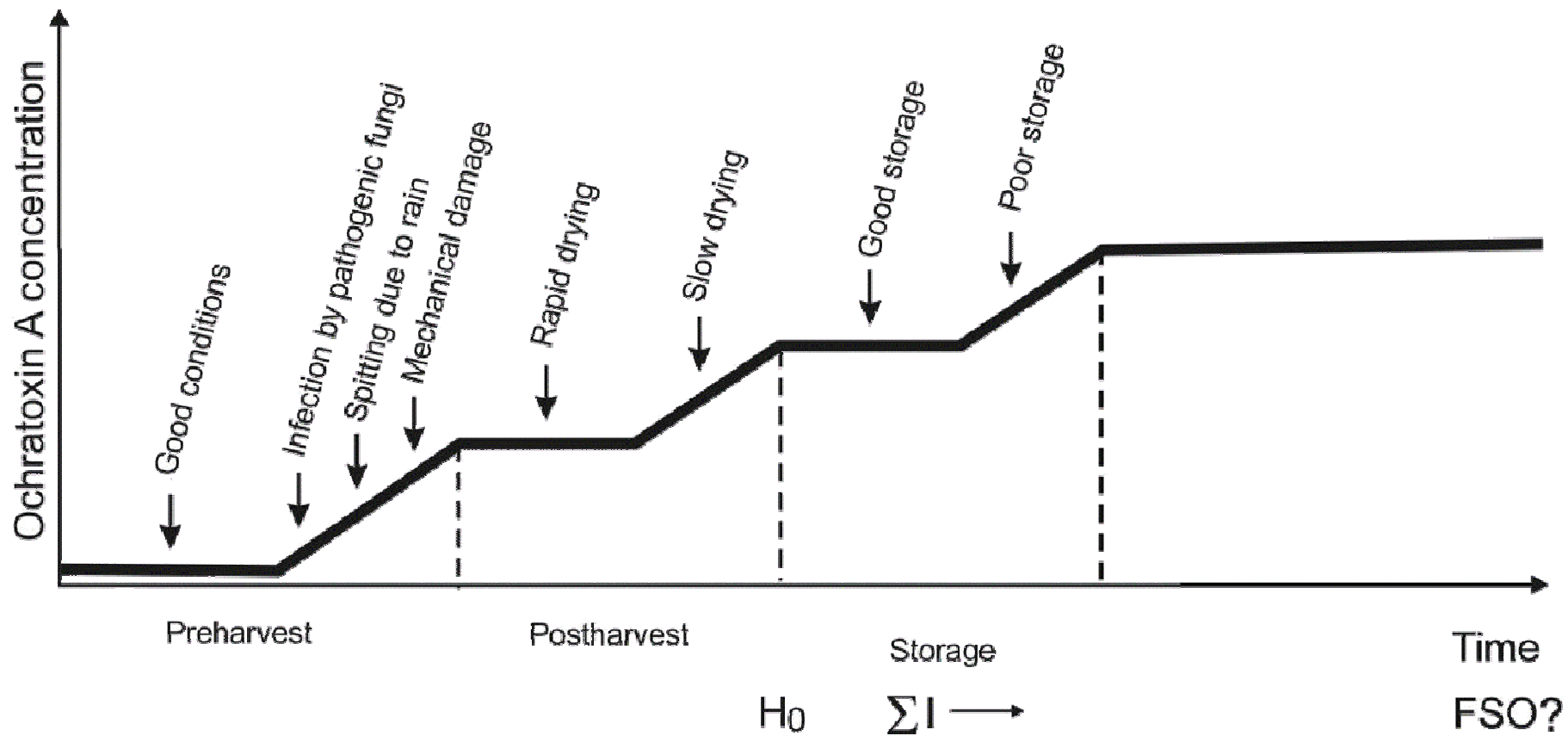
OTA (ng/g)	Uva passa escura (Irã, Argentina)	Uva passa clara (Irã, Argentina)	Figo (Turquia)	Tâmara (Espanha, Tunísia)	Ameixa (Chile, Argentina)
<0,13	1	10	1	18	19
0,13 - 5,0	11	10	13	2	1
5,1 - 10,0	4	-	2	-	-
10,1 - 20,0	3	-	2	-	-
20,1	-	-	-	-	-
>30,0 - 30,0	1	-	1	-	-
Média (ng/g)	5,7	0,5	5,4	<0,13	<0,13



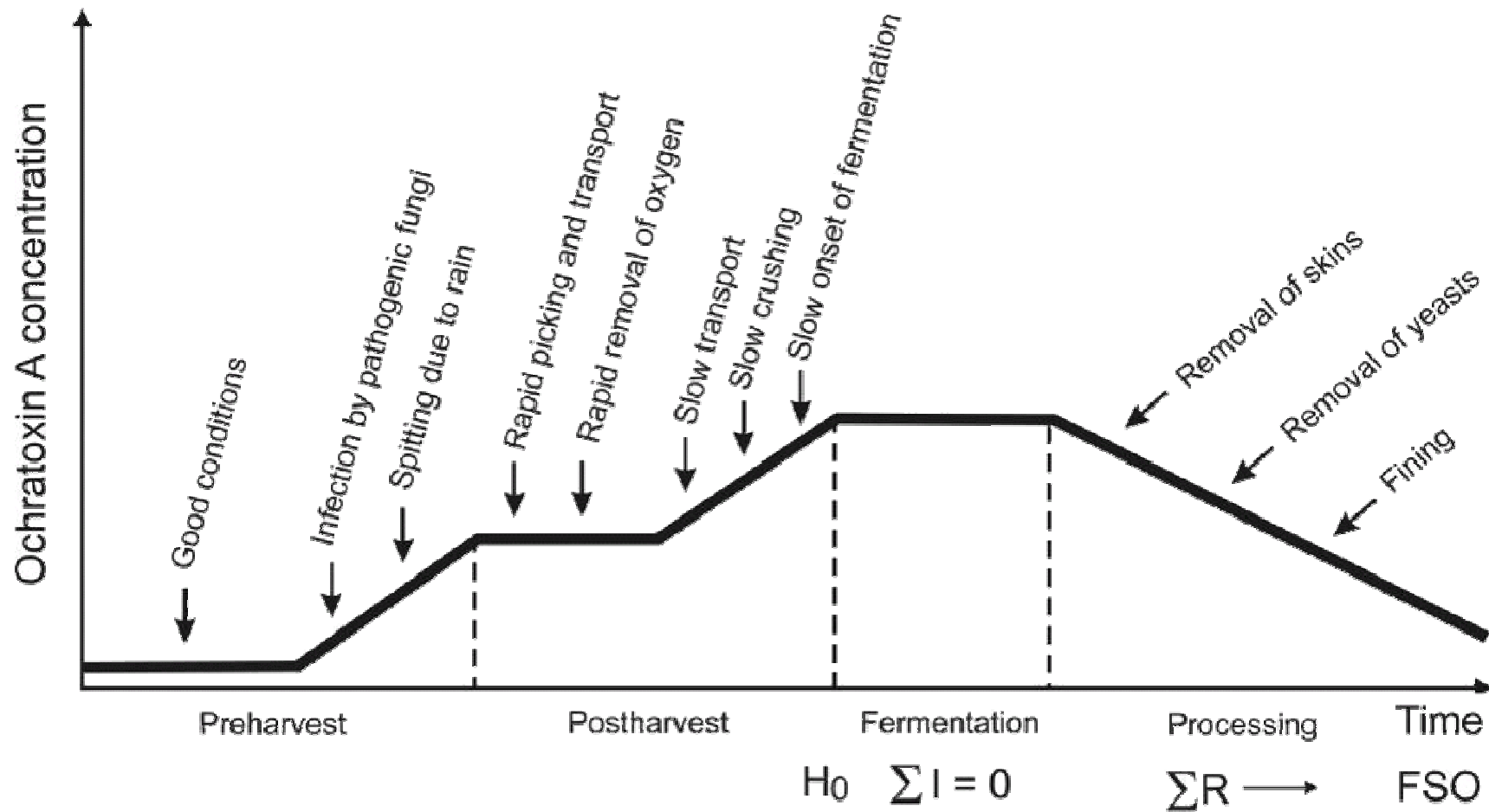
Ocratoxina A em frutas secas

Frutas secas	País de origem	Nº de amostras analisadas	Nº de amostras positivas	Máximo de OTA (µg/kg)
Damasco	Turquia	20	0	-
Groselha	Grécia	20	19 (95%)	54
Tâmaras	-	20	1 (5%)	0,2
Uva passa	Vários	20	17 (85%)	20
Uva passa	Austrália	26	19 (73%)	5,0
Pasta de figo	Turquia	5	1 (20%)	5,2

Ochratoxina A na cadeia da Uva Passa



Ocratoxina A na cadeia do Vinho

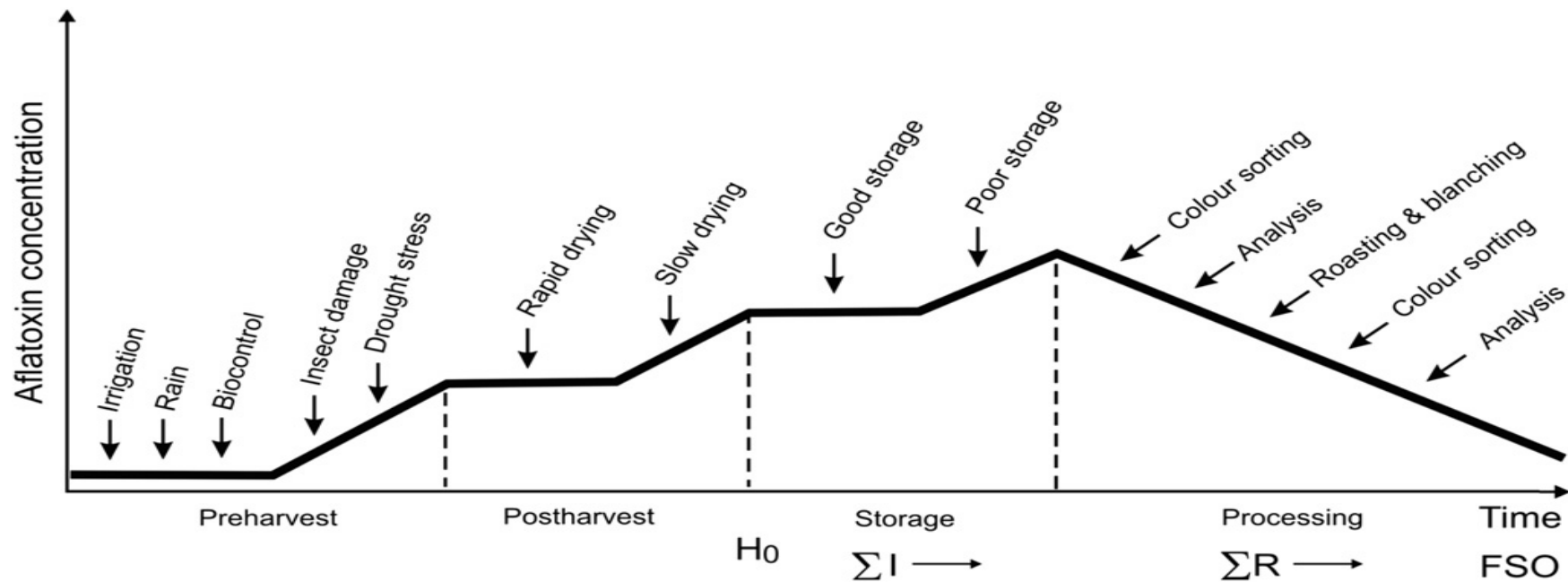




Aflatoxinas

Aflatoxinas são produzidas principalmente por: *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*.
Estas espécies são comensais em amendoim.

Aflatoxinas na cadeia do amendoim



Martins, L.M.; Sant'Ana, A.S.; Fungaro, M.H.P.; Silva, J.J.; Nascimento, M.S.; Frisvad, J.C. & Taniwaki, M.H. 2017. The biodiversity of *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in the Brazilian peanut production chain. **Food Research International**, 94: 101-107.



Como eliminar a micotoxina do alimento?

ITAL

apta

AGROSP
SUSTENTÁVEL E INOVADOR

SECRETARIA DE
AGRICULTURA E
ABASTECIMENTO

SÃO PAULO
GOVERNO DO ESTADO



Técnicas de descontaminação de micotoxinas

- 1 Calor seco: somente $T > 300\text{ °C}$ pois são termorresistentes
- 2 Calor úmido: autoclavagem a $121\text{ °C}/4\text{h}$ ocorre redução significativa
- 3 Irradiação: são resistentes à radiação gama e elétrons de baixa energia
- 4 Extração com solventes: uso de clorofórmios, acetona, somente para fins analíticos
- 5 Tratamento com solução alcalina: neutralização com álcali
- 6 Oxidação: tratamento com hipoclorito de sódio 5%



Métodos de prevenção das micotoxinas após a colheita

ITAL

apta

AGROSP
SUSTENTÁVEL E INOVADOR

SECRETARIA DE
AGRICULTURA E
ABASTECIMENTO

SÃO PAULO
GOVERNO DO ESTADO



Métodos de prevenção das micotoxinas após a colheita

1. Adoção de práticas agrícolas corretas, como:

- Colher o produto imediatamente após atingir a maturidade
- Utilizar equipamentos de colheita ajustados para operar adequadamente, produzindo o menor dano mecânico
- Sementes oleaginosas e grãos deverão ser limpos para remoção de toda matéria orgânica e sementes danificadas,
- As áreas de armazenamento deverão ser limpas e livres de insetos e roedores, protegidas das influências climáticas



Métodos de prevenção das micotoxinas após a colheita

2. Cuidados na secagem

- Não demorar para iniciar a secagem do produto, principalmente no início, quando a umidade é elevada
- A secagem deve ser a mais rápida possível
- Evitar o reumedecimento do produto durante a secagem
- A secagem deve ser efetuada até atingir teores seguros de umidade
 - 13% cereais
 - 10% amendoim em casca, caroço de algodão, soja
 - 8% amendoim descascado
 - 11% café



Métodos de prevenção das micotoxinas após a colheita

3. Cuidados no armazenamento

- Reduzir ao mínimo a respiração das sementes e dos microrganismos
- Manter o produto em local adequado e restringir a entrada de insetos e outros animais
- Manter o produto em boas condições, prevenir quanto à reabsorção de umidade, seja do ar atmosférico, seja através de goteiras



Possíveis Controles de Medidas

- Controlar as concentrações ou populações iniciais
- Prevenir o aumento da contaminação (GAP, GHP, rotação da cultura, secagem rápida, etc.)
- Prevenir o aumento durante o armazenamento
- Reduzir as concentrações ou populações pelo processamento

As micotoxinas nos alimentos podem ser altamente reduzidas, mas não eliminadas totalmente. As micotoxinas modificadas podem ser formadas durante o processamento. O significado destes metabólitos na saúde humana devem ser mais estudadas.

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO

ITAL



www.ital.agricultura.sp.gov.br
www.alimentosprocessados.com.br
<http://bjft.ital.sp.gov.br/>

Marta H. Taniwaki
Pesquisadora
CCQA/Ital
(19) 3743-1819
marta@ital.sp.gov.br