



Curso de Formação de Auditores Técnicos para
Certificação de Unidades Armazenadoras

Micotoxinas no Armazenamento de Grãos

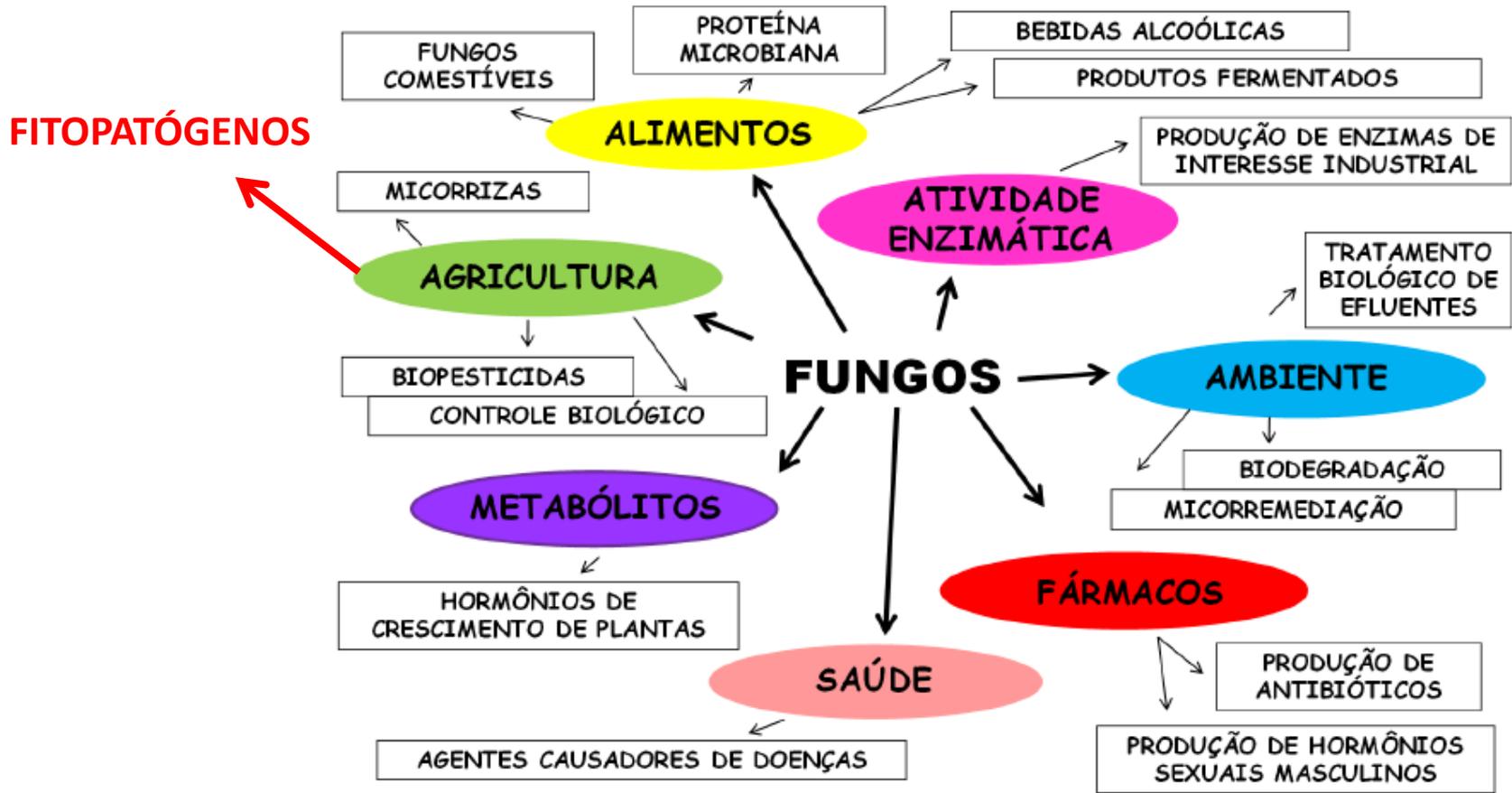
Profa Giniani Dors

28 de setembro de 2017

Sumário

- 1. Fungos toxigênicos**
- 2. Micotoxinas**
- 3. Determinação de micotoxinas**
- 4. BPAs**
- 5. Considerações Finais**

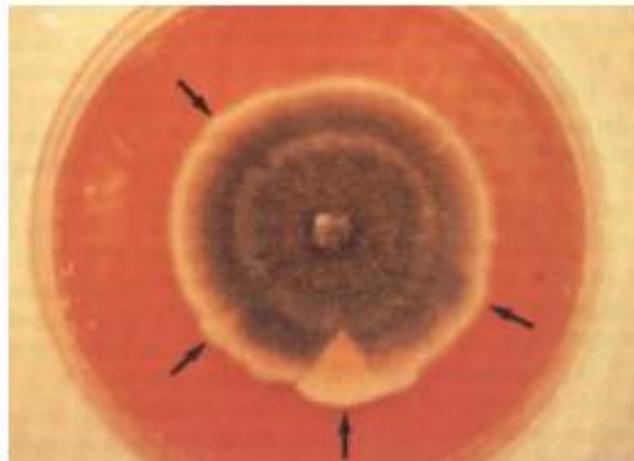
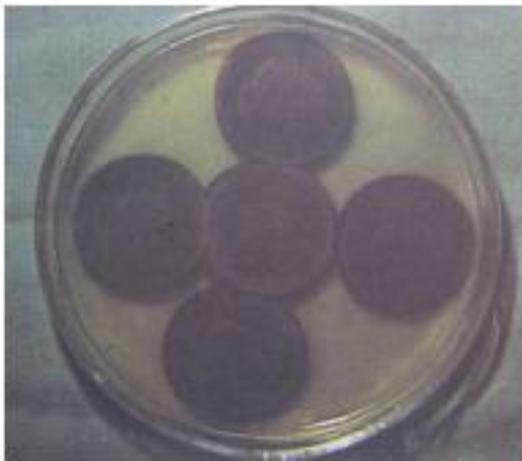
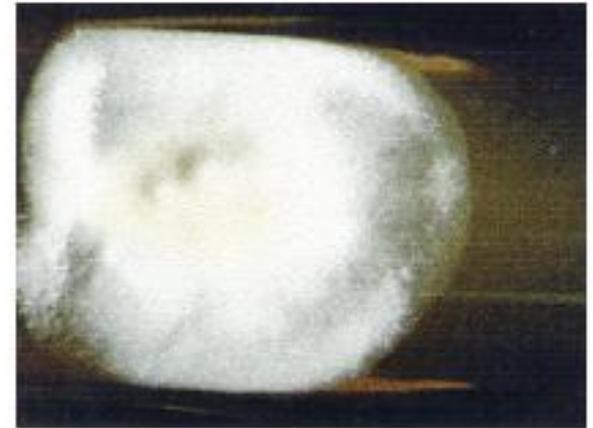
- Extensas áreas agricultáveis;
- Produção mundial de cereais (FAO, 2017)
2,6 bilhões de toneladas ---- BRASIL = 120 milhões de toneladas de
(99 milhões em 2013)
- Cultivo e Armazenamento de grãos (BPA)



Fungos Filamentosos

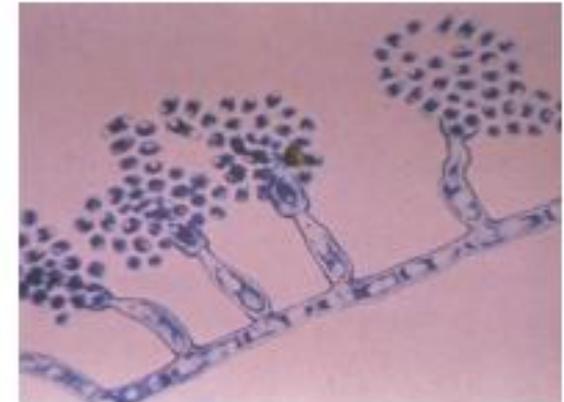
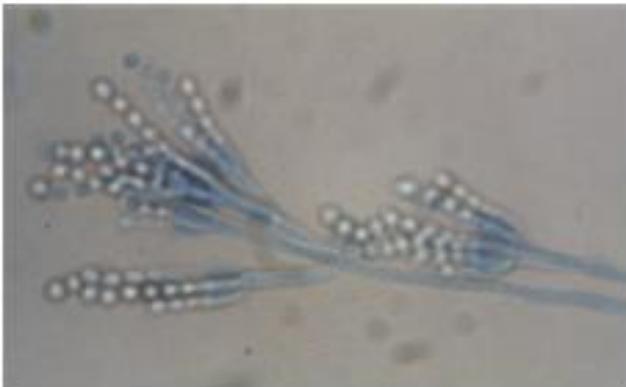
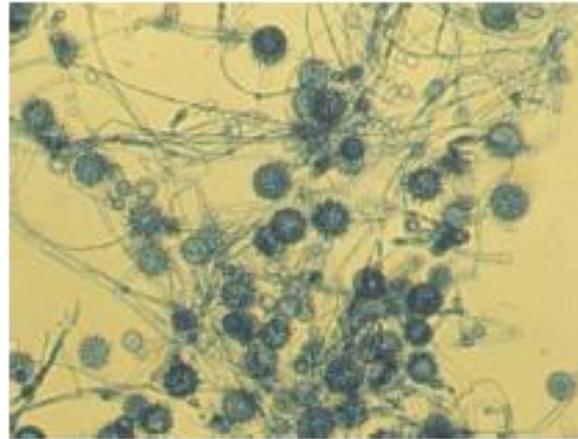
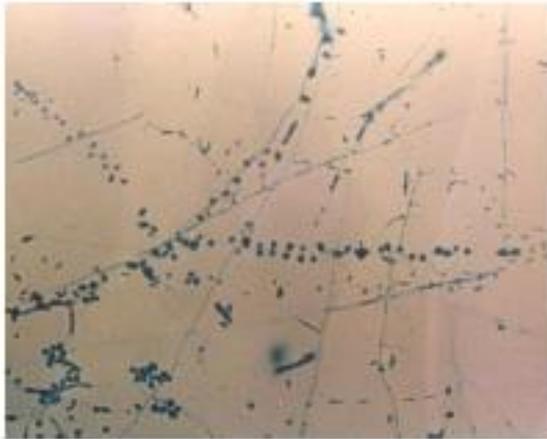
Morfologia Macroscópica

Fungos



Fungos Filamentosos

Morfologia Microscópica



- Produção de toxinas:
 - ocorrem **antes da colheita** (fungos de campo)
 - ocorrem ***após a colheita*** (fungos de armazenamento)

Principais fungos:

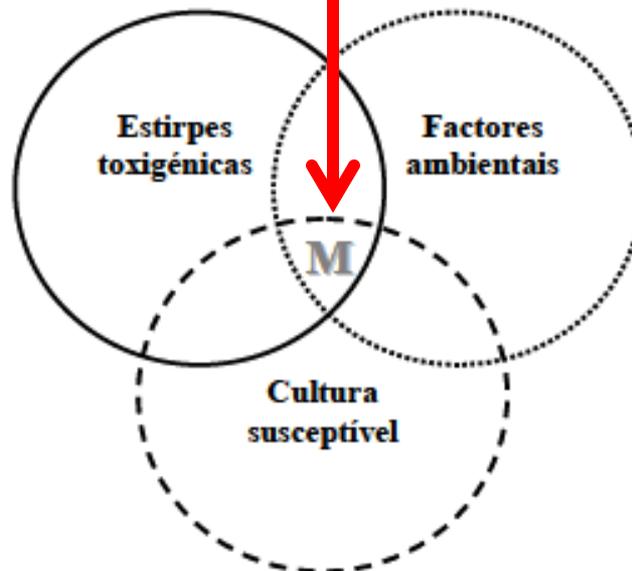
- *Aspergillus*
- *Penicillium*
- *Fusarium*

São substâncias químicas produzidas durante o metabolismo secundário de algumas espécies de fungos filamentosos, responsáveis pela contaminação de alimentos e rações animais.

- Mais de 300 conhecidas
- Substâncias estáveis e resistentes
- Ocorre em alimentos em geral
- **A ausência de fungos não implica na ausência de micotoxinas**

SÃO ALTAMENTE RESISTENTES A:

- DIGESTÃO: MANTÉM-SE NA CADEIA ALIMENTAR**
- TRATAMENTO POR TEMPERATURAS**



Alta umidade do ar atmosférico (> 85%);

Atividade de água inferior a 0,94;

Altas temperaturas;

Substrato rico em amido (cereais);

Integridade dos grãos.

Aspergillus – importante nos trópicos e subtrópicos

Penicillium – importante em regiões temperadas e polares, mas é encontrada nos trópicos

Fusarium – comuns em toda a parte

Tabela Principais espécies responsáveis pela produção de micotoxinas

Micotoxina	Espécies produtoras
Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>A. parasiticus</i>
Ocratoxina A	<i>Aspergillus ochraceus</i> ; <i>A. alliaceus</i> ; <i>A. niger</i> ; <i>A. carbonarius</i> <i>Penicillium verrucosum</i> ; <i>P. nordicum</i>
Tricotecenos	<i>Fusarium spp.</i>
Zearalenona	<i>F. graminearum</i> e outras <i>Fusarium spp.</i>
Fumonisinias	<i>F. moniliforme</i> (= <i>F. verticillioides</i>); <i>F. proliferatum</i>
Citrinina	<i>P. citrinum</i> ; <i>P. expansum</i> ; <i>P. verrucosum</i> ; <i>A. alliaceus</i>
Ácido penicílico	<i>A. ochraceus</i> ; <i>P. aurantiogriseum</i> ; <i>P. viridicatum</i>
Patulina	<i>P. expansum</i> ; <i>P. griseofulvum</i> ; <i>A. clavatus</i>
Esterigmatocistina	<i>Aspergillus versicolor</i> ; <i>Emericella nidulans</i>
Ácido tenuazónico	<i>Alternaria alternata</i>
Penitrem A	<i>Penicillium crustosum</i>
Alcalóides do ergot	<i>Claviceps spp.</i>
Ácido ciclopiazónico	<i>A. flavus</i> ; <i>A. tamaritii</i> ; <i>P. commune</i>

Aflatoxinas:

Produzidas por *Aspergillus* spp;

Econtradas em cereais, nozes, frutas, leite e derivados;

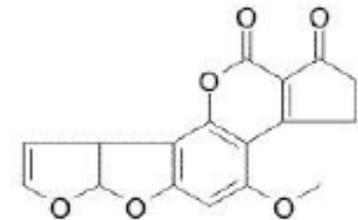
Micotoxinas mais importantes:

Frequência, Estabilidade e Toxicidade (B1 > G1 > M1 > B2 > G2);

Contaminação aguda: necrose do fígado;

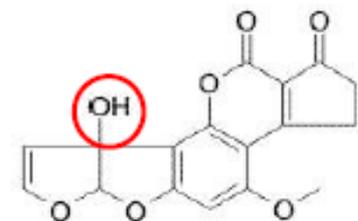
Atividade mutagênica, teratogênica e imunossupressora;

Orgãos mais atingidos: fígado, rins e o cérebro;



Aflatoxina B1

By Romer labs



Aflatoxina M1

By Romer labs

Ocratoxinas:

Produzidas por *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp;

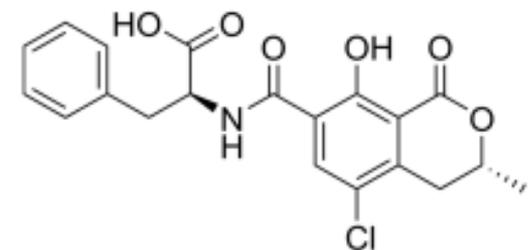
Econtradas em cereais, café, frutas secas, vinho e carne;

Existem 7 tipos, sendo a ocratoxina A (OTA) a mais tóxica;

OTA afeta principalmente os rins e também no fígado;

Propriedades carcinogênicas, imunossupressoras e neurotóxicas;

Dificulta a coagulação do sangue;



Ocratoxina

By Romer labs

Fusariotoxinas:

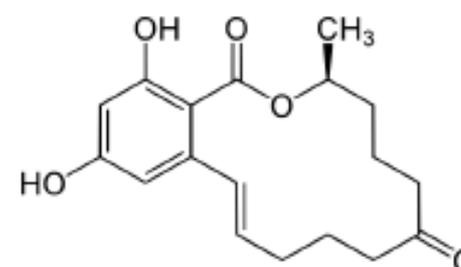
O gênero *Fusarium* é o grupo de fungos com maior capacidade genética para produção de micotoxinas em condições adequadas de desenvolvimento.

Principais fusariotoxinas:

Zearalenona;

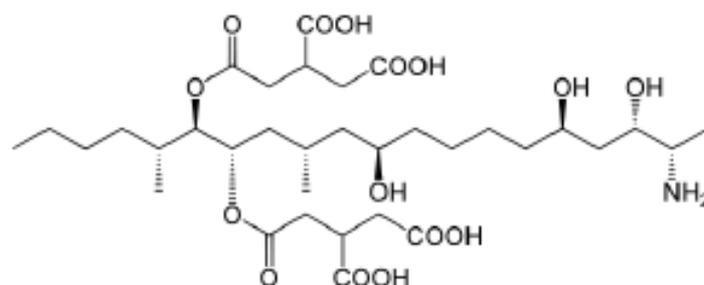
Fumonisinias;

Tricotecenos.



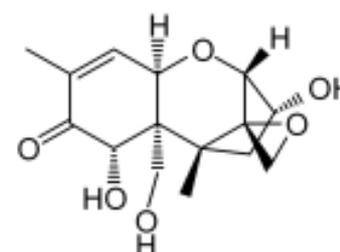
Zearalenona

By Romer labs



Fumonisin B1

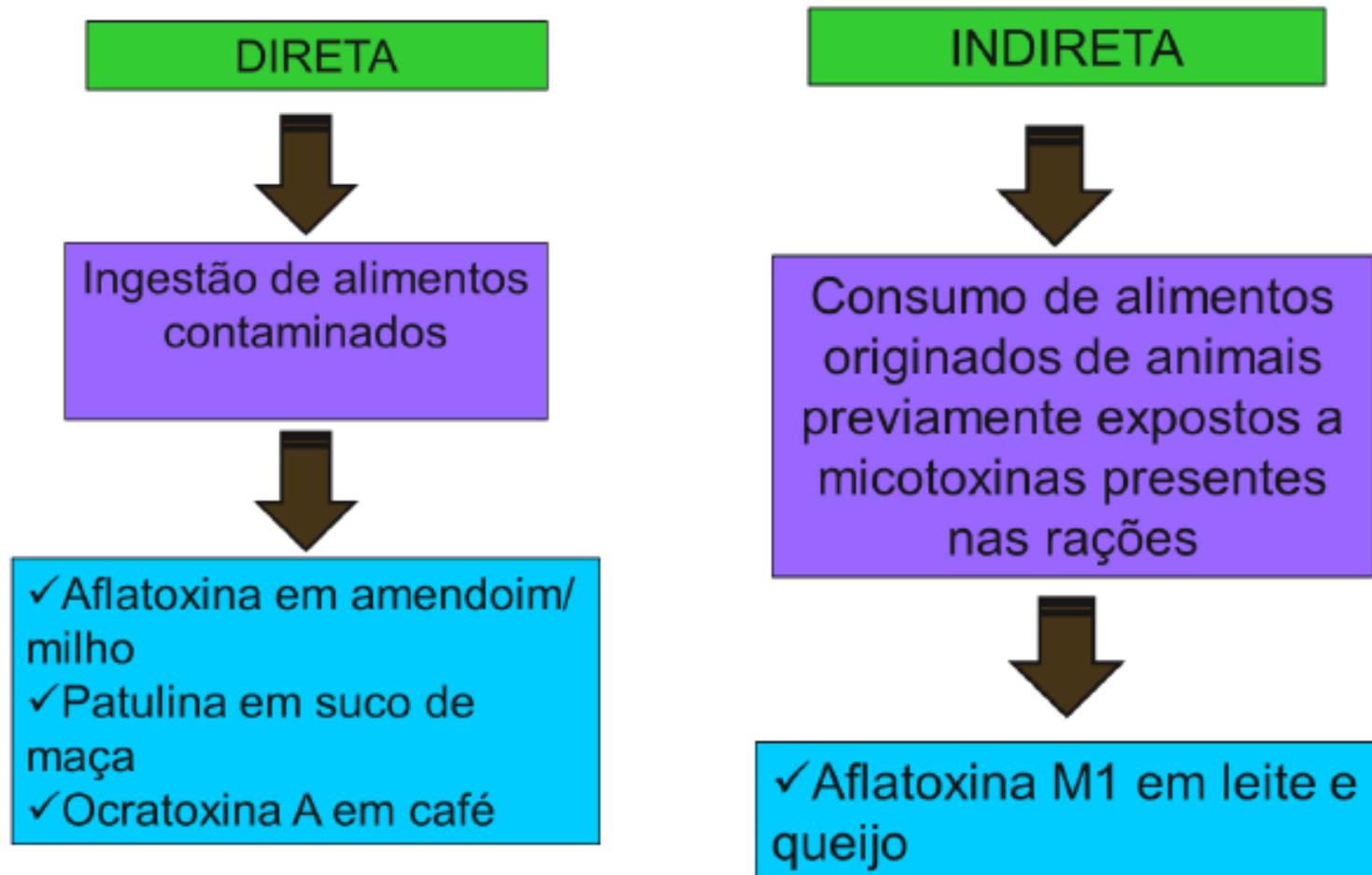
By Romer labs



Deoxinivalenol

By Romer labs

Exposição humana às micotoxinas



O QUE CAUSAM?

1) Efeitos Agudos:

Altas concentrações e frequência de ingestão única

2) Efeitos Crônicos:

Exposição prolongada a baixas concentrações do agente tóxico

Ex. Kenia:

- Março-Junho 1981: surto de icterícia aguda ⇒ 20 casos/14 mortes
- Maio-Junho 2004 : surto de icterícia aguda ⇒ 317 casos/ 125 mortes
- Abril-Maio 2005: surto de icterícia aguda ⇒ 75 casos/ 33 mortes

Causa provável: milho contaminado com aflatoxinas

Fatores que influenciam a toxicidade:

- Espécie
- Idade
- Raça/sexo
- Teor de contaminação
- Duração da administração do alimento
- Estado de nutrição
- Estado de saúde
- Condições do *habitat*
- Sinergismos e associação de diferentes micotoxinas

Síndromes predominantes associados a micotoxinas

Micotoxinas

Hepatotoxinas

Efeitos neurotóxicos diversos
Ex.: leucoencefalomina
Fusarium moliniforme

Hepatites
Ex.: aflatoxinas
Aspergillus flavus

Hemorragias hepáticas
Ex.: rubratoxina
Penicillium rubrum

Hemorragias pulmonares e cerebrais
Ex.: patulina
Aspergillus clavatus

Efeito sialorreia
Ex.: eslaframina
Rhisoctonia leguminicola

Infecções do tracto digestivo
Ex.: tricotecina
Fusarium sporotrichioides

Ergotismo
Ex.: derivados de ergoclavina
Aspergillus fumigatus

Micotoxinas

Perturbações gastro-intestinais
Ex.: austdiol
Aspergillus ustus

Efeitos convulsivos
Ex.: ác. ciclopiazónico
Penicillium cyclopium

Desregulações metabólicas
Ex.: toxinas PR
Penicillium roqueforti

Efeitos tremorgénicos
Ex.: penitremina
Penicillium crustosum

Paralisia/Ataxia
Ex.: citrioviridina
Penicillium citrioviride

Lesões renais
Ex.: citrinina
Penicillium citrinum

Efeitos Estrogénicos
Ex.: zearalenona
Fusarium roseum var. graminearum

Edemas cutâneos
Ex.: esporidesmina
Pithomyces chartarum

Neurotoxinas

Gastro-enterotoxinas

Quais os problemas?

PERDAS ECONÔMICAS:

- Perdas diretas de produtos agrícolas
- Diminuição da produtividade
- Perdas de animais acompanhadas de diversas taxas de morte
- Diminuição da velocidade de crescimento dos animais
- Rejeição de produtos pelo mercado importador
- Doenças humanas

Base científica para o estabelecimento dos regulamentos - **AVALIAÇÃO DO RISCO**

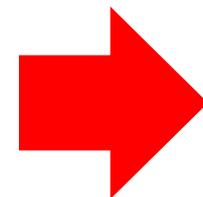
- Identificação do perigo
- Caracterização do perigo
- Avaliação da exposição e
- Caracterização do risco

Avaliação da exposição:

$$\text{Exposição (dieta)} = C \times F$$

C = concentração da micotoxina no alimento

F = quantidade do alimento consumido



LMT

Dispõe sobre limites máximos tolerados
(LMT) para micotoxinas em alimentos.

ANEXO I – Aplicação Imediata

LIMITES MÁXIMOS TOLERADOS (LMT) PARA MICOTOXINAS

Micotoxinas	Alimento	LMT (µg/kg)
Aflatoxina M1	Leite fluido	0,5
	Leite em pó	5
	Queijos	2,5
Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	Cereais e produtos de cereais, exceto milho e derivados, incluindo cevada malteada	5
	Feijão	5
	Castanhas exceto Castanha-do-Brasil, incluindo nozes, pistachios, avelãs e amêndoas	10
	Frutas desidratadas e secas	10
	Castanha-do-Brasil com casca para consumo direto	20
	Castanha-do-Brasil sem casca para consumo direto	10
	Castanha-do-Brasil sem casca para processamento posterior	15
	Alimentos à base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	1
	Fórmulas infantis para lactentes e fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância	1
	Amêndoas de cacau	10
	Produtos de cacau e chocolate	5
	Especiarias: Capsicum spp. (o fruto seco, inteiro ou triturado, incluindo pimentas, pimenta em pó, pimenta de caiena e pimentão-doce); Piper spp. (o fruto, incluindo a pimenta branca e a pimenta preta) Myristica fragrans (noz-moscada) Zingiber officinale (gingibre) Curcuma longa (curcuma). Misturas de especiarias que contenham uma ou mais das especiarias acima indicadas	20
	Amendoim (com casca), (descascado, cru ou tostado), pasta de amendoim ou manteiga de amendoim	20
	Milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmolos de milho	20

Ocratoxina A	Cereais e produtos de cereais, incluindo cevada malteada	10
	Feijão	10
	Café torrado (móido ou em grão) e café solúvel	10
	Vinho e seus derivados	2
	Suco de uva e polpa de uva	2
	Especiarias: Capsicum spp. (o fruto seco, inteiro ou triturado, incluindo pimentas, pimenta em pó, pimenta de caiena e pimentão-doce) Piper spp. (o fruto, incluindo a pimenta branca e a pimenta preta) Myristica fragrans (noz-moscada) Zingiber officinale (gingibre) Curcuma longa (curcuma) Misturas de especiarias que contenham uma ou mais das especiarias acima indicadas	30
	Alimentos a base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	2
	Produtos de cacau e chocolate	5,0
	Amêndoa de cacau	10
	Frutas secas e desidratadas	10
Desoxinivalenol (DON)	Arroz beneficiado e derivados	750
	Alimentos a base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	200
Fumonisinias (B1 + B2)	Milho de pipoca	2000
	Alimentos a base de milho para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	200
Zearalenona	Alimentos a base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	20
Patulina	Suco de maçã e polpa de maçã	50

LIMITES MÁXIMOS TOLERADOS (LMT) PARA MICOTOXINAS

Micotoxinas

Micotoxinas	Alimento	LMT (µg/kg)
Desoxivalenol (DON)	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada	2000
	Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	1750
Fumonisin (B1 + B2)	Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha	2500
	Amido de milho e outros produtos à base de milho	2000
Zearalenona	Farinha de trigo, massas, crackers e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	200
	Arroz beneficiado e derivados	200
	Arroz integral	800
	Farelo de arroz	1000
	Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos e subprodutos à base de milho	300
	Trigo integral, farinha de trigo integral, farelo de trigo	400

ANEXO III– Aplicação em janeiro de 2014

LIMITES MÁXIMOS TOLERADOS (LMT) PARA MICOTOXINAS

Micotoxinas	Alimento	LMT (µg/kg)
Ocratoxina A	Cereais para posterior processamento, incluindo grão de cevada	20
Desoxivalenol (DON)	Trigo e milho em grãos para posterior processamento	3000
	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada	1500
	Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada.	1250
Fumonisin (B1 + B2)	Milho em grão para posterior processamento	5000
Zearalenona	Milho em grão e trigo para posterior processamento	400

ANEXO IV – Aplicação em janeiro de 2016

LIMITES MÁXIMOS TOLERADOS (LMT) PARA MICOTOXINAS

Micotoxinas	Alimento	LMT (µg/kg)
Desoxinivalenol (DON)	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada	1000
	Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada.	750
Fumonisinias (B1 + B2)	Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha	1500
	Amido de milho e outros produtos a base de milho	1000
Zearalenona	Farinha de trigo, massas, crackers e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada.	100
	Arroz beneficiado e derivados	100
	Arroz integral	400
	Farelo de arroz	600
	Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos e sub-produtos à base de milho	150
	Trigo integral, farinha de trigo integral, farelo de trigo	200

Anvisa prorroga prazo para limites máximos de micotoxinas em alimentos

09/01/2014 14h35

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) prorrogou para 1º de janeiro de 2017 o prazo para adequação estabelecidos nos artigos 11 e 12 e respectivos anexos III e IV da Resolução - RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011, que dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos.

A prorrogação dos prazos consta na Resolução – RDC nº 59, de 26 de dezembro de 2013, publicada no Diário Oficial da União de 30 de dezembro de 2013. Entre os alimentos listados na RDC nº 7 estão cereais, trigo e milho, trigo integral, farinha de trigo, massas, crackers e biscoito de água e sal.

Para maior compreensão, segue, em anexo, o Diário Oficial da União com a RDC nº 59, a RDC nº 7 e a Nota Técnica nº 226/2013, que contém esclarecimentos que motivaram a prorrogação do prazo, bem como as justificativas técnicas para deferimento do pleito.

MÉTODOS DE DETECÇÃO DE MICOTOXINAS EM ALIMENTOS...

- Métodos de triagem e semiquantitativos

- CCD
- ELISA
- TIRAS (técnicas imunocromáticas) * caixa UV

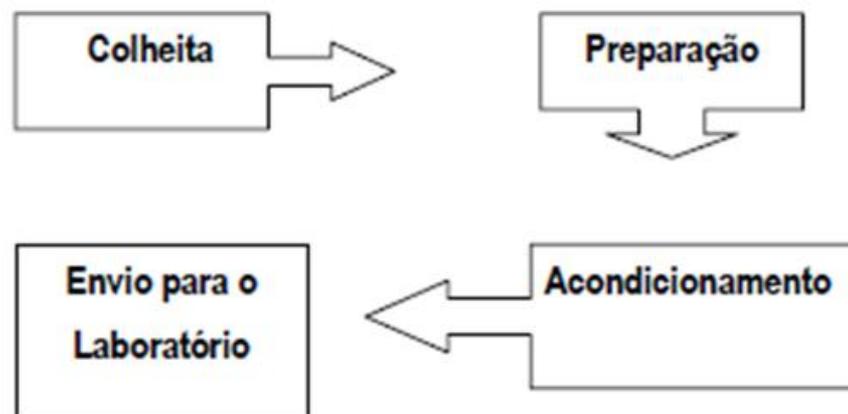
- Métodos quantitativos

- CLAE/FL e CLAE/UV
- LC/MS e GC/MS

PASSOS...

1. Amostragem

Representativa
Homogênea
Íntegra



Processo de amostragem, de acordo com os procedimentos normalizados

Amostragem	Preparo de Amostra		
Lote	Amostra	Sub-amostra	Amostra p/ Análise
20 ton	20 kg	1 kg	50 g

Scussel (1998)

O tamanho da amostra ou seu peso dependem:

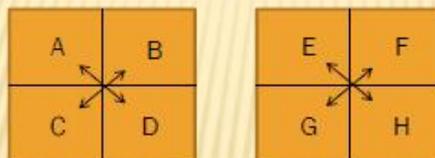
- (1) Objetivo do estudo (pesquisa ou rotina)
- (2) Tamanho do lote
- (3) Natureza ou tipo do alimento
- (4) Custo (amostras compostas)
- (5) Natureza da embalagem
- (6) Condições de transporte até o laboratório

PASSOS...

2. Redução da amostra bruta

➤ Para alimentos secos (pó ou granulares):

1. **Manual:** quarteamento (até chegar ao tamanho ideal de amostra)



2. **Equipamentos:**

- Amostrados tipo Riffle (divisão em canaletas alternadas)
- Amostrador tipo Boerner (utiliza cone com aberturas)



Amostrador tipo Boerner



Amostrador tipo Riffle

PASSOS...

3. Preparo da amostra para análise

Considerar o tipo de amostra e do método analítico

- Moagem (escolha do tipo de moinho) -- granulometria;
 - Peneiramento (tamanho de partícula $< 0,5$ mm) = diminuição da variância nos resultados;
 - Homogeneização da amostra obtida
 - Separação da amostra analítica
-
- Utilização de EPIs;
 - Contaminação cruzada

PASSOS...

4. Extração e Purificação do extrato (interferentes)

Considerar o tipo de amostra e do método analítico

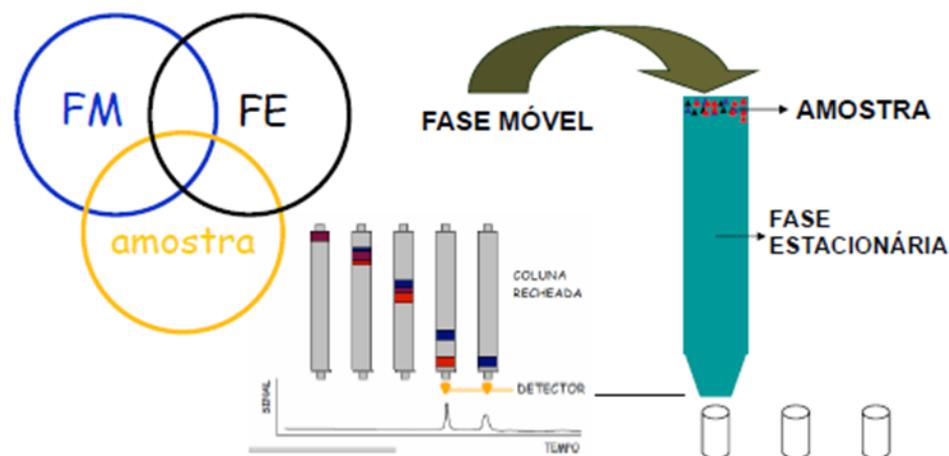
- solvente de extração (propriedades f-q)
- eliminação de interferentes (técnicas cromatográficas);

VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA

PASSOS...

5. Identificação, Confirmação e Quantificação

Métodos Cromatográficos



VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA

- Seletividade/Especificidade
- Linearidade
- Faixa de trabalho e Faixa linear
- Limite de detecção
- Limite de quantificação
- Tendência/recuperação
- Precisão (repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade)
- Robustez

MEDIDAS PREVENTIVAS EM TODA A CADEIA

Plantio, colheita, transporte, estocagem e processamento do produto final

- Ajustar equipamentos de colheita - menor dano mecânico;
- Colher imediatamente o produto ao atingir a maturidade;
- Secar o produto até níveis seguros de umidade - Aa segura;
- Limpar sementes oleaginosas e grãos – remover matéria orgânica e sementes danificadas;
- Limpar áreas de armazenamento - livres de insetos e roedores, bem como protegidos de influências climáticas;
- Controlar de umidade e temperatura durante o armazenamento;
- Controlar a contaminação dos alimentos e rações em relação às micotoxinas de maior destaque;
- Desintoxicar o material contaminado, quando possível;

Riscos não podem ser eliminados, mas devem ser
AVALIADOS e GERENCIADOS

PRÁTICAS PREVENTIVAS AO LONGO DA CADEIA

BPA_s, BPF_s, APPCC ---- ISO 22000