

# MICOTOXINAS EM GRÃOS E DERIVADOS: CAUSAS, CONSEQUÊNCIAS E COMO EVITAR

por *Giniani Carla Dors e Eliana Badiale-Furlong*

Os fungos são seres eucarióticos, heterotróficos, eficientes na degradação de uma ampla gama de substratos. Sua sobrevivência é dependente da associação com outros seres vivos, especialmente plantas, envolvendo a colonização no tecido hospedeiro, a compatibilidade patógeno/hospedeiro, a disseminação pelo tecido hospedeiro, a indução dos sintomas da doença e a amplificação do patógeno por esporulação. As plantas são capazes de responder de diversas maneiras ao ataque por microrganismos, seja pelo estabelecimento de barreiras físicas (enrijecimento da parede celular com acúmulo de ligninas) e/ou químicas (produção de fitoalexinas). Porém, o microrganismo invasor pode degradar enzimaticamente essas barreiras, dificultando a ação das fitoalexinas como metabólitos finais produzidos pelo hospedeiro e, além disso, os metabólitos isolados da planta podem ter sido produzidos pelos microrganismos invasores que, podem até inibir o desenvolvimento da mesma.

O metabolismo dos fungos pode ser dividido em primário, o qual fornece energia e precursores químicos às células, que são essenciais para o crescimento e reprodução dos organismos pela absorção direta ou pela produção de enzimas para a degradação dos polímeros presentes no hospedeiro. O metabolismo secundário ocorre principalmente na fase estacionária do ciclo de desenvolvimento. São produzidos compostos de baixa massa molecular ditos “bioativos”, pois possuem atividade antibiótica, imunossupressora e tóxica, que possibilitam a melhor competitividade do micro-organismo no ambiente e em alguns casos a diferenciação de etapas do ciclo biológico. Os metabólitos secundários são sintetizados a partir de um metabólito primário, tais como aminoácidos, acetato, piruvato e outros, normalmente quando estão acumulados.

A síntese de metabólitos secundários pode garantir ao fungo vantagem em habitats no qual necessita competir com outros microrganismos. As espécies de fungos que produzem substâncias químicas causadoras de efeitos tóxicos quando ingeridas por animais e humanos por meio de alimentos são denominadas espécies toxigênicas. As substâncias com esta propriedade são denominadas micotoxinas, metabólitos secundários tóxicos, que são excretados no meio em que o fungo se desenvolve, tais como grãos e seus derivados processados. Ha espécies toxigênicas nos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* *Penicillium* e *Alternaria*.

Devido ao grande número de metabólitos produzidos por fungos convencionou-se que para uma substância ser caracterizada como micotoxina deve ser causadora de sintomas patológicos agudos e crônicos em homens ou animais decorrentes de exposição por via oral, ocorrer na natureza e ser produzida por fungo.

Os fungos produtores de micotoxinas podem colonizar os alimentos durante os períodos de pré-colheita, colheita ou armazenamento. A colonização e a contaminação com micotoxinas podem ocorrer em simultâneo, ou a produção pode ocorrer em fase posterior. Os parâmetros ecofisiológicos para a produção de micotoxinas são mais restritos do que aqueles necessários ao crescimento fúngico. São denominados fungos de campo aquelas espécies que colonizam as matérias primas durante a fase de pré-colheita, pois se desenvolvem em umidades relativas entre 70 a 90% e temperaturas em torno dos 20 e 25 °C.

Para um crescimento ativo necessitam de atividades de água superiores a 0,85 e, para um crescimento ótimo, perto de 0,99. São exemplos destes fungos os gêneros *Alternaria*, *Cladosporium* e *Fusarium*. Os fungos que colonizam as colheitas

agrícolas na fase de armazenamento estão melhor adaptados a baixas atividades de água e a temperaturas mais elevadas, sendo exemplos os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. A atividade de água mínima tolerada pela maioria das suas espécies é de 0,75-0,85, mas para o seu crescimento ótimo é de 0,93-0,98.

Quando ocorre o desenvolvimento de fungos em grãos e derivados, o valor nutritivo pode cair em função da extensão da contaminação, pois nutrientes, proteínas, carboidratos, aminoácidos e ácidos graxos, são utilizados pelos fungos em seu metabolismo. Em especial nos países tropicais, as perdas causadas por fungos podem chegar até 30 % em alguns países, devido a temperaturas e umidade relativa alta, onde as chuvas dificultam uma secagem adequada dos grãos, serviços de transporte e armazenagem podem propiciar a quebra dos grãos e a infestação por insetos. O desenvolvimento de fungos pode acontecer sem haver sinais visíveis ao olho humano, podendo, desta forma, invadir os grãos destruindo o embrião e rompendo os grânulos de amido no endosperma.

A produção de micotoxinas está ligada ao crescimento do fungo. Entretanto, a presença do fungo produtor nem sempre indica a presença da micotoxina, e ao contrário a ausência do fungo não indica a ausência de micotoxinas. Portanto, o entendimento dos fatores que permitem o crescimento do fungo e a produção de micotoxinas é de grande importância para o desenvolvimento de métodos de controle da contaminação. Condições de umidade e temperatura aumentam a probabilidade de desenvolvimento do fungo e, em alguns, casos a produção de micotoxinas. Os fungos e insetos estão entre os organismos mais associados a deterioração dos grãos, podendo afetar cor, odor, sabor, valor nutricional, bem como propiciar a produção de micotoxinas.

As micotoxinas são diferentes

quimicamente, com representantes em várias famílias e com um peso molecular que varia de 200 a 500 Da. São conhecidas cerca de 400 micotoxinas, mas apenas algumas destas são encontradas em alimentos. Parte deste perfil se deve a necessidade de estudos relacionando a presença do fungo produtor e as variáveis que influenciam para a produção da toxina no ambiente de produção dos grãos, bem como métodos analíticos confiáveis para detecção e quantificação da mesma. As micotoxinas mais frequentemente encontradas contaminando grãos e derivados são as aflatoxinas, a ocratoxina A, as fumonisinas, a zearalenona e o deoxinivalenol. No mínimo quatorze micotoxinas são carcinogênicas, sendo as aflatoxinas as mais potentes. Existem pelo menos dezessete diferentes aflatoxinas, dentre os quais as mais importantes são as aflatoxinas B1, G1, B2 e G2, sendo que a primeira o agente natural mais carcinogênico que se conhece e, devido a prevalência do fungo produtor, esta micotoxina é o contaminante mais encontrado em grãos de diferentes regiões produtoras.

Também quanto a gravidade dos seus efeitos as micotoxinas apresentam grande variedade de micotoxicoses sobre os homens e animais. Alguns dos problemas de saúde relatados são danos no fígado, rins e sistema nervoso, além de imunossupressão e carcinogênese. Mesmo que a verdadeira toxicidade de muitas toxinas ainda não tenha sido demonstrada para humanos, o efeito desses compostos em animais de laboratório e em ensaios *in vitro* deixa poucas dúvidas a respeito de sua toxicidade potencial. A severidade dos mesmos depende grandemente das quantidades ingeridas, do tempo de exposição e das possíveis sinergias toxicológicas que podem advir da ingestão de diversas micotoxinas simultaneamente. A idade dos indivíduos, o sexo e o seu estado fisiológico são fatores importantes para a extensão dos efeitos tóxicos. Quando são ingeridas em grandes quantidades, estas podem levar à morte dos indivíduos, mas o maior risco de sintomas agudos ocorre com animais alimentados com ração.

primário, tais como aminoácidos, acetato, piruvato e outros, normalmente quando estão acumulados.

Os efeitos das micotoxinas em humanos tendem a ser crônicos, de difícil associação com o consumo de alimentos contaminados, sejam estes processados ou *in natura*. As micotoxinas entram no sistema de produção animal pela alimentação e têm um efeito negativo sobre o desempenho, a saúde e a qualidade dos produtos. É importante ressaltar que a toxina, ao ser ingerida, poderá ou não ser biotransformada em compostos menos tóxicos, e será encontrada na carne, leite ou ovos, em função da concentração do contaminante no alimento ingerido.

As micotoxicoses crônicas ocorridas no campo, na maioria das vezes passam despercebidas ou são confundidas com outros males, promovendo perdas econômicas. Hoje já se dispõe de formas para quantificar e, desta forma, implementar medidas preventivas, testes diagnósticos e produtos para o seu combate. O controle de micotoxinas em termos de rentabilidade da produção, bem-estar animal, qualidade dos produtos e segurança do consumidor vem acompanhando a evolução das técnicas de criação.

As micotoxinas são ubíquas em produtos agroalimentares, podendo ser ingeridas involuntariamente quando produtos de origem vegetal contaminados são consumidos. Por ser um contaminante natural, não é possível eliminar completamente a presença nos alimentos, mas o seu nível pode e deve ser reduzido tanto quanto seja tecnologicamente possível, para que não representem risco para a saúde pública. Para tanto, legislações têm sido adotadas em muitos países com o intuito de proteger os consumidores dos efeitos nocivos das micotoxinas em alimentos *in natura* e processados e, inclusive, em rações para animais de abate e de estimação, através do estabelecimento de limites máximos permitidos.

Nos países desenvolvidos, a legislação em vigor é restritiva e nos países em desenvolvimento, o risco de exposição a micotoxinas é maior, uma vez que as práticas agrícolas, os métodos de

armazenamento e a legislação ainda precisam de adequação. Existem diversos fatores que conduzem à elaboração dessas legislações, por exemplo, os aspectos científicos, tais como a disponibilidade de informações toxicológicas, o conhecimento acerca da distribuição das micotoxinas nos alimentos, além de metodologia analítica confiável e acessível, pois os danos dos falsos positivos ou negativos podem representar um risco maior. Também, devem ser considerados os aspectos políticos e econômicos, principalmente com relação aos interesses comerciais e aos impactos na disponibilidade da oferta de alimentos. No Brasil esta em vigor a RDC N° 7 de 18 de fevereiro de 2011, alterada pela RDC N° 138 de 8 de fevereiro de 2017.

Sabendo que o crescimento fúngico e a formação de micotoxinas são dependentes de fatores como umidade, temperatura, presença de oxigênio, tempo para o crescimento, constituição do substrato, lesões à integridade dos grãos causados por insetos ou dano mecânico/térmico, quantidade de inóculo fúngico, interação/competição entre as linhagens fúngicas e características genéticas da matéria-prima; há necessidade de controlá-los mediante a manipulação do microambiente que se encontra o alimento para prevenir a contaminação. Porém, caso o alimento já esteja contaminado, outros métodos de controle são utilizados para reduzir a concentração das micotoxinas a níveis seguros, ou degradá-las à substâncias não tóxicas, cuidando sempre para que estes processos não promovam a diminuição do valor nutritivo dos alimentos descontaminados.

A prevenção da contaminação e do crescimento fúngico se dá pela melhora nas práticas agrícolas que é conseguida com o uso de sementes de qualidade e livres de fungos, do impedimento do ataque dos insetos e das enfermidades das plantas, do uso de híbridos resistentes a fungos ou danos, bem como do uso de agentes antifúngicos.

A prevenção da produção de micotoxinas abrange prevenção de biossíntese e metabolismo de toxinas no campo e no armazenamento. Durante o processo de colheita é importante que se evite ao máximo atingir

fisicamente o cereal, pois o dano mecânico está invariavelmente associado a uma rápida invasão de fungos. Outro fator importante no processo de colheita é a limpeza dos cereais, pois os resíduos que ficam aderidos ou misturados, normalmente são portadores de espécies fúngicas micotoxigênicas.

O armazenamento também tem um papel importante na qualidade físico-química e microbiológica das colheitas, pois os mesmos fatores bióticos e abióticos podem desencadear o estresse da micota que para se tornar competitiva acelera a produção de compostos de defesa provenientes do metabolismo secundário. Para tanto, deve-se controlar os sistemas de secagem e armazenamento instalados, as temperaturas da massa de grãos no interior dos silos através da aeração forçada, as unidades armazenadoras devem ser livre de impurezas e efetivas no controle dos pontos de calor para prevenir, além dos danos endógenos aqueles exógenos promovidos pela micota. O uso de ácidos como benzóico, sórbico, propiônico, fórmico e acético em pequenas concentrações podem prevenir ou diminuir o risco de contaminação, porém, para que sejam efetivos devem estar a um pH situado pouco acima do seu pK para que estejam na forma dissociada e tenham efeito sobre o crescimento fúngico. A quantidade de ácido adicionado ao produto armazenado deve ser proporcional ao conteúdo de água para que se possa promover uma distribuição uniforme no volume de grãos a tratar. No entanto, o emprego destes ácidos em subdoses pode levar ao risco de potencializar a capacidade toxigênica de determinados fungos, representando assim um risco para cereal. O mesmo problema pode ser ocasionado por fungicidas com princípios ativos inadequados que promovem o estresse primeiramente que a morte celular.

É difícil impedir a formação de micotoxinas no campo ou na estocagem, entretanto, o monitoramento pode impedir que as micotoxinas se tornem uma significativa fonte de riscos à saúde, pois o conhecimento da contaminação permite a adoção de medidas estratégicas para minimizar o risco. Estratégias adotadas na pré ou pós-colheita seriam apropriadas e

dependeriam principalmente das condições climáticas de cada ano em particular. Compreender os fatores ambientais que promovem a infecção, crescimento e produção de toxina é um passo importante para um plano efetivo que vise minimizar a ocorrência de micotoxinas em alimentos e em rações.

O melhor método para controlar a contaminação por micotoxinas dos alimentos é a prevenção, porém quando o produto esta contaminado e vai ser usado como alimento, é necessário eliminar ou diminuir esta contaminação. As tecnologias disponíveis para eliminar a contaminação de alimentos por micotoxinas é bastante questionável, pois estes contaminantes são resistentes quimicamente e requerem usualmente condições drásticas para degradação e ainda os produtos de degradação podem ser mais tóxicos que os originais. Em vista disso, as estratégias para a remoção ou inativação de micotoxinas são aplicados em uma abordagem caso a caso.

#### **Os métodos de descontaminação se dividem em físicos, químicos, biológicos e mistos**

Os métodos físicos incluem moagem, que tem apresentado sucesso para deoxinivalenol, e separação por densidade, que em alguns casos reduziu os níveis de tricotecenos e zearalenona. O beneficiamento de grãos vem demonstrando ser capaz de reduzir os níveis tanto fúngicos como de micotoxina, sendo esta redução dependente da espécie fúngica e tipo de toxina. Cabendo lembrar que do beneficiamento de grãos resultam ainda as porções mais externas que são bastante utilizadas para fins de formulações alimentícias para humanos e animais. Métodos físicos e eletrônicos de separação e controle de espécies contaminantes em amendoim tem sido usados por indústrias que beneficiam este produto para reduzir os níveis de aflatoxinas, embora esta técnica não tem se mostrado a mais eficiente na detoxificação, pois os produtos que não tem evidência visível do prejuízo ocasionando por fungo podem ainda assim conter micotoxinas em níveis significativos.

Outro método físico de descontaminação envolve a utilização de materiais adsorventes com capacidade para se ligarem eficazmente às micotoxinas. Exemplos destes materiais: carvão ativado, colestiramina, aluminossilicato de cálcio e sódio hidratado e montmorilonite egípcia. O sistema ideal para detoxificar as rações animais deve levar em consideração não somente a redução das micotoxinas, mas também que a substância empregada não tenha produtos de degradação tóxica nem, tampouco, reduza o valor nutritivo dos alimentos tratados. A radiação gama também tem sido utilizada para avaliar os efeitos sobre a carga fúngica e a contaminação por micotoxinas em diferentes matrizes. Estudos tem relatado a eficácia da extrusão termoplástica na redução de aflatoxinas em farinha de amendoim.

Os métodos químicos de detoxificação de produtos contaminados consistem em promover a inativação do contaminante por reações químicas, alta pressão ou extração, usando um solvente orgânico ou uma combinação destes. Eles tem sido avaliados para as aflatoxina desde 1960. Quimicamente, algumas micotoxinas podem ser destruídas pelo uso de hidróxido de cálcio, ozônio, amônia ou hidrossulfito de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>). A utilização de amônia, para descontaminação de produtos agrícolas contaminados por aflatoxinas, tem demonstrado ser muito eficiente. Também tem sido referenciado o recurso a compostos presentes em extratos de plantas O aumento da atividade antioxidante dos compostos na amêndoa pode restringir a capacidade de biossíntese de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e, conseqüentemente, atingir a conformidade com os limites regulamentares. A busca por agentes descontaminantes naturais tem sido intensificada pela consciência pública para alternativas mais seguras aos conservantes químicos. Para isto é preciso que sejam acessíveis, simples de aplicação, não-tóxicos para seres humanos e plantas e que tenha um amplo espectro de fungitoxicidade. Os óleos essenciais (EOS) foram classificados como GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro) e têm sido recomendados como conservantes para produtos alimentares

com base em seus efeitos antimicrobianos e anti-micotoxigênicos. Em todo o mundo, várias tentativas foram feitas para avaliar diferentes métodos de desintoxicação ou inibição da produção de aflatoxinas por espécies toxigênicas, embora menos estudos tem sido realizados para outras micotoxinas.

Os métodos biológicos geralmente preconizam um processo fermentativo, tais como na produção de pães a partir de grãos de trigo contaminados assumindo-se que o micro-organismo (levedura) metaboliza a toxina tornando o produto mais saudável. No entanto, esta descontaminação também pode ter ocorrido porque adsorve as toxinas presentes, reduzindo a contaminação, mas a adsorção pode se apresentar reversível no processo digestivo. Experimentos de fermentação alcoólica por *Saccharomyces cerevisiae* com mosto contaminado com deoxinivalenol e zearalenona mostraram resultados onde após 7-9 dias de fermentação o deoxinivalenol foi estável ao processo. Do conteúdo inicial de zearalenona, 69% foi convertido a  $\beta$ -zearalenol e 8,1% a  $\alpha$ -zearalenol, produtos menos tóxicos. Outras pesquisas demonstraram bons resultados de inibição na produção de aflatoxinas utilizando microrganismos como: *Bacillus* spp (98%), *A. flavus* e *A. parasiticus* (90%) e *Trichoderma* spp (75%). É notório que a ação do ácido láctico de muitas bactérias tem inibido o crescimento de cepas e a síntese de micotoxinas. Também podem-se citar as modificações genéticas.

A Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) é um sistema qualitativo que viabiliza a segurança dos alimentos através da análise e do controle de perigos (físicos, químicos e/ou biológicos) em cada passo da produção do alimento. É sustentado por programas pré-requisitos, tais como Boas Práticas Agrícolas (BPA) ou Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Manejo Integrado de Pragas (MIP) e é uma ótima ferramenta para ser implementada na cadeia produtiva de grãos. Sua aplicação consiste em uma sequência de etapas, também chamadas de princípios, que auxiliam a identificar os pontos críticos do processo que merecem atenção especial, bem como antecipar as soluções aos possíveis problemas que podem surgir.

A contaminação de alimentos e rações por micotoxinas representa um sério problema de saúde para humanos e animais, além de se constituir em considerável obstáculo à economia de países nos quais a balança comercial se baseia nas exportações de commodities. O reconhecimento dos problemas causados pelas micotoxinas nos alimentos e rações é, sem dúvida, o primeiro passo para a implementação de programas que permitam a adoção de medidas apropriadas para a prevenção e a redução do problema. Tais programas devem incluir não apenas as medidas de prevenção de ocorrência de micotoxinas em commodities, mas, também, o uso de métodos para sua remoção ou descontaminação.

Uma rotina de inspeção, legislação para controlar o fluxo de commodities contaminadas com micotoxinas no comércio nacional e internacional, bem como desenvolver atividades de informação, comunicação e, principalmente, de educação são medidas importantes para o controle do risco natural de competição entre espécies. Falta no Brasil, entretanto, um maior rigor no cumprimento da legislação, além disso, as fiscalizações são esporádicas e os laboratórios encarregados de realizar as análises encontram-se, em sua grande maioria, desprovidos de material e de pessoal especializado. É provável, em virtude do crescente intercâmbio de commodities entre os países, que ocorra uma harmonização da legislação para micotoxinas em nível global. Convém enfatizar que a amostragem de micotoxinas nas cadeias alimentares humana e animal exigem o emprego de corretas técnicas estatísticas de amostragem, sem as quais os resultados finais obtidos serão inválidos, ainda que empregando tecnologia analítica sofisticada.



Prof. Dra. Giniani Carla Dors  
Universidade Federal de Pelotas  
dorsgi@yahoo.com.br



Prof. Dra. Eliana Badiale-Furlong  
Universidade Federal do Rio Grande  
dqmebf@furg.br