

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA EM SANANDUVA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM AGRICULTURA FAMILIAR E
DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL**

ANDRESA FÁTIMA DUARTE

**DETECÇÃO DE MICOTOXINAS EM MILHO PARA A
PRODUÇÃO DE FARINHA E RAÇÃO ANIMAL**

SANANDUVA-RS

2016

ANDRESA FÁTIMA DUARTE

Trabalho de conclusão de curso como requisito parcial para aprovação no curso de Especialização em Agricultura Familiar e Desenvolvimento Sustentável na UERGS - Universidade Estadual do Rio Grande do Sul – Unidade Universitária em Sananduva - RS

Orientador: Prof. Me. Gerônimo Rodrigues Prado

Aprovado em 06 / 07 /2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof Gerônimo Rodrigues Prado
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul
Orientador e Presidente da Banca

Prof. Me. Ernane Ervino Pfüller
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul
Examinador

Profª. Drª.Silvia Santin Bordin
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul
Examinadora

DETECÇÃO DE MICOTOXINAS EM MILHO PARA PRODUÇÃO DE FARINHA E RAÇÃO ANIMAL

Andresa Fátima Duarte¹; Gerônimo Rodrigues Prado²

RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal mais produzido no Brasil e o país é o terceiro produtor mundial logo após os Estados Unidos e a China. Apesar da grande quantidade do milho produzido no Brasil e no mundo serem utilizados na cadeia produtiva de suínos e aves uma grande parte desta produção é perdida. As perdas na produção estão associadas a diversos fatores e dentre estes estão a contaminação por micotoxinas. A presença de fungos e micotoxinas em grãos de milho também tem contribuído para o aumento de intoxicações alimentares em humanos animais e afetando assim a segurança alimentar daqueles que consomem o milho nas mais diversas formas. Desta forma foram objetivos do presente trabalho Avaliar a presença das micotoxinas Aflatoxina, Fumonisina, Zearalenona e Desoxinivalenol, em amostras de milho destinadas para ração e farinha de diferentes produtores da região de Sananduva RS. Além disso avaliar o teor de umidade e grau de impurezas dos grãos. A metodologia consistiu em analisar dez amostras de milho destinados para ração e farinha. Para a realização das análises de micotoxinas presentes no milho, utilizou-se Kits RevealQ+®, cada qual para avaliação de determinado tipo de micotoxina. Avaliou-se o teor de umidade das amostras coletadas, utilizando-se o medidor de umidade Motomco 999 FB. O grau de impurezas foi determinado através de peneira. Os resultados mostraram a presença de zearalanona em todas as amostras. Apesar da presença de micotoxinas na totalidade das dez amostras avaliadas conclui-se que o milho recebido dos produtores agrícolas familiares, para o posterior processamento, está dentro dos padrões de qualidade e segurança alimentar para os consumidores dos seus subprodutos.

Palavras-chave: Milho. Fungos. Micotoxinas.

¹ Graduada em Tecnologia em Agroindústria, pela Universidade Estadual do Rio Grande do Sul Unidade em Sananduva. E-mail andresa-fduarte@hotmail.com

² Professor orientador. Graduado em Ciências Biológicas. Mestre em Ciência do Solo. Lotado na Uergs em Sananduva. E-mail geronimo-prado@uergs.edu.br

1. INTRODUÇÃO

O milho é um cereal cultivado mundialmente e proporciona uma excelente fonte energética, tendo papel importante na alimentação humana e também de animais. Seu consumo trás vários benefícios à saúde, principalmente pelo fato de que, ao utilizar o milho, conserva-se sua casca, que é uma rica fonte de fibras, importantes para a manutenção do ritmo intestinal. É rico em proteínas, carboidratos, vitaminas e sais minerais e é utilizado em mais de 500 produtos como matéria prima.

Apesar da grande parte do milho produzido no Brasil e no mundo ser utilizado na cadeia produtiva de suínos e aves, uma grande parte desta produção é perdida. As perdas estão associadas a diversos fatores desde o manejo no campo até o armazenamento inadequado dos grãos ou da espiga. Um fator que ocasiona contaminação nos grãos são as micotoxinas que são metabólitos gerados pelos fungos que atacam a cultura, tanto na fase de floração como na pós-colheita e armazenamento do produto.

Com base na problemática da presença de micotoxinas em grãos de milho são objetivos do presente trabalho: Avaliar a presença de quatro tipos de micotoxinas em amostras de milho destinadas para farinha e ração, recebido de diferentes produtores da região de Sananduva - RS. Além disso, avaliar o teor de umidade e grau de impurezas dos grãos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta monocotiledônea, pertencente à família Poaceae, Subfamília Panicoidae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. É uma herbácea e completa seu ciclo em quatro a cinco meses caracterizando uma planta anual, tendo uma época de plantio variável, de acordo com cada região. É o cereal mais produzido no Brasil e o país é o terceiro produtor mundial logo após os Estados Unidos e a China. Mesmo assim, importações do cereal ainda são realizadas, já que a produção nacional não é suficiente para atender as necessidades internas (PEREIRA, 2002).

Atualmente, a maior parte da utilização do milho está concentrada à fábrica de rações para animais, devido às suas características nutricionais, constituído da maioria dos aminoácidos, além de ser um cereal com produção de baixo custo, se for comparado à obtenção de outros grãos. No Brasil, a produção do grão destinado à alimentação animal está representada entre 70-80%. Espécies da planta também são utilizadas na elaboração de silagem, como ingrediente único ou complemento (OLIVEIRA, 2000).

O armazenamento dos grãos pode ser a granel, em silos que podem ser metálicos, de alvenaria ou concreto. Além disso, outras formas de armazenamento podem ser em armazéns convencionais (sacarias), em armazéns graneleiros e em sistemas de armazenagem temporária, como silo bolsa. O armazenamento de espigas também pode ocorrer. As espigas são armazenadas em paiol ou ensacadas em armazém convencional. Atualmente, o armazenamento do milho a granel é a forma predominante de armazenagem e a mais recomendada. Porém, como o milho é amplamente cultivado em pequenas propriedades familiares, que geralmente apresentam baixos níveis tecnológicos e de investimento, armazenam o milho em espigas em estruturas improvisadas ou em paióis, como se pode observar em diversas regiões do país (EMBRAPA, 2011).

As perdas ocasionadas por contaminantes comprometem aproximadamente de 10% da produção brasileira de milho. O milho recém-colhido pode acabar danificado por fungos e contaminado por micotoxinas, entre outros, tornando-se inutilizável para o consumo humano, animal, ou para ser comercializado. A contaminação fúngica pode estar presente em qualquer lugar podendo ocorrer no

período durante a maturação do grão no campo, antes da colheita ou até durante o seu armazenamento (LÁZZARI, 1993).

Dentre os problemas que afetam as culturas do milho estão os fungos. O nível de umidade do grão durante a fase de crescimento da planta e o grau de umidade durante o processo de armazenamento são os principais fatores que permitem a contaminação por fungos em milho. (MARÍA, 2008). A presença de fungos e micotoxinas em grãos de milho também tem contribuído para o aumento de intoxicações alimentares em humanos animais e afetando assim a segurança alimentar daqueles que consomem o milho nas mais diversas formas (MAPA, 2009).

Os fungos são capazes de produzir metabólitos secundários. Os metabólitos secundários são compostos orgânicos que estão envolvidos em processos de crescimento, desenvolvimento, reprodução e defesa de alguns organismos como fungos e plantas. Em geral alguns metabólitos produzidos por fungos são denominados micotoxinas (TAIZ & ZEIGER; 2009).

Dentre os fungos responsáveis pela deterioração de grãos na pré-colheita e, depois, durante o armazenamento, destacam-se os do gênero *Fusarium spp.*, *Aspergillus sp.* e *Penicillium sp.* Além de causarem severos danos aos grãos, esses fungos são conhecidos também pelo seu elevado potencial em produzir micotoxinas. São classificados em fungos do campo e fungos do armazenamento. Os primeiros contaminam os grãos durante o cultivo por requererem ambientes com umidade relativa superior a 80%. Enquanto os fungos do armazenamento demandam menor quantidade de água, desta forma, estes proliferam em maior intensidade na massa de grãos no período pós-colheita. (EMBRAPA, 2011).

As micotoxinas são substâncias químicas resultantes da atividade metabólica de fungos, elas podem intoxicar seres humanos e animais. Estas intoxicações podem ocorrer de forma direta ou indireta. A forma direta de intoxicação por micotoxinas ocorre quando o produto é diretamente utilizado na alimentação humana ou de animais. Já a forma indireta resulta quando subprodutos e derivados contaminados são empregados. As micotoxinas são produzidas, ainda que não exclusivamente, à medida que o fungo atinge a maturidade (FREIRE et al., 2007).

Existem vários fungos que produzem micotoxinas. As principais espécies de fungos importantes na cultura do milho que podem afetar a cultura e os produtos finais da cadeia são: *Stenocarpella maydis*, *Stenocarpella macrospora*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium subglutinans*, *Gibberella zeae*, *Penicillium spp.* e *Aspergillus*

spp (PINTO,2006). Dentre as principais micotoxinas produzidas por estas espécies estão as fumonisinas, a de nome desoxinivalenol, e as ocratoxinas A, Sendo as principais micotoxinas reletadas em milho as aflatoxinas, as fumonisinas, a zearalenona, a esterigmatocistina, o deoxinivalenol (DON), o nivalenol, as ocratoxinas e a toxina T-2 (SCUSSEL, 2002; QUEIROZ et al., 2009).

A presença de fumonisinas em grãos de milho tem sido associada a casos de câncer de esôfago em habitantes das regiões de Transkei (Sul da África), China e nordeste da Itália (PERAICA et al., 1999). As fumonisinas são responsáveis, também, pela leucoencefalomácia em equinos e coelhos (MARASAS et al., 1988; BUCCI et al., 1996; FANDOHAN ET al., 2003); Além disso tem sido constatado edema pulmonar e hidrotórax em suínos ocasionados por fumonisinas (HARRISON et al., 1990).

Outros efeitos observados pela ingestão da fumonisina são hepatóxicos (tóxicos a células do fígado), carcinogênicos e ainda tem sido observado apoptose (morte celular programada) em fígado de ratos (GELDERBLOM et al., 1988; 1991; 1996; POZZI et al., 2000). Muitos relatos de câncer de esôfago entre afro-americanos nos Estados Unidos foram relatados por Sydenham e seus colaboradores (1991). Os autores observaram que a cidade de Charleston (Carolina do Sul) apresentava um elevado número de pessoas com câncer de esôfago. Ao investigarem as causas observaram grande quantidade de fumonisina isoladas a partir de milho comercializado naquela cidade. Em alguns animais observa-se quadros menor consumo de alimentos, produção de leite reduzida, alguns órgãos como cérebro, pulmão, fígado são afetados quando houver toxicidade advinda dessa micotoxina (MARÍA et al., 2008).

A desoxinivalenol, conhecida por DON, é uma das micotoxinas mais comumente encontradas em grãos e afeta sua importância econômica. Quando ingerido em doses elevadas por animais, ela causa náuseas, vômitos e diarreia. Quando ingerida por porcos e por outros animais, em pequenas doses, pode provocar perda de peso e recusa alimentar. Por induzir esses sintomas a desoxinivalenol é conhecida como vomitotoxina ou fator de recusa de alimento (FREIRE et al., 2007). É um dos tricotecenos, grupo de toxinas típicas do campo de maior importância, afeta o fígado, isto é, tudo o que afeta tem referência ao sistema de desintoxicação. A toxina T-2, também do grupo tricotecenos é encontrada em instalações agrícolas como armazéns e silos, contaminando grãos, cereais e rações.

Ela e seus derivados hidroxilados e acetilados tem efeitos citotóxicos e imunodepressores, pelo qual constituem um risco para a saúde (MARÍA et al., 2008).

As micotoxinas podem entrar na cadeia alimentar humana e animal por meio de contaminação direta ou indireta. A contaminação indireta de alimentos e rações pode ocorrer quando um ingrediente qualquer foi previamente contaminado por um fungo toxigênico, e mesmo que o fungo tenha sido eliminado durante o processamento, as micotoxinas ainda permanecerão no produto final. Já a contaminação direta, quando o produto, o alimento ou a ração, se torna contaminado por um fungo toxigênico (FREIRE et al., 2007).

Nos animais o grau de concentração de micotoxinas pode estar relacionado à sintomas como recusa de alimento, anemia, problemas de reprodução, baixa imunidade, hemorragias. Consumo de produtos direta ou indiretamente contaminados, como vegetais, carne, ovos e leite, por seres humanos, pode acarretar problemas crônicos de desenvolvimento lento, que podem durar períodos extensos e apresentar efeitos de longo prazo de difícil previsão, como imunossupressão e câncer. A entrada no organismo comumente se dá pela via digestiva e sua absorção geralmente causa reações sob a forma de hemorragias, ou mesmo, necroses (FREIRE et al., 2007).

Muitas destas toxinas têm afinidade por determinado órgão ou tecido, sendo o fígado, os rins e o sistema nervoso frequentemente os mais atingidos (SANTURIO, 2000).

Outra micotoxina de importância econômica para o milho é a Ocratoxina A . Esta micotoxina produzida por fungos do gênero *Aspergillus* está associada a nefropatias em todos os animais estudados até o momento. É no ser humano, entretanto, 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, imunossupressora, teratogênica e cancerígena (BEARDALL & MILLER, 1994; KUIPER-GOODMAN & 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 (MARQUARDT & FROHLICH, 1992), bem como em carne suína para consumo humano (FINK-GREMMELS, 1999). A Ocratoxina A tem sido responsabilizada pela nefropatia suína, amplamente estudada em países escandinavos. A doença é endêmica em

suínos da Dinamarca, onde também está associada à morte de aves (KROGH, 1987; BURNS & DWIVEDI, 1986; HAMILTON et al., 1982).

A Agência Internacional para Pesquisa do Câncer classificou a ocratoxina A como um possível cancerígeno humano (BEARDALL & 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 de ter sua presença também confirmada em café torrado e moído, e em café solúvel (PRADO et al., 2000).

Alguns substratos são extremamente favoráveis ao crescimento de fungos aflatoxigênicos e à formação de aflatoxinas. A contaminação natural de cereais, sementes oleaginosas, amêndoas, especiarias e de outras commodities 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. Algumas culturas tornam-se contaminadas ainda no campo, antes da colheita, outras se contaminam após a colheita, quando são armazenadas em condições de elevada umidade e temperatura (GERMANO, 2015).

A ocorrência de fungos do gênero *Aspergillus*, bem como das aflatoxinas o alimentos e rações animais, apresenta distribuição mundial, com predomínio nas regiões de clima tropical e subtropical, inclusive no Brasil. Produtos agrícolas como amendoim, milho, feijão, arroz e trigo, entre outros, podem ser contaminados por meio do contato com os esporos do fungo, presentes no ambiente, sobretudo no solo, durante os procedimentos de colheita e secagem. O armazenamento inadequado, em locais úmidos e sem ventilação, favorece não apenas a contaminação, mas também o desenvolvimento fúngico nos produtos já contaminados (GERMANO, 2015).

As aflatoxinas atuam como agente intercalado do DNA, causando a morte celular, transformando as células em tumores. Entre alguns sinais clínicos de aflatonixa estão a menor produção de leite, diminuição do consumo de alimento, menor ganho de peso, redução da fertilidade, mortalidade em níveis mais altos de exposição, entre outros (MARÍA et al., 2008).

Existem cinco zearalenona de ocorrência natural, as quais são produzidas por *Fusarium spp.* principalmente *Fusarium graminearum* (anteriormente conhecido como *Fusarium roseum* = *Gibberella zeae*) e *Fusarium tricinctum*. Associadas ao

milho, esses organismos invadem a planta no estágio de floração, especialmente durante períodos chuvosos. Se os níveis de umidade permanecem suficientemente altos após a colheita, o fungo cresce e produz toxina (FREIRE et al., 2007).

Outros grãos, como trigo, aveia, cevada e gergelim, podem ser infectados, além do milho. A zearalenona fluoresce azul esverdeada sob luz ultravioleta de comprimento longo, e esverdeada sob luz ultravioleta de comprimento curto. Essas micotoxinas possuem propriedades estrogênicas e promovem cio em camundongos e hiperestrogenismo em suínos. Devido à sua atividade estrogênica, os efeitos primários da zearalenona e seus metabólitos são os problemas de reprodução, mas a taxa de transferência para o leite é baixa e não representa um risco para os consumidores de produtos lácteos. Alguns sinais clínicos incluem abortos, seios irregulares, infertilidade, vaginites, reabsorção embrionária (MARÍA et al., 2008).

Metabólitos gerados por fungos são muito prejudiciais e podem trazer muitas consequências se os alimentos contaminados por essas toxinas forem ingeridos pelos animais ou seres humanos. O controle dos fungos juntamente com boas técnicas de colheita e armazenagem é uma alternativa para que os alimentos possam ter uma maior qualidade e um menor índice de toxicidade, agregando valor ao produto e garantindo uma alimentação mais saudável e livre de possíveis doenças (FREIRE et al., 2007).

3 - METODOLOGIA

3.1 Coleta das Amostras

Coletaram-se dez amostras de milho de cargas aleatórias trazidas pelos produtores de Sananduva e municípios vizinhos para os Silos da Empresa Vicato Alimentos situada na cidade de Sananduva – RS no período de 24 de fevereiro à 16 de março de 2016. A finalidade para o qual o milho seria utilizado (farinha ou ração) foi dada conforme os parâmetros na Normativa 60/2011 de 23 de Dezembro de 2011 (BRASIL, 2011). As análises foram realizadas no laboratório da empresa Vicato Alimentos e tiveram o acordo da Empresa.

3.2 Determinação do grau de Impurezas

O grau de impurezas nos grãos é determinado segundo a Normativa 60/2011 (BRASIL, 2011), que tem por objetivo definir o padrão oficial de classificação do milho, considerando seus requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto.

O grau de impurezas foi determinado utilizando duas peneiras acopladas sendo a primeira (peneira de superior) de 5,00 mm e a peneira abaixo de 3,00 mm . O número de impurezas é determinado pelos pedaços de grãos que vazaram pela peneira de crivos circulares de 3,00 mm (três milímetros) de diâmetro, bem como detritos do próprio produto que ficaram retidos nas peneiras de crivos circulares de 5,00 mm (cinco milímetros) e 3,00 mm (três milímetros) que não sejam grãos ou pedaços de grãos de milho.

3.3 Determinação do Teor de Umidade

Avaliou-se o teor de umidade das amostras coletadas, utilizando-se o medidor de umidade Motomco 999 FB. Este é um equipamento de laboratório para uso em bancada, desenvolvido para medição de umidade em grãos, sementes e uma vasta gama de outros produtos. Baseado nas normas e padrões estabelecidos pela USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos), todos os instrumentos devem

prover resultados equivalentes aos obtidos pelo método de estufa, que é a referência mundial. Os métodos de medição elétricos são os mais usados para operações com grãos e sementes. Eles são razoavelmente precisos, extremamente rápidos e os seus resultados são reprodutíveis. O medidor de umidade chamado Motomco é adotado para a inspeção de grãos pelo USDA e é um método aprovado pela American Association of Cereal Chemists (LUZ, 2006).

3.4 Análises de Micotoxinas

Triturou-se cada amostra de milho no moinho Analítico IKA A11 basic e utilizou-se uma amostra de 10 gramas desse milho moído para cada análise.

Para a realização das análises de micotoxinas presentes no milho, utilizou-se Kits RevealQ+ ®, cada qual para avaliação de determinado tipo de micotoxina. Os Kits RevealQ+ baseiam-se em um ensaio imunocromatográfico de fluxo lateral de uma etapa baseada em um formato imunoanalítico competitivo. As amostras são avaliadas em um espectrofotômetro. A análise procede conforme explicação a seguir.

O extrato passa, por ação capilar, através de uma zona de reativos que contém anticorpos específicos para determinada micotoxina conjugados com partículas de ouro coloidal. Se a micotoxina está presente, será capturada pelo complexo de anticorpo-partícula. O complexo de fumonisina-anticorpo-partícula então passa através de uma membrana que contém uma zona de fumonisina conjugada a um portador proteico. Esta zona capta qualquer anticorpo de fumonisina que se encontre em forma livre, o que permite que as partículas se concentrem e formem uma linha visível. À medida que o nível de micotoxina na amostra aumenta, a micotoxina presente em forma livre criará um complexo com as partículas de anticorpos-ouro. Isto permite que menos partículas de anticorpos-ouro sejam capturadas na zona de teste. Portanto, à medida que a concentração de micotoxina na amostra aumenta, a densidade da linha de teste diminui. Os algoritmos programados nos leitores do AccuScan convertem estas densidades da linha em um resultado quantitativo apresentado em partes por milhão (ppm) ou partes por bilhão (ppb). A membrana também contém uma zona de controle onde um complexo imune presente na zona do reativo é capturado por um anticorpo, formando uma linha

visível. A linha de controle se formará sempre, independentemente da presença da micotoxina, assegurando que a fita está funcionando corretamente.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Impurezas

O teor de impurezas de um lote de grãos é determinado no momento da classificação do produto utilizando-se peneiras recomendadas para cada produto. As peneiras recomendadas para classificação oficial do milho, nas análises de grãos quebrados e impurezas são as peneiras de crivos circulares de 5 mm (cinco milímetros) de diâmetro ou 12/64 polegadas. O teor de impurezas de determinado lote é determinado pelo valor percentual de impurezas na amostra (em peso), onde a *percentagem de impurezas se dá pelo peso de impurezas (g) vezes cem (x 100) divididos pelo peso da amostra (g)*. Quando da análise da amostra coletada na recepção das unidades de armazenamento de milho, o percentual de impurezas é determinado, e dependendo da quantidade de impurezas no lote, pode sofrer descontos, em conformidade com os padrões estabelecidos pela indústria que irá armazenar o grão. Este desconto também pode ser chamado de quebra de impurezas (QI) (PIMENTEL et al. 2011). Na tabela 1 estão apresentados os valores de impurezas encontradas nas amostras, e, na tabela 2, a tipificação do grão de milho e seu respectivo índice de impurezas.

A contaminação em grãos de milho pos-colheita pode estar associada a presença de impurezas e matérias estranhas, tais como: partes da própria planta; espigas; pedaços de grãos; sementes, fragmentos de caule entre outros. Estes materiais no momento da colheita apresentam altos teores de umidade, a qual pode ser transferida aos grãos provocando o desenvolvimento fúngico e proporcionando a produção de micotoxinas (GOLÇALVES et al, 2000). Os resultados para análises de impurezas encontrados nas amostras de milho mantiveram um padrão satisfatório.

Tabela 1. Resultado das análises de Impurezas nos grãos de milho.

Am.	Data Coleta	Impurezas (%)	Município
1	24/02/2016	1,63	Sananduva
2	24/02/2016	0,91	Ibiaçá
3	23/02/2016	0,89	Ibiaçá
4	23/02/2016	0,07	Sananduva
5	24/02/2016	0,06	Ibiaçá
6	24/02/2016	0,15	Santo Expedito do Sul
7	02/03/2016	1,13	Sananduva
8	03/03/2016	0,93	Sananduva
9	14/03/2016	1,28	Sananduva
10	16/03/2016	0,64	Muitos Capões

Tabela 2. Tipificação do milho e respectivo índice de impurezas.

Tipificação Milho	Impurezas (%)
Tipo I	1,0
TIPO II	1,5
TIPO III	2,0

Fonte: Adaptado de MAPA (2011)

4.2 Umidade

O percentual de umidade tecnicamente recomendado para fins de comercialização do milho será de até 14,0% (BRASIL, 2011). Como as micotoxinas são produzidas por fungos e bolores, as medidas já conhecidas para evitar seu crescimento são eficientes para evitar a presença dessas nos alimentos, ou seja, é importante manter o teor de umidade abaixo de 12%, umidade relativa abaixo de 60% e evitar

exposição dos grãos ao stress, como geadas, calor e alterações de pH que os deixam mais suscetíveis ao ataque microbiológico (GOUVEIA, 2013). É importante armazenar o produto com o teor de água (umidade) de 13 a 14% ou um pouco abaixo do nível usual de comercialização (12%) (PIMENTEL et al.,2011).

Nas amostras coletadas, os teores de umidade dos grãos de milho variaram de 13,4 a 14,2%, conforme apresentados na tabela 3, sendo que, antes do armazenamento os mesmos passariam ainda pela etapa de secagem, reduzindo esse índice.

Tabela 3. Resultados das análises de Umidade

Amostra	Data Coleta	Umidade %	Município
1	24/02/2016	13,4	Sananduva
2	24/02/2016	13,4	Ibiaçá
3	23/02/2016	13,5	Ibiaçá
4	23/02/2016	14,2	Sananduva
5	24/02/2016	14,1	Ibiaçá
6	24/02/2016	13,9	Santo Expedito do Sul
7	02/03/2016	13,5	Sananduva
8	03/03/2016	13,7	Sananduva
9	14/03/2016	13,5	Sananduva
10	16/03/2016	13,8	Muitos Capões

4.3 Presença de micotoxinas nas amostras coletadas.

Os valores das micotoxinas estão apresentados na tabela 4 abaixo e mostram os índices avaliados em dez amostras de milho no período de fevereiro a março de 2016. Foram avaliadas as aflatoxinas, fumonisinas, zearalenona e a desoxinivalenol (Don).

Observa-se a presença de aflatoxinas em uma e de fumonisinas em três das amostras, não foi detectada presença da micotoxina Desoxinivalenol e a zearalenona esteve presente nas dez amostras analisadas, porém com valores

abaixo dos limites máximos tolerados (LMT) segundo a Resolução - RDC N° - 7, de 18 de Fevereiro de 2011 (BRASIL,2011), que dispõe sobre limites para micotoxinas em alimentos (milho em grão), citados na tabela 5.

Tabela 4. Resultados das análises de micotoxinas nas amostras de milho.

Am.	Data Coleta	Micotoxinas (µg/kg)				Município
		Aflatoxina	Fumonisina	Zearalenona	Desoxinivalenol	
1	24/02/2016	ND	ND	98,6	ND	Sananduva
2	24/02/2016	ND	ND	99,2	ND	Ibiaçá
3	23/02/2016	12,1	ND	93,0	ND	Ibiaçá
4	23/02/2016	ND	ND	69,7	ND	Sananduva
5	24/02/2016	ND	ND	61,2	ND	Ibiaçá
6	24/02/2016	ND	ND	62,9	ND	Sto Expedito do Sul
7	02/03/2016	ND	700	89,1	ND	Sananduva
8	03/03/2016	ND	ND	86,6	ND	Sananduva
9	14/03/2016	ND	100	102,1	ND	Sananduva
10	16/03/2016	ND	100	87,5	ND	Muitos Capões

Tabela 5. Limites máximos tolerados de Micotoxinas - Milho em Grão.

Parâmetro	Especificação (LMT)*
Aflatoxinas B1 – B2 – G1 – G2	20µg/Kg
Fumonisinias	5000 µg/Kg
Zearalenona	400 µg/Kg
Desoxinivalenol (DON)	3000 µg/Kg

Fonte: Adaptado de DOU (2011).

*Limite Máximo Tolerado

Existem cinco tipos de zearalenona de ocorrência natural, produzidas por *Fusarium spp.* principalmente *Fusarium. graminearum* (anteriormente conhecido como *Fusarium roseum = Gibberella zea*) e *Fusarium tricinctum*. associadas ao milho. Esses organismos invadem a planta no estágio de floração, especialmente

durante períodos chuvosos. Se os níveis de umidade permanecem suficientemente altos após a colheita, o fungo cresce e produz toxina (EMBRAPA, 2007).

Alves e seus colaboradores (2010), avaliaram a ocorrência de zearalenona em milho empalhado armazenado por agricultores familiares de municípios da região Central de Minas Gerais. Os autores detectaram a presença da micotoxina zearalenona em 38 das 40 amostras analisadas. A presença de zearalenona na maioria das amostras é bastante preocupante, pois apesar dos níveis dessa micotoxina estarem abaixo do limite para algumas raças e idade dos animais os níveis detectados já são considerados elevados. Como os produtores familiares utilizam o milho armazenado em seus paióis, principalmente para alimentação desses animais de pequeno porte e para consumo próprio, nota-se necessidade de intervenção nas práticas agrícolas e de armazenamento desse produto a fim de minimizar as perdas provenientes do consumo pelos animais, de milho contaminado, bem como melhorar a segurança alimentar dessas famílias e dos demais consumidores desses grãos.

Sassahara e seus colaboradores (2003), avaliaram a presença das micotoxinas aflatoxina e zearalenona em alimentos fornecidos a bovinos de exploração leiteira na região Norte do Estado do Paraná, Brasil, utilizando como metodologia analítica a cromatografia em camada delgada. Das 272 amostras analisadas para aflatoxinas, 37 (13,6%) foram positivas, sendo 20 (7,3%) acima do limite de 20mg/Kg determinados pela ANVISA. Além disso, das 189 amostras analisadas para zearalenona, 32 (16,9%) amostras foram positivas, e todas estavam acima do limite de 200mg/Kg recomendado pelos veterinários da região norte do Paraná, Brasil. Foi encontrada maior contaminação por aflatoxinas em alimentos concentrados, enquanto que por zearalenona ocorreu em alimentos volumosos.

Bento e seus colaboradores (2012) com o objetivo de identificar e quantificar os fungos detectados e verificar a ocorrência de aflatoxinas em grãos de milho armazenados analisaram 84 amostras, referentes às safras 2009 e 2010, provenientes de diferentes municípios localizados nas regiões Norte, Sul, Leste e Oeste do estado de Mato Grosso. A determinação dos fungos foi realizada por meio da técnica de incubação em papel filtro (*Blotter test*), e a detecção e quantificação das aflatoxinas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os grãos de milho apresentaram contaminação fúngica principalmente por fungos do gênero *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium* em ambas as safras analisadas. Nas 84

amostras analisadas, a ocorrência de aflatoxinas foi evidenciada em 19,04% das amostras da safra 2009, e 23,80% da safra 2010 apresentaram contaminação cujos valores variaram de 1 µg/kg a 108,7 µg/kg. Grãos de milho com boa condição física também podem apresentar contaminação por fungos de potencial toxigênico. Os autores concluíram que grande parte das infecções ocorreram a partir da infecção dos grãos de milho em condições de campo. Os níveis de contaminação das amostras pela aflatoxina B1 foram maiores em relação às aflatoxinas B2, G1 e G2. As amostras da região Leste safra 2010 apresentaram níveis de contaminação acima do limite oficial (20 µg/kg) permitido pelo Ministério da Saúde/Anvisa e o MAPA.

Queiroz e seus colaboradores (2013) avaliaram a ocorrência de fumonisinas e zearalenona em milho, armazenado em 10 propriedades familiares localizadas na região Central do Estado de Minas Gerais. As amostras foram coletadas em quatro períodos, com intervalos de dois meses, totalizando 40 amostras. Foi detectada presença de fumonisinas em todas as 40 amostras, com valores variando de 230 a 6.450 µg kg⁻¹. Entre essas, 17 amostras (42,5%) apresentaram contaminação acima de 2.500 µg kg⁻¹, limite estabelecido para produtos à base de milho, o que implica riscos para a saúde dos consumidores haja vista o elevado grau de toxicidade dessas micotoxinas. Assim, o monitoramento dos níveis de micotoxinas e a conscientização da necessidade de adoção de boas práticas agrícolas e de armazenamento são de grande relevância e poderão contribuir na mitigação do risco de contaminação com essas toxinas e com a melhoria da qualidade de vida dessas famílias.

Scaff e seus colaboradores (2003) avaliaram a ocorrência de fumonisinas em produtos derivados de milho destinados a consumo humano comercializados no Estado de Santa Catarina. Das 82 amostras analisadas (farinha de milho, canjica, flocos de milho e pipoca), 92,8% apresentaram níveis detectáveis de fumonisinas, sendo a farinha de milho o produto com maior contaminação. Foram analisadas farinha de milho artesanais e industrializadas. Neste caso, é provável que o índice de metabólitos no milho utilizado para fazer esse subproduto se encontrasse em níveis mais elevados, o que levou à detecção de contaminação.

No presente trabalho não foram detectados nas amostras a presença da micotoxina Don. A espécie *Fusarium graminearum* produz as toxinas tricotecenos (desoxinivalenol - Don, nivalenol e toxina T-2) e zearalenona (ZEA), que devido a sua ampla e frequente ocorrência, são as mais importantes. Don é provavelmente a

micotoxina mais extensamente distribuída nos alimentos e rações (MILLER, 1995). No Brasil, a micotoxina Don, é a toxina de *Fusarium* mais corrente. Contamina diversos cereais, especialmente trigo, cevada e milho. Os trabalhos tem relatado que a temperatura ótima para o desenvolvimento do fungo *Fusarium* responsável pela produção da micotoxina Don é de 20 – 25°C e a atividade de água mínima para o crescimento é de 0,90. Entretanto, a toxina ZEA é produzida em temperaturas de 12°C e, para a produção da toxina T-2, a temperatura ideal é de 8°C, indicando que o *Fusarium* produz toxinas quando está sob efeito de choque térmico (EMBRAPA, 2009). Uma hipótese para a não detecção da micotoxina Don no presente trabalho pode ser a temperatura ótima para o desenvolvimento do fungo, que o torna suscetível à produção da Don, temperatura a qual pode não ter influenciado a gerar o metabólito nesse caso, uma vez que houve a presença de outras micotoxinas do fungo do gênero *Fusarium*, porém a Don não se manifestou.

5 – CONCLUSÕES

Foram observadas, em todas as amostras coletadas, a presença da micotoxina Zearalenona, mas em valores bem abaixo do limite máximo de tolerância para milho em grão. Também se detectou resultados de micotoxina em três amostras para Fumonisina e uma para Aflatoxina. Já para a DON, não se detectou amostras com presença dessa micotoxina. Quanto às análises de umidade e impurezas, os resultados foram satisfatórios, pois se mantiveram em um padrão considerável.

Pode-se dizer que o milho recebido dos produtores agrícolas familiares, para o posterior processamento, está dentro dos padrões de qualidade e manteve um equilíbrio nos resultados avaliados. É de extrema importância que se mantenham estes padrões, adotando boas práticas de manejo, cultivo e colheita para minimizar impactos na cultura, a fim de proporcionar a armazenagem de um produto de qualidade, reduzindo as perdas por pragas e a contaminação por micotoxinas, garantindo assim, qualidade e segurança alimentar para os consumidores dos seus subprodutos.

ABSTRACT:
**DETECTION OF MYCOTOXINS IN CORN FLOUR
PRODUCTION AND ANIMAL FEED**

The corn (*Zea mays* L.) it is the most produced cereal in Brazil and the country is the third largest producer after the United States and China. Despite the large amount of corn produced in Brazil and in the world are used in the production chain for pigs and poultry much of this production is lost. Losses in production are associated with many factors and among these are mycotoxin contamination. The presence of fungi and mycotoxins in corn grain has also contributed to the increase of food poisoning in humans and animals thus affecting the food security of those who consume corn in several ways. Thus were objectives of this study to evaluate the presence of Aflatoxin mycotoxins, Fumonisin, Zearalenone and Deoxynivalenol in corn samples intended for feed and flour of different producers of Sananduva RS region. Also assess the moisture content and degree of grain impurities. The methodology was to analyze ten samples of corn intended for feed and flour. To carry out the analysis of mycotoxins present in corn, we used kits RevealQ + ®, each for evaluation of certain mycotoxins. We evaluated the moisture content of the samples, using the moisture meter Motomco 999 FB. The level of impurities was determined by sieve. The results showed the presence of zearalanona in all samples. Despite the presence of mycotoxins in all the ten samples we assessed it was concluded that the maize received from family farmers, for further processing, is within the standards of quality and food safety for consumers of their products.

Keywords: Corn. Fungi. Mycotoxins

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEARDALL, J. M.; MILLER, J. D. **Disease in humans with mycotoxins as possible causes.** In: MILLER, J. D.; TRENHOLM, H. L. (Ed.). *Mycotoxins in grains: compounds other than aflatoxin.* St. Paul: Eagen Press. 1994. p. 487-539.

BENTO, L.F. ; CANEPPELE, M. A. B. ; ALBUQUERQUE, M. C. F. ; et al. Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. **Rev. Inst. Adolfo Lutz** (Impr.) vol.71 no.1 São Paulo 2012. Disponível em: http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552012000100006&lng=pt Acesso 22 jun 2016.

BRASIL. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.** Normativa 60/2011 de 23 de Dezembro de 2011. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=1739574738> Acesso 07 jul 2016.

BRASIL. **Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** RDC N° - 7, de 18 de Fevereiro de 2011. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007_18_02_2011_rep.html Acesso 07 jul 2016.

BUCCI, T.; HANSEN, D. K.; LABORDE, J. B. **Leucoencephalomacia and hemorrhage in the brain of rabbits gavaged with mycotoxin fumonisin B1.** *Natural Toxins*, v. 4, p.51-52, 1996.

BURNS, R. P.; DWIVEDI, P. **The natural occurrence of ochratoxin A and its effects in poultry.** A review. Part II. Pathology and immunology. *World Poultry Science*, v. 42, p. 48-62, 1986.

CALDAS, E. D.; SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J. N. Aflatoxinas e ochratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 319-323, 2002.

CREPPY, E. E. **Human ochratoxicosis.** *Journal of Toxicology and Toxin Review*, v. 18, p. 277-293, 1999.

EMBRAPA. **Jornal eletrônico milho e sorgo.** Ano 05 - Edição 30 - Julho de 2011. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/grao/30_edicao/grao_em_grao_materia_02.htm Acesso 06 mai 2016.

EMBRAPA. **Principais contaminantes de trigo na fase de pós-colheita.** Documentos online n° 105; Passo Fundo, Novembro de 2009. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do105_4.htm Acesso 03 nov. 2015.

FANDOHAN, P.; HELL, K.; MARASAS, W. F. O.; et al. **Infection of maize by Fusarium species and contamination with fumonisin in Africa**. African Journal of Biotechnology, v. 2, n. 12, p. 570-579, 2003.

FINK-GREMMELS, J. **Mycotoxins: their implications for human and animal health**. Veterinary Quarterly, v. 21, p. 115-120, 1999.

FREIRE, F. C. O. das. Micotoxinas: importância na alimentação e na saúde humana e animal/ [et al.] – Fortaleza :**Embrapa Agroindústria Tropical**, 2007. 48 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 110). Disponível em: http://www.cnpat.embrapa.br/cd/jss/acervo/Dc_110.pdf Acesso 03 nov.2015

CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; et al. (Ed.). **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. cap.1, p. 21-46.

GELDERBLOM, W. C. A.; SMUTS, C. M.; ABEL, S.; et al. **Effect of fumonisin B1 on protein and lipid synthesis in primary rat hepatocytes**. Food Chemistry Toxicology, v. 34, p. 361-369, 1996.

GELDERBLOM, W. C. A.; JASKIEWICKZ, K.; MARASAS, W. F. O.; et al. **Toxicity and carcinogenicity of the Fusarium moniliforme metabolite, fumonisin B1 in rats**. Carcinogenesis, v.12, p. 1247-1251, 1991.

GELDERBLOM, W. C. A.; JASKIEWICZ, K.; MARASAS, W. F. O.; et al. **Fumonisin B1, a novel mycotoxin with cancer-promoting activity produced by Fusarium moniliforme**. Applied Environmental Microbiology, v. 54, p. 1.806-1.811, 1988.

GERMANO, Pedro Manuel Leal. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos/** Pedro Manuel Germano, Maria Izabel Simões Germano.—5. Ed. Ver. e atual.—Barueri, SP: Manole, 2015.

GILBERTO L. DE O. ALVES , VALÉRIA A. V. QUEIROZ ; et al. **Ocorrência de zearalenona em milho armazenado por agricultores familiares da região Central de Minas Gerais** XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/25200/1/0480.pdf> Acesso 22 jun 2016.

GOLÇALVES, M. E. B. et al. **Relação entre Impurezas e a ocorrência de Micotoxinas em Milho pós-colheita**. Embrapa – Agroindústria de Alimentos. Rio de Janeiro, 2000. Disponível em : https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/micotxinasmilho0001_000fqb0zl8_002wx5eo0bp3uwfyd5hdh0.pdf Acesso 08 jul 2016.

GOUVEIA, N. Desoxinivalenol, micotoxina mais conhecida como DON. **Blog Food Safety Brazil, 2013**. Disponível em: <http://foodsafetybrazil.org/desoxinivalenol-micotoxina-mais-conhecida-como-don/> Acesso 23 jun 2016.

HARRISON, L. R.; COLVIN, B. M.; GREENE, J. T.; et al. **Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of Fusarium moniliforme.** *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 2, p. 217-221, 1990.

HAMILTON, P. B.; HUFF, W. E.; HARRIS, J. R.; et al. **Natural occurrences of ochratoxicosis in poultry.** *Poultry Science*, v. 61, p. 1.832-1.836, 1982.

KROGH, P. Ochratoxin in foods. In: KROGH, P. (Ed.). *Mycotoxins in foods*. London: Academic Press. 1987. p. 97-110.

KUIPER-GOODMAN, T.; SCOTT, P. M. **Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A.** *Biomedic Environmental Science*, v. 2, p. 179-248, 1989.

LÁZZARI, Flavio Antonio, 1950 -. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações.** – Curitiba: Ed. Do Autor, 1993. 140 p.

LUZ. MARIA G. S. **Determinação de Umidade em Grãos.** Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Engenharia Agrícola. Abril, 2006. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/painelsetorial/palestras/PalestraMedicao.pdf> Acesso: 07 jul 2016.

MAPA. **Boas Práticas e Sistema APPCC na Fase de Pós Colheita de Milho;** Circular Técnica 122. Sete Lagoas, MG; Dezembro 2009. Acesso em 29/06/16.
MARÍA, P. De, MAURIS, V. POSE, H. SABBÍA, J. **Manual Práctico – Micotoxinas en Ganado Lechero.** *Biotech Uruguay*, Junio de 2008.

MARASAS, W. F. O.; KELLERMAN, T. S.; GELDERBLOM, W. C. A.; et al.. **Leukoencephalomalacia in horse induced by fumonisin B1 isolated from Fusarium moniliforme.** *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 55, p. 197-203, 1988.

MARQUARDT, R. R.; FROHLICH, A. A. **A review of recent advances in understanding ochratoxicosis.** *Journal of Animal Science*, v. 70, p. 3.968-3.988, 1992.

OLIVEIRA DUARTE, J. de. **Cultivo do Milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2000.(Sistema de Produção 1, Importância econômica).

PIMENTEL. M. A. G. et al. **Recomendações de boas práticas de armazenamento de milho em espiga para agricultura familiar.** Embrapa - Circular Técnica. Sete Lagoas, MG. Novembro, 2011. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/46071/1/circ-161.pdf> Acesso 08 jul 2016.

PIMENTEL. M. A. G. et al. **Cultivo do Milho.** Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de Produção 1. Versão Eletrônica, Setembro, 2011. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_7_ed/colsecagem.htm Acesso 08 jul 2016.

PLÉSTINA, R. **Nephrotoxicity of ochratoxin A. Food Additives and Contaminants**, v. 13, p. 49-50, 1996.

POZZI, C. R.; CORREA, B.; XAVIER, J. G.; et al. **Effects of prolonged oral administration of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in rats.** Mycopathologia, v. 151, p. 21-27, 2000. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2009/circular/Circ_122.pdf Acesso 20 mai 2016.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; ABRANTES, F. M.; et al. **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, p. 192-196, 2000.

PERAICA, M.; RADIC, B.; LUCIC, A.; PAVLOVIC, M. **Toxic effects of mycotoxins in humans.** Bulletin of the World Health Organization, v. 77, p. 754-766, 1999.

PEREIRA FILHO, I. A.; CRUZ, J. C. **Cultivo do Milho. Plantio, Espaçamento, Densidade, Quantidade de Sementes.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Ed.). Sete Lagoas, MG. Dez. 2002. Comunicado Técnico.

PINTO, N. F. J. de. **A Podridão branca da espiga de milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 6 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 141).

QUEIROZ, V. A. V.; SANTOS, J. P.; TIBOLA, C. S.; et al. **Boas práticas e sistema APPCC na fase de pós-colheita de milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 28 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 122). Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2009/circular/Circ_122.pdf Acesso 09 nov 2015.

QUEIROZ, V. A. V.; ALVES, G. L.O. ; CONCEIÇÃO, R. R. P. ; et al. **Ocorrência de Fumonisinas em Milho Armazenado em Propriedades Familiares da Região Central de Minas Gerais. Circular Técnica; Sete Lagoas, MG Dezembro, 2013..** Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/95159/1/circ-198.pdf> Acesso em 22 jun 2016.

SANTURIO, J.M. **Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura.** Revista Brasileira de Ciência Avícola, v.2, p.1-12, 2000.

SASSAHARA, M. ; YANAKA, E. K. ; NETTO, D. P. **Ocorrência de aflatoxina e zearalenona em alimentos destinados aogado leiteiro na Região Norte do Estado do Paraná.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 24, n. 1, p. 63-72, jan./jun. 2003. Disponível em : http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/pesquisa/semina/pdf/semina_24_1_19_19.pdf Acesso 22 jun 2016.

SCAFF, R. M. C. **Fumonisinas em derivados de milho comercializados em Santa Catarina e sua relação com a saúde humana e alterações histopatológicas em fígado de cattish βquot; in vivo βquot, com fumonisina B1.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa

de Pós- Graduação em Ciências dos Alimentos, 2003.. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/84830> Acesso 22 jun 2016.

SCUSSEL, V. M. (Ed.). **Armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Biogeneziz, 2002. p. 177-190.

SCHLATTER, C. H.; STUDER-ROHR, J.; RÁSONYI, T. H. **Carcinogenicity and kinetic aspects of ochratoxin A. Food Additives and Contaminants**, v. 13, p. 43-44, 1996.

SYDENHAM, E. W.; SHEPHARD, G. S.; THIEL, P. G.; et al. - 48 **Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal TROM, S. Fumonisin contamination of commercial corn-based human food stuffs. Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 39, p. 2.014-2.018, 1991

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.