

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

FUMONISINA EM MILHO (*Zea mays* L.) E SEUS DERIVADOS

THAIANE UEMOTO RABELO

Belo Horizonte

2015

THAIANE UEMOTO RABELO

FUMONISINA EM MILHO (*Zea mays* L.) E SEUS DERIVADOS

Monografia apresentada no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do Título de Especialista em Microbiologia Aplicada.

Orientadora: Dra. Jovita E. Gazzinelli Cruz Madeira

Belo Horizonte

2015

RESUMO

Micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por espécies de fungos que crescem em alimentos. Algumas dessas substâncias podem causar graves danos à saúde humana e de animais, devido à sua capacidade mutagênica e carcinogênica, e também podem causar grandes prejuízos econômicos. As micotoxinas mais encontradas são as aflatoxinas, a zearalenona, as ocratoxinas, os tricotecenos e as fumonisinas, que podem contaminar produtos como milho, café, trigo, amendoim, soja, sementes de algodão e silagem. O milho, um dos mais importantes cultivos utilizados na alimentação humana e animal, possui alto potencial de contaminação por micotoxinas, especialmente pela fumonisina, produzida por fungos do gênero *Fusarium*, principalmente por *F. verticillioides*. As fumonisinas estão envolvidas em uma variedade de doenças animais e estão associadas à alta incidência de câncer esofágico. O Brasil, assim como outros países, estabeleceu limites máximos tolerados de micotoxinas em alimentos, na Resolução RDC número 7/2011, da ANVISA. Neste trabalho apresenta-se uma revisão bibliográfica sobre a fumonisina em milho e produtos derivados, abrangendo aspectos como efeitos tóxicos, detecção e quantificação, regulamentação e incidência no Brasil e em alguns outros países. Concluiu-se que o monitoramento desses contaminantes é muito importante para a saúde pública e medidas futuras são necessárias para reduzir cada vez mais a exposição da população a essas toxinas.

Palavras chave: micotoxina; fumonisina; milho; *Fusarium*; fungo; contaminação.

ABSTRACT

Mycotoxins are secondary metabolites produced by species of fungi growing on food. Some of these substances can cause serious harm to human health and animal due to its mutagenic and carcinogenic capacity, and can also cause great economic losses. The most commonly found mycotoxins are aflatoxins, zearalenone, ochratoxins, trichothecenes and fumonisins, which can contaminate products such as corn, coffee, wheat, peanuts, soybeans, cottonseed and silage. Corn, one of the main crops used for human and animal consumption, has high potential for mycotoxin contamination, especially by fumonisin, produced by fungi of the genus *Fusarium*, mostly *F. verticillioides*. Fumonisins are involved in a variety of animal's diseases and are associated with high incidence of esophageal cancer. Brazil, like many other countries, has established maximum tolerated levels of mycotoxins in food, by Resolution RDC number 7/2011, ANVISA. This paper presents a literature review of fumonisin in corn and derived products, covering aspects such as toxicity, detection and quantification, regulation and incidence in Brazil and some other countries. It was concluded that the monitoring of these contaminants is very important for public health and future measures are needed to reduce more and more public exposure to these toxins.

Keywords: mycotoxin; fumonisin; maize; corn; *Fusarium*; fungi; contamination

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sequência morfológica da possível evolução da espiga de Teosinte para o milho moderno a partir da domesticação do homem.....	15
Figura 2: Anatomia do grão de milho e suas partes.....	16
Figura 3: Microscopia de <i>Fusarium</i> sp. evidenciando esporos assexuais em forma de canoa e septados.....	32
Figura 4: Estrutura química das fumonisinas FB1, FB2 e FB3.....	34
Figura 5: Áreas de malácia no hemisfério cerebral esquerdo de um equino devido à ação da fumonisina.....	35
Figura 6: Edema pulmonar no pulmão direito de um suíno, devido à ação de FB1.....	35
Figura 7: Etapas de purificação em colunas de imunoafinidade.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estudo sobre a incidência de fumonisina em milho e produtos derivados no Brasil e outros países, de 2000 a 2015.....	45
---	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Os diversos usos do milho (planta, espiga e grão) no Brasil.....	18
Quadro 2: Principais micotoxinas com seus respectivos fungos produtores, substratos e efeitos no homem e nos animais.....	27
Quadro 3: Níveis máximos de fumonisinas em milho e derivados na legislação da União Européia.....	40
Quadro 4: Níveis de orientação do <i>Food and Drug Administration</i> para fumonisina em milho e produtos derivados.....	41
Quadro 5: Níveis máximos de fumonisina em milho e derivados na legislação do Brasil.....	42
Quadro 6: Proposta do CODEX ALIMENTARIUS para níveis de fumonisinas em milho e derivados.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFB1: Aflatoxina B1

C18: Sílica octadecil

CCD: Cromatografia em camada delgada

CG: Cromatografia gasosa

CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência

ELISA: *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

EPS: Edema pulmonar suíno

DAS: Diacetoxiscirpenol

DON: Deoxinivalenol

FAO: *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

FB1: Fumonisina B1

FB2: Fumonisina B2

FB3: Fumonisina B3

FDA: *Food and Drug Administration*

ha: hectares

IAC: Coluna de imunoafinidade

IARC: *International Agency for Research on Cancer*

Kcal: quilocaloria

Kg: quilo

LC/ESI/MS: *Liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry*

LC/FD: *Liquid chromatography- field desorption*

LEME: leucoencefalomalácia

Mg: miligrama

OPA: ortoftaldialdeído + 2-mercaptoetanol

pH: potencial hidrogênico

SPE: *Solid phase extraction*

UV: Ultravioleta

WHO: *World Health Organization*

SUMÁRIO

RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE QUADROS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	vii
1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3 METODOLOGIA	13
4 REVISÃO DE LITERATURA	14
4.1 MILHO	14
4.1.1 <i>O grão de milho: estrutura e composição</i>	15
4.1.2 <i>Consumo</i>	16
4.1.3 <i>Produção de milho</i>	18
4.1.4 <i>Qualidade do milho</i>	20
4.2 MICOTOXINAS	21
4.2.1 <i>Fatores que favorecem a produção de micotoxinas</i>	22
4.2.2 <i>Toxicidade</i>	25
4.2.3 <i>Principais micotoxinas presentes em alimentos</i>	28
4.3 FUMONISINA	31
4.3.1 <i>Gênero Fusarium</i>	31
4.3.2 <i>Estrutura química</i>	34
4.3.3 <i>Efeitos tóxicos da ingestão da fumonisina</i>	34
4.3.4 <i>Métodos de detecção e quantificação</i>	36
4.3.5 <i>Regulamentação de fumonisinas em alimentos no Brasil e no Mundo</i>	39
4.3.6 <i>Incidência de fumonisinas em alimentos</i>	44
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays L.*) é uma das culturas mais antigas do mundo, sendo cultivada há pelo menos cinco mil anos. Atualmente a cultura de milho está presente em diversas regiões do planeta, tendo a capacidade de se desenvolver nas mais variadas condições de clima e manejo. É considerado o terceiro cereal mais produzido no mundo, depois da soja e do trigo. Sua grande importância econômica decorre do fato de ser mundialmente utilizado, de diversas formas desde a alimentação humana e animal até a produção de etanol e na indústria de alta tecnologia.

Na produção do milho, como de outros grãos e sementes, um dos grandes problemas enfrentados diz respeito à contaminação por fungos produtores de micotoxinas durante os períodos de pré-colheita, colheita, armazenamento ou transporte. As micotoxinas são metabólitos secundários formados durante o final da fase exponencial de crescimento de alguns fungos filamentosos e não possuem importância aparente para o seu crescimento ou metabolismo. Pelo fato de fungos filamentosos serem ubíquos, podem germinar, crescer e produzir toxinas em diversos produtos agrícolas.

A temperatura e a umidade favoráveis durante o armazenamento de grãos, a maior permanência das lavouras no campo e o ataque de insetos têm sido considerados como algumas das principais condições que propiciam a produção de toxinas por fungos.

Dentre as micotoxinas mais conhecidas se destacam as aflatoxinas, encontradas em amendoim, milho, algodão e algumas nozes; as fumonisinas e zealeronas, em milho; as ocratoxinas, em café, soja e amendoim, e os tricotecenos, principalmente em trigo e cevada.

As micotoxinas exercem efeitos tóxicos mesmo em quantidades extremamente pequenas nos alimentos. Por estarem presentes em grande parte dos produtos agroalimentares, são ingeridas involuntariamente quando esses são consumidos. Isso também ocorre com a ingestão de produtos como carne, leite e queijo derivados de animais que tenham consumido ração contaminada.

O desenvolvimento de estudos relacionados às micotoxinas é de grande importância, uma vez que essas são tóxicas para humanos e outros animais,

podendo apresentar atividade carcinogênica, hepatotóxica, nefrotóxica, imunossupressora e mutagênica. Além disso, a presença de micotoxinas em produtos agrícolas é considerada um obstáculo à economia de muitos países, interferindo ou até mesmo impedindo sua exportação.

A presença de micotoxinas em produtos agrícolas produzidos em todo o mundo pode chegar até 50%. Legislações têm sido adotadas em muitos países, determinando limites máximos desses contaminantes em diversos alimentos *in natura* e processados, visando proteger os consumidores.

O Brasil, assim como diversos países em desenvolvimento, enfrenta grandes dificuldades na exportação de produtos agrícolas, pois os limites estabelecidos para micotoxinas costumam ser superiores aos exigidos, por exemplo, na União Europeia, considerável importador desses produtos. Assim, a presença em concentrações elevadas de micotoxinas é o principal fator que leva à rejeição de produtos agrícolas produzidos aqui e em outros países. Além disso, como os produtos exportados são os de melhor qualidade, os que exibem níveis mais altos de micotoxinas são comercializados no mercado interno, representando risco para a saúde da população desses países.

Uma vez que, em larga escala, não seja possível eliminar completamente os fungos contaminantes e suas toxinas nos alimentos, torna-se necessário elaborar e implementar leis e regulamentos efetivos para o monitoramento do nível dessas toxinas, assegurando que o consumo de certos alimentos não represente um risco para a saúde pública.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar a bibliografia recente sobre a incidência e impacto das fumonisinas no milho e em seus derivados.

2.2 Objetivos Específicos

Levantar e relatar estudos sobre impacto das micotoxinas;

Analisar a ocorrência de fumonisina em milho e seus derivados no Brasil e no mundo;

Avaliar a presença de fumonisinas em milho e seus derivados no Brasil correlacionando com a legislação vigente.

3. METODOLOGIA

Esta monografia é descritiva, tendo sido utilizado como metodologia de composição o acesso à literatura corrente nas seguintes bases: Pubmed, Scielo, base de dados CAPES, base de dados oficiais brasileiros, legislações, websites, dentre outras. As principais palavras chave utilizadas foram: micotoxinas, fumonisina, milho, incidência e contaminação.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Milho

O milho é um alimento originário do continente americano, sendo que seus parentes silvestres mais próximos, teosinte e tripsacum, se encontram neste continente (GABRIEL, 2009). A mais antiga espiga de milho, datada de 7.000 a.C., foi encontrada no vale do Tehucan, na região onde hoje se localiza o México (CIB,2010).

É o único cereal nativo do Novo Mundo (CIB, 2010), sendo considerado uma das mais importantes e antigas culturas agrícolas (ALVES & AMARAL, 2011). Era amplamente cultivado na época do contato europeu em ambos os hemisférios e servia como alimento básico de muitas sociedades pré-históricas (PIPERNO & FLANNERY, 2000).

Embora tenha origem nas Américas, o milho hoje é cultivado desde a Rússia até a Argentina, em diferentes altitudes (ALVES & AMARAL, 2011), que vão desde o nível do mar até três mil metros (CIB, 2010). Acredita-se que o milho moderno seja resultado da domesticação de diversos genomas de teosinte (GOLOUBINOFF; PAABO; WILSON, 1993), nome comumente aplicado para vários tipos selvagens distintos, todos nativos do México até a América Central (DOEBLEY, 1990).

O alto nível de domesticação e melhoramento genético realizados com o passar dos anos (Fig. 1) tornou a planta completamente dependente da ação do homem (CIB, 2010; WILKES, 1972). Essa domesticação considerou importantes características como produtividade, resistência a doenças e capacidade de adaptação, dando origem às variedades hoje conhecidas (CIB, 2010).



Figura 1: Sequência morfológica da possível evolução da espiga de Teosinte para o milho moderno a partir da domesticação do homem. Fonte: CIB, 2010.

O milho foi descrito por Linnaeus em 1753 como pertencente à família *Poaceae*, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. (EOL, 2015; TROPICOS, 2015). É uma gramínea monoica, robusta, ereta, com ciclo de vida anual e com $2n=20$ cromossomos (EOL, 2015; TROPICOS, 2015).

4.1.1 O grão de milho: estrutura e composição

O milho é um alimento muito energético, com cerca de 360 kcal a cada 100 gramas. Possui em sua composição vitaminas A e do complexo B, proteínas, gorduras, carboidratos, cálcio, ferro, fósforo, amido e ainda é rico em fibras (CIB, 2010).

A estrutura e composição do grão de milho são detalhadamente descritas por Paes (2006). Segundo a autora, o milho é conhecido botanicamente como uma cariopse, sendo formado por quatro estruturas, de acordo com a composição química e organização no grão. São elas: o endosperma, o gérmen, o pericarpo, ou casca e a ponta (Fig. 2).

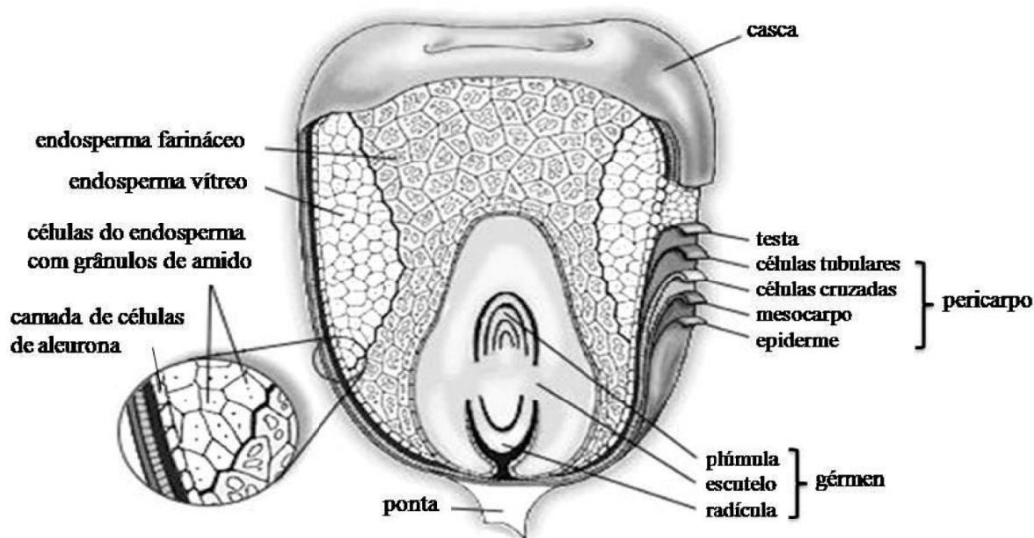


Figura 2: Anatomia do grão de milho e suas partes. Fonte: Adaptado de BRITANNICA,1996, por PAPALIA, 2015.

4.1.2 Consumo

Destinado tanto para o consumo humano quanto para alimentação animal, o milho é também cultivado para a extração de bioetanol e utilizado na indústria química e alimentícia, dele podendo ser obtidos mais de quinhentos derivados. As atividades de criação de aves, suínos e bovinocultura de corte e de leite. representam as principais utilizações do milho no mundo. (ALVES & AMARAL, 2011; GARCIA et al., 2006).

No ramo de consumo animal, existem três grandes derivações no processo produtivo do milho: a produção de silagem, a industrialização do grão de milho em ração e o emprego do grão em mistura com concentrados proteicos para a alimentação de suínos e aves (GARCIA et al., 2006).

Constituindo o principal componente da dieta animal, com mais de 60% do volume total utilizado, o milho assegura a parte energética das rações. Combinado com outros ingredientes permite ajustar a formulação de rações específicas para diferentes dietas animais de acordo com sua destinação, como por exemplo, de suínos, leitões, aves poedeiras ou de corte e gado leiteiro ou de corte (CIB, 2010).

Dadas as suas qualidades nutricionais, o milho apresenta grande versatilidade para o aproveitamento na alimentação humana (CIB, 2010). Pode ser consumido em vários estágios de amadurecimento, desde imaturo até grão maduro (OGTR, 2008), ingerido *in natura* ou como componente de balas, biscoitos, pães, chocolates, geleias, sorvetes, maionese e cerveja (CIB, 2010). Os diversos usos do milho no Brasil são apresentados no Quadro 1.

Quadro 1: Os diversos usos do milho (planta, espiga e grão) no Brasil.

Destinação	Forma/Produto Final
Uso Animal Direto	Silagem; Rolão; Grãos (inteiro/desintegrado) para aves, suínos e bovinos.
Uso Humano Direto de Preparo Caseiro	Espiga assada ou cozida; Pamonha; Curau; Pipoca; Pães; Bolos; Broas; Cuscuz; Polenta; Angus; Sopas; Farofa.
Indústria de Rações	Rações para aves (corte e postura); outras aves; Suínos; Bovinos (corte e leite); Outros mamíferos.
Indústria de alimentos Produtos Finais	Amidos; Fubás; Farinhas comuns; Farinha pré-cozidas; Flocadas; Canjicas; Óleo; Creme; Pipocas; Glicose; Dextrose.
Intermediários	Canjicas; Sêmola; Semolina; Moído; Granulado; Farelo de germe.
Xarope de Glucose	Balas duras; Balas mastigáveis; Goma de mascar; Doces em pasta; salsichas; salames; Mortadelas; Hambúrgueres; Outras carnes processadas; Frutas cristalizadas; Compotas; Biscoitos; Xaropes; Sorvetes; Para polimento de arroz.
Xarope de Glucose com alto teor de maltose	Cervejas
Corantes Caramelo	Refrigerantes; Cervejas; Bebidas alcoólicas; Molhos.
Maltodextrinas	Aromas e essências; Sopas desidratadas; Pós para sorvetes; Complexos vitamínicos; Produtos achocolatados.
Amidos Alimentícios	Biscoitos; Melhoradores de farinhas; Pães; Pós para pudins; Fermento em pó; Macarrão; Produtos farmacêuticos; Balas de goma.
Amidos Industriais	Para papel; Papelão ondulado; Adesivos; Fitas Gomadas; Briquetes de carvão; Engomagens de tecidos; Beneficiamento de minérios.
Dextrinas	Adesivos; Tubos e tubetes; Barricas de fibra; lixas; Abrasivos; Sacos de papel; multifolhados; Estampagem de tecidos; Cartonagem; Beneficiamento de minérios.
Pré-Gelatinizados	Fundição de peças de metal.
Adesivos	Rotulagem de garrafas e de latas; Sacos; Tubos e tubetes; Fechamento de caixas de papelão; Colagem de papel; madeira e tecidos.
Ingredientes Protéicos	Rações para bovinos; suínos; aves e cães.

Fonte: Jornal Agroceres (1994).

4.1.3 Produção de milho

O milho é produzido em quase todos os continentes, sendo sua importância econômica caracterizada pelas diversas formas de sua utilização (PAES, 2006). Os

maiores produtores mundiais são os Estados Unidos, China e Brasil, que produziram na safra 2013/2014, respectivamente, 351,27; 218,49; e 80,0 milhões de toneladas (USDA, 2015).

O milho produzido pelos países destina-se principalmente ao consumo interno, devido ao alto custo de transporte. Basicamente os países que abastecem o mercado mundial são os Estados Unidos, devido à excelente estrutura de transporte, a Argentina pela proximidade dos portos e a África do Sul, pela proximidade dos compradores. O Brasil participa eventualmente deste mercado. Entretanto alguns fatores como instabilidade cambial e deficiência da estrutura de transporte até os portos têm prejudicado o país na busca de uma presença mais constante no mercado internacional de milho. (GARCIA et al., 2006)

Nos últimos anos a demanda mundial por milho vem aumentando, estimulada pela utilização desse cereal para a produção de etanol nos Estados Unidos e pelo consumo decorrente do crescimento econômico dos países asiáticos (PAVÃO & FERREIRA FILHO, 2011).

No Brasil, o milho é cultivado em praticamente todo o território, concentrando-se 90% da produção nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (GARCIA et al., 2006). Seu cultivo tem grande importância devido à produção em pequenas propriedades, com a finalidade de subsistência e em grandes extensões de terras, para o abastecimento do mercado (PAVÃO & FERREIRA FILHO, 2011).

Sua produção tem crescido nos últimos anos, sendo que na safra agrícola de 2013/2014, a área cultivada atingiu 15.829 milhões de hectares, com produção de 80.052 milhões de toneladas de grãos, e rendimento de 5.057 kg/ha (CONAB, 2015). Mesmo com o aumento das exportações de milho pelo Brasil, sua grande importância ainda é o consumo interno, principalmente destinado à produção animal, sendo a avicultura e a suinocultura os segmentos que mais consomem (PAVÃO & FERREIRA FILHO, 2011; ALVES & AMARAL, 2011).

Devido ao grande potencial da produção de milho, à sua importância como insumo para diversos setores e ao aumento em sua demanda, é fundamental que a produtividade por área plantada seja incrementada, tanto com estratégias de redução de custo quanto com a incorporação de novas tecnologias (PAVÃO & FERREIRA FILHO, 2011). Deste modo, é necessário o desenvolvimento de grãos mais produtivos e adaptados aos diversos sistemas de cultivo, bem como diferentes condições de solo e clima (LOGUERCIO; CARNEIRO; CARNEIRO, 2002).

Uma das alternativas para essa intensificação na produção de milho é a utilização de culturas geneticamente modificadas (PAVÃO & FERREIRA FILHO, 2011). Entre elas, a mais comuns no mundo hoje é a do milho Bt (WU, 2006). Esse cultivar contém um gene da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis*, que codifica para a formação de uma proteína de cristal (*Cry*), tóxica para a lagarta do cartucho (Ordem: Lepidoptera, espécie: *Spodoptera frugiperda*), considerada uma importante praga do milho (LOGUERCIO; CARNEIRO; CARNEIRO, 2002). A utilização do milho Bt contribui para o crescimento das exportações, pois reduz o preço do cereal e dos produtos que o utilizam ao longo do processo produtivo (PAVÃO & FERREIRA FILHO, 2011).

Um benefício indireto importante na qualidade dos grãos de milho Bt se dá pela diminuição da ocorrência de fungos produtores de fumonisinas devida à drástica redução de danos causados por insetos em espigas, acarretando maior segurança no consumo do produto (LOGUERCIO; CARNEIRO; CARNEIRO, 2002).

No Brasil, a utilização de cultivares de milho transgênico (Milho Bt) foi consolidada na safra de 2009/2010, com cerca de 35% e 42% de sementes adquiridas na safra de verão e na safrinha, respectivamente (VIANA, 2010). Atualmente, são utilizados no Brasil cultivares híbridas, convencionais melhoradas e transgênicas (ALVES & AMARAL, 2011).

4.1.4 Qualidade do milho

Os padrões de qualidade do milho para transações comerciais baseiam-se na pureza do grão, cor, quantidade de grãos quebrados, índice de rachados, material estranho, grãos danificados, umidade, presença de fungos e insetos, entre outros (ASCHERI & GERMANI, 2004). A qualidade física e química dos grãos é determinada pelo seu destino ou uso final (PAES, 2006).

Embora avanços da tecnologia agrícola tenham permitido um aumento da produção de alimentos em todo o mundo, alguns fatores climáticos e biológicos têm limitado a capacidade agrícola, afetando os produtos durante plantio, colheita e armazenamento (ALMEIDA et al., 2005).

O armazenamento e manipulação inadequados de cereais acarretam perda de qualidade dos grãos, devido ao aumento da suscetibilidade ao ataque de fungos, insetos, ácaros e perda de nutrientes (ALMEIDA et al., 2005). Além disso, as características de armazenamento podem criar condições para um crescimento ótimo de fungos toxigênicos (ALMEIDA et al., 2000). Os fungos representam a segunda maior causa de deterioração e perda de sementes e grãos armazenados, sendo os insetos a primeira (OMINSKI et al., 1994). A contaminação por fungos resulta em grandes perdas econômicas (ALMEIDA et al., 2005).

4.2 Micotoxinas

O termo micotoxina é derivado da palavra grega *Mykes* que significa fungo e *Toxicum* que quer dizer veneno ou toxina (BULLERMAN, 1979). É usado para designar um grupo de compostos que possuem baixo peso molecular e são produzidos como metabólitos secundários por algumas espécies de fungos (BENNETT & KLICH, 2003; PUSCHNER, 2002; BENNETT, 1987).

Os metabólitos secundários são formados durante o final da fase exponencial de crescimento e não possuem significância aparente para o crescimento ou metabolismo do organismo produtor, ao contrário dos metabólitos primários. Geralmente, os metabólitos secundários parecem ser formados quando grandes quantidades de precursores de metabólitos primários, tais como aminoácidos, acetato, piruvato e outros, são acumulados. A síntese de micotoxinas representa uma maneira de os fungos diminuírem a quantidade desses precursores não requeridos para seu metabolismo (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009; BHATNAGAR, YU; EHRLICH, 2003).

A história das micotoxinas começou em 1960, quando mais de cem mil perus morreram em uma fazenda na Inglaterra por uma doença aparentemente nova, que foi denominada "*Turkey X disease*". Analisando a ração consumida pelos perus, produzida com amendoim importado da África e do Brasil, observou-se que havia grande quantidade de uma substância fluorescente produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*, a qual foi então denominada aflatoxina. A ocorrência deste incidente levou à suspeita de que outros metabólitos de fungos poderiam ser mortais. Estudos mais

intensivos permitiram a identificação de uma variedade desses compostos, associados com efeitos adversos na saúde de seres humanos e animais (SANTOS et al., 2014; FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009; BENNETT & KLINCH, 2003). Observou-se, assim, que a exposição aos metabólitos de fungos, por ingestão, respiração, contato, entre outras, levam a doenças então denominadas de micotoxicoses (PEREIRA; FERNANDES; CUNHA, 2012; BENNETT & KLICH, 2003; BENNETT, 1987).

4.2.1 Fatores que favorecem a produção de micotoxinas

As micotoxinas são encontradas em grãos armazenados e rações para a alimentação animal, como milho, café, trigo, semente de algodão, amendoim e soja silagem (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009). Estima-se que cerca de 30% de todos os produtos agrícolas do mundo estejam contaminados com micotoxinas. (SANTIN, 2015). Sua ocorrência depende de fatores geográficos, sazonais e de cultivo, bem como genética, estado nutricional e ambiental da colheita (BHATNAGAR; YU; EHRLICH, 2003). Os grãos provenientes de regiões tropicais e subtropicais apresentam maior índice de contaminação, devido ao clima, que favorece o desenvolvimento de fungos toxigênicos (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010).

Deve-se considerar, entretanto, que o crescimento de fungos não implica necessariamente na produção de micotoxinas, pois há fungos que não são produtores desse composto (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010; PUSCHNER, 2002). A produção de micotoxinas depende de fatores relacionados à própria fisiologia e bioquímica dos fungos toxigênicos e a fatores extrínsecos, como umidade, composição química do substrato, temperatura, pH e interação microbiana (PEREIRA; FERNANDES; CUNHA, 2012; IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010).

Muitas micotoxinas possuem alta estabilidade química, sendo termoestáveis, ou seja, não são destruídas mesmo a temperaturas elevadas. Isso faz com que, uma vez presentes nos alimentos ou matéria prima, dificilmente serão eliminadas nos processos subsequentes de preparo do produto final, mesmo após a remoção

dos fungos produtores (PEREIRA; FERNANDES; CUNHA, 2012; BITTENCOURT et al., 2005).

Fungos

Os fungos são microrganismos eucariotos, que podem ser classificados em filamentosos (multicelulares) e leveduriformes (unicelulares), cuja reprodução se dá de forma assexuada ou sexuada. Os fungos filamentosos, que podem ser patogênicos ou não, são ubíquos na natureza, especialmente em solos de regiões de clima temperado e tropical (BHATNAGAR; YU; EHRLICH, 2003). Alguns deles produzem micotoxinas que atacam sementes e grãos (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010).

Os fungos filamentosos são assim denominados por serem constituídos por longos filamentos de células conectadas, chamadas de hifas. O conjunto de hifas é denominado micélio, podendo ser dividido em micélio vegetativo, cuja função é de sustentação e absorção de nutrientes, e micélio reprodutivo, formado por esporos ou por propágulos. Os esporos germinam quando encontram condições favoráveis, como disponibilidade de nutrientes, umidade e temperatura, formando hifas que invadem os tecidos dos grãos e de seus produtos (FARONI, 1998).

A invasão dos grãos por fungos podem causar danos na pré-colheita e na colheita, durante o beneficiamento, armazenamento e transporte. Os efeitos da invasão fúngica incluem a diminuição do poder germinativo, emboloramento visível, descoloração, odor desagradável, perda de matéria seca, aquecimento, cozimento, mudanças químicas e nutricionais, perda da qualidade e produção de micotoxinas (CHRISTENSEN & KAUFMANN, 1969).

O milho e produtos derivados são alimentos com alto potencial de contaminação por micotoxinas (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010). Os fungos produtores de micotoxinas, que afetam a qualidade de grãos, sementes, rações e alimentos pertencem a vários gêneros, sendo os mais importantes : *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (ASCHERI & GERMANI, 2004).

Enquanto as espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* são encontradas como contaminantes de produtos durante a secagem e armazenamento, as espécies de *Fusarium* são patógenos da planta, que produzem micotoxinas antes ou imediatamente após a colheita (SWEENEY & DOBSON, 1998).

Substrato

Fungos não são exigentes do ponto de vista nutricional e se nutrem por macro e micronutrientes presentes no substrato em se desenvolvem. A composição desse substrato pode influenciar na produção de micotoxinas. Assim certos alimentos serão mais susceptíveis que outros quanto à produção de micotoxinas por fungos contaminantes (IAMANAKA; OLIVEIRA, TANIWAKI, 2010; GIMENO, 1999).

Elementos presentes no substrato como ferro e zinco além de serem importantes para o desenvolvimento dos fungos, podem ser necessários para a produção de micotoxinas. Já foi relatado que em condições baixas desses minerais a produção de algumas micotoxinas foi baixa ou nula. No caso da aflatoxina, é necessário substrato rico em zinco e certos aminoácidos para que o fungo *Aspergillus flavus* metabolize a toxina (GIMENO, 1999).

Além da composição química fatores como umidade, temperatura e microrganismos presentes no substrato também exercem influencia na produção de micotoxinas.

Atividade de água

A quantidade de água existente no ambiente e no substrato é um dos fatores mais importantes para o desenvolvimento dos fungos e produção de micotoxinas. A água pode ser encontrada livre no ambiente (chamada então de umidade) ou de forma combinada, em tecidos vegetais, por exemplo (GIMENO & MARTINS, 2011).

Uma vez alcançado o equilíbrio hídrico entre o substrato, no caso o alimento e o ambiente, é possível medir a quantidade de água livre disponível ali para o crescimento do fungo, essa medida é denominada atividade de água e pode variar de 0 a 1 (GIMENO & MARTINS, 2011; GIMENO, 1999).

A atividade de água, assim como a temperatura, influencia diretamente nas interações com outros fungos, habilidade em produzir esporos e nas atividades metabólicas, principalmente na produção de micotoxinas. A atividade de água ideal para o crescimento de um fungo nem sempre é a mesma para a produção de toxinas (ALMEIDA et al., 2005; GIMENO, 1999). Em sua maioria, os fungos necessitam de umidade relativa acima de 80% e ao menos 0,60 de atividade de água para crescer. Já a produção de toxinas só ocorre com atividade de água que varia de 0,60 a 0,90, com umidade relativa também superior a 80%, esses valores

variam de acordo com a espécie do fungo (IAMANAKA; OLIVEIRA, TANIWAKI, 2010).

Temperatura

A temperatura tem uma importante influencia para o crescimento dos fungos. A temperatura de crescimento não é necessariamente a mesma para a produção de toxinas, de um modo geral essa temperatura está entre a mínima e a máxima para ele crescer (IAMANAKA; OLIVEIRA, TANIWAKI, 2010). Segundo Gimeno (1999) a temperatura ótima para o crescimento da maioria dos fungos é entre 25 e 30°C, com o limite máximo entre 40 e 45°C, embora haja fungos capazes de crescer a 0° ou mesmo em temperaturas superiores a 55°C. Fungos da espécie *Fusarium verticillioides* crescem em uma temperatura ótima de 25°C e produzem fumonisinas B1 e B2 quando em temperaturas de 24,5°C e 24,3°C respectivamente (DILKIN, 2002).

Interação microbiana

A presença e interação entre os microrganismos no substrato podem influenciar na produção de toxinas por fungos. A presença de outros organismos pode fazer com que os mesmos compitam entre si pelos nutrientes disponíveis, o que acaba influenciando tanto no crescimento dos fungos presentes quanto na sua produção de toxinas (OMINSKY et al., 1994).

4.2.2 Toxicidade

A exposição humana às micotoxinas pode ocorrer de forma direta, pela ingestão de alimentos vegetais contaminados, ou de forma indireta, por meio de alimentos de origem animal, quando os animais consomem ração contaminada (PRADO, 2014; PEREIRA; FERNANDES; CUNHA, 2012).

As micotoxicoses apresentam diferentes sintomas, dependendo do tipo micotoxina, a quantidade e a duração da exposição, a idade, sexo e estado de

saúde do indivíduo. Observam-se também alguns efeitos sinérgicos, envolvendo genéticas, o estado nutricional e a interação com outros compostos tóxicos (BENNETT & KLICH, 2003; BHATNAGAR; YU; EHRLICH, 2003; BENNETT, 1987).

Os efeitos das micotoxinas no organismo podem ser agudos, subagudos ou crônicos. O efeito agudo é manifestado e percebido de forma rápida, causando danos irreversíveis, devido normalmente à ingestão de doses elevadas podendo inclusive levar à morte. O efeito subagudo, caracterizado por distúrbios e alterações nos órgãos, é resultado de uma ingestão de doses menores da micotoxina (PEREIRA; FERNANDES; CUNHA, 2012; BENNETT & KLINCH, 2003; BHATNAGAR; YU; EHRLICH, 2003). Os piores efeitos desses compostos no homem tendem a ser crônicos. Neste caso, ocorrem geralmente pela ingestão moderada de micotoxinas por longos períodos de tempo (PEREIRA; FERNANDES; CUNHA, 2012).

Esses efeitos podem ser agravados por fatores como deficiência de vitamina, privação calórica, abuso de álcool e o estado de doenças infecciosas. Além disso, micotoxicoses podem aumentar a vulnerabilidade a doenças microbianas, agravar os efeitos da desnutrição e interagir sinergicamente com outras toxinas (BENNETT & KLICH, 2003).

Os principais fungos produtores de micotoxinas são os dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. As micotoxinas originárias desses e de outros fungos apresentam diferenças quanto aos alimentos que contaminam e a seus efeitos tóxicos, como mostra o quadro 2 (PEREIRA; FERNANDES; CUNHA, 2012; MAZIERO & BERSOT, 2010).

Quadro 2: Principais micotoxinas com seus respectivos fungos produtores, substratos e efeitos no homem e nos animais.

Principais substratos	Principais fungos produtores	Principal toxina	Efeitos
Amendoim, milho	<i>Aspergillus flavus</i> e <i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxina B1	Hepatotóxica, nefrotóxica, carcinogênica.
Trigo, aveia, cevada, milho e arroz	<i>Penicillium citrinum</i>	Citrinina	Nefrotóxica para suínos
Centeio e grãos em geral.	<i>Claviceps purpúrea</i>	Ergotamina	Gangrena de extremidades ou convulsões
Milho	<i>Fusarium verticillioides</i>	Fumonisinias	Câncer de esôfago
Cevada, café, vinho	<i>Aspergillus ochraceus</i> e <i>Aspergillus carbonarius</i>	Ocratoxina	Hepatotóxica, nefrotóxica, carcinogênica.
Frutas e sucos de frutas	<i>Penicillium expansum</i> e <i>Penicillium griseofulvum</i>	Patulina	Toxicidade vagamente estabelecida
Milho, cevada, aveia, trigo, centeio	<i>Fusarium</i> sp <i>Myrothecium</i> sp <i>Stachybotrys</i> sp <i>Trichothecium</i> sp	Tricotecenos: T2, neosolaniol, fusanona x, nivalenol, deoxivalenol.	Hemorragias, vômitos, dermatites.
Cereais	<i>Fusarium graminearum</i>	Zearalenona	Baixa toxicidade; síndrome de masculinização e feminização em suínos

Fonte: FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009.

A presença desses fungos em produtos alimentícios não significa necessariamente a presença de micotoxinas. Por outro lado, a ausência dos mesmos não implica na ausência das micotoxinas, pois esses compostos

permanecem ativos no substrato após a eliminação do fungo (IAMANAKA; OLIVEIRA, TANIWAKI, 2010).

4.2.3 Principais micotoxinas presentes em alimentos

Existem mais de 200 substâncias já identificadas como micotoxinas, mas em relação à toxicidade e ocorrência em alimentos as mais importantes são as aflatoxinas, a zearalenona, as ocratoxinas, os tricotecenos e as fumonisinas (PEREIRA; FERNANDES; CUNHA, 2012; MAZIERO & BERSOT, 2010). Todas elas podem ser encontradas em grãos de milho (KIRINCIC et al., 2012; STORM; RASMUSSEN; RASMUSSEN, 2014; LI et al., 2014; REYES-VELAZQUEZ et al., 2008; PRADO et al., 1997). Entretanto estudos realizados demonstraram que entre as micotoxinas a de maior abundância nesses grãos é a fumonisina (SOUZA et al., 2013; ROCHA et al., 2009; BROGGI et al., 2007; ALMEIDA et al., 2000; CHU & LI, 1994).

As aflatoxinas são produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, principalmente pelas espécies *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (PRADO et al., 2008; ETZEL, 2002; OLIVEIRA & GERMANO, 1997). Sua presença em alimentos tem sido reportada no mundo todo, principalmente em milho, castanhas, amendoim, frutas secas, temperos, figo, óleos vegetais, cacau, feijão, trigo, arroz e algodão (PRADO et al., 2008; ETZEL, 2002; JECFA, 1998; OLIVEIRA & GERMANO, 1997).

Entre as principais aflatoxinas conhecidas estão B1, B2, G1 e G2, denominadas com base na sua fluorescência sob luz ultravioleta (B=Blue, G=Green) e na sua mobilidade durante a realização de cromatografia de camada delgada (FREIRE, 2007; OLIVEIRA & GERMANO, 1997).

A. flavus produz apenas aflatoxinas B, enquanto as outras duas espécies, *A. parasiticus* e *A. nomius*, produzem tanto aflatoxinas B quanto aflatoxinas G. Das aflatoxinas B1 e B2 resultam os metabólitos hidroxilados M1 e M2, que podem ser encontrados no leite ou produtos lácteos obtidos a partir de animais que tenham ingerido alimentos contaminados (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010; JECFA, 1998).

As aflatoxinas caracterizam-se pela elevada toxicidade que apresentam. Os humanos e vários outros animais são sensíveis aos seus efeitos tóxicos agudos, mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos. As aflatoxinas são absorvidas no trato gastrointestinal e biotransformadas no fígado. Embora o fígado seja o principal órgão atingido, as aflatoxinas também podem causar efeitos em outros locais, como o desenvolvimento de tumores no pâncreas e intestino (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010; FERREIRA et al., 2006; OLIVEIRA & GERMANO, 1997).

De todas as aflatoxinas, a B1 (AFB1) é a que apresenta maior poder toxigênico, sendo considerada como o agente cancerígeno natural mais potente conhecido e também o mais estudado (BENNETT & KLINCH, 2003; OLIVEIRA & GERMANO, 1997). Não existe nenhum outro produto natural para os quais os dados sobre a carcinogenicidade humana sejam tão convincentes (BENNETT & KLINCH, 2003). Segundo a Agência Internacional de Investigação do Cancer (IARC, 2002), a AFB1 é classificada como carcinógeno do grupo 1.

A zearalenona é produzida por fungos do gênero *Fusarium*, principalmente *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. proliferatum* e *F. cerealis* (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010; BENNETT & KLINCH, 2003). Ocorre em praticamente todos os cereais, especialmente em cevada, milho, sorgo, aveia, e rações produzidas com base nestes produtos (DILKIN, 2002).

Essa toxina é um análogo do estrógeno e causa síndrome estrogênica em suínos (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010). Embora sejam poucos os registros sobre surtos com origem de contaminações com zearalenona em seres humanos, a ocorrência de puberdade precoce e ginecomastia são correlacionadas com a presença em altas concentrações dessa micotoxina em alimentos à base de milho (SANTOS, 2014). Assim, por ser um carcinógeno animal importante cuja relevância para seres humanos é desconhecida, a IARC classifica a zearalenona no grupo 3 (IARC, 1993).

Já as ocratoxinas são produzidas pelos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, incluindo *A. ochraceus*, *A. circumdati*, *A. nigri* e *P. verrucosum*. Há três principais tipos de ocratoxinas, comumente conhecidas como A, B e C (SANTOS, 2014; FAO/WHO, 2001).

A ocratoxina A é considerada a mais frequente e mais tóxica, sendo encontrada em aveia, cevada, centeio, trigo, grãos de café, uvas frescas, vinho e em outros produtos para consumo humano e animal (FREIRE, 2007; BENNETT &

KLINCH, 2003, FAO/WHO, 2001). Apresenta efeitos nefrotóxicos, imunossupressores, carcinogênicos e teratogênicos em animais de laboratório e em suínos (MAZIERO & BERSOT, 2010; FREIRE, 2007; BENNETT & KLINCH, 2003).

Em humanos tem sido relacionada a alterações funcionais e morfológicas nos rins, além de poder causar câncer nesse órgão (NOGUEIRA & OLIVEIRA, 2006). Deste modo, a IARC classificou a ocratoxina na categoria 2B, ou seja, como um possível carcinógeno humano (IARC, 1993)

Os tricotecenos são produzidos por fungos de diversos gêneros, incluindo *Fusarium*, *Myrothecium*, *Phomopsis*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, sendo as principais as espécies produtoras *F. graminearum* e *F. tricinctum* (BENNETT & KLINCH, 2003; DILKIN, 2002; PUSCHNER, 2002). Os tricotecenos ocorrem principalmente em culturas de trigo, aveia, arroz, centeio e também em milho (DILKIN, 2002; FAO/WHO, 2001).

Os tricotecenos mais comumente encontrados e estudados são: deoxivalenol ou vomitoxina (DON), toxina T-2 e diacetoxiscirpenol (DAS) (PUSCHNER, 2002; DILKIN, 2002). Possuem atividade citotóxica e imunossupressora, causando desde sintomas gastrointestinais a sintomas neurológicos, podendo diminuir a resistência do hospedeiro à infecção (FAO/WHO, 2001). Seu consumo pode resultar em hemorragia gástrica e visceral, vômito, diarreia e dermatite por contato direto (BENNETT & KLINCH, 2003; ETZEL, 2002; DILKIN, 2002).

No passado, a toxina T-2 foi considerada o agente causador da aleucia tóxica alimentar em humanos (IAMANAKA; OLIVEIRA, TANIWAKI, 2010; PUSCHNER, 2002). A IARC classifica a toxina T-2 como carcinógeno do grupo 3, ou seja, carcinógeno animal confirmado com relevância desconhecida para seres humanos (IARC, 1993).

As fumonisinas são produzidas por fungos do gênero *Fusarium* em milho e outros grãos. Estas estão envolvidas em uma variedade de doenças animais e estão epidemiologicamente ligadas à alta incidência de câncer esofágico em algumas regiões do mundo (ALIZADEH et al., 2012; VAN DER WESTHUIZEN et al., 2003; SHEPHARD et al., 2000; YOSHIKAWA; YAMASHITA; LUO, 1994; CHU & LI, 1994; SYDENHAM et al., 1990; ROSS et al., 1991; ROSS et al., 1990; GELBERBLOM et al., 1988).

Como objeto de estudo do presente trabalho as fumonisinas serão descritas detalhadamente a seguir.

4.3 Fumonisinina

Embora existam relatos da ocorrência de fumonisinas em arroz (MADBOULY et al., 2012; MAKUN et al., 2011; DESJARDINS, PLATTNER; NELSON, 1997), sua presença está principalmente relacionada aos grãos de milho.

As fumonisinas foram primeiramente isoladas em 1988 por Gelberblom e colaboradores em 1988, a partir de culturas de *Fusarium verticillioides*, anteriormente conhecido como *F. moniliforme*. Sua descoberta ocorreu devido a vastos estudos que buscavam a causa da alta incidência de câncer esofágico na população de Transkei, na África do Sul (GELBERBLOM et al., 1988). Ainda no mesmo ano, a estrutura da fumonisina foi elucidada por Bezuidenhout e colaboradores (BEZUIDENHOUT et al., 1988).

Hoje, são descritos mais de 28 diferentes tipos de fumonisinas (RHEEDER; MARASAS; VISMER, 2002; MUSSER & PLATTNER, 1997) divididas em quatro grupos: A, B, C e P (DOMIJAN, 2012; AH-SEO & WON LEE, 1999).

De todas as fumonisinas, a mais abundante é FB1, seguida de FB2 e FB3 (BENNETT & KLINCH, 2003; AH-SEO & WON LEE, 1999). A FB1 é a mais abundante e a mais tóxica, classificada pelo IARC como possível carcinogênica classe 2B (RHEEDER; MARASAS; VISMER, 2002; IARC, 2002; COULOMBE JR, 1993; NORRED et al., 1992).

Embora as fumonisinas possam ser produzidas por diversas espécies do gênero *Fusarium*, como *F. proliferatum*, *F. nygamai* (MUSSER & PLATTNER, 1997), *F. antophilum*, *F. dlamini*, *F. napiforme* (NELSON, 1992) e *F. subglutinans* (ZHANG et al., 2012), a principal espécie produtora de fumonisina é *F. verticillioides*. (BENNETT e KLICH, 2003).

4.3.1 Gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e família *Nectriaceae* (MENEZES, 2009; EOL, 2015). As fases

teleomórficas de *Fusarium* são classificadas nos gêneros *Gibberella*, *Haematonectria* e *Albonectria* (MORETTI, 2009), na qual suas principais espécies, *Fusarium verticillioides* (teleomorfo: *Gibberella moniliformes*), *F. proliferatum* (teleomorfo: *G. intermedia*) e *F. subglutinans* (teleomorfo: *G. subglutinans*) participam de um grupo de aproximadamente vinte espécies que compõem o complexo *Gibberella fujikuroi*, antigamente seção *Liseola* (DESJARDINS, 2003).

As espécies de *Fusarium* são muito diversificadas e amplamente distribuídas ao redor do mundo, sendo encontradas nos solos, nos restos de vegetais e em animais mortos. O gênero também compreende espécies patogênicas, em sua maioria associadas a diferentes vegetais, principalmente culturas de importância econômica, o que causa grandes prejuízos (MUNKVOLD, 2003; JURJEVIC et al., 2005; SMITH, 2007; MORETTI, 2009). Um exemplo é a doença denominada podridão da espiga de milho (COSTA, CASELA, COTA, 2010).

A principal abordagem para a classificação do gênero *Fusarium* ainda se baseia na morfologia, levando em conta especialmente a ocorrência dos esporos assexuais, em forma de canoa e septados, denominados macroconídios (MORETTI, 2009; SMITH, 2007) (Fig. 3) Os macroconídios são produzidos nas monofiálides, polifiálides no micélio aéreo ou em estruturas de frutificação do fungo, chamadas esporodóquios (MORETTI, 2009; MENEZES, 2009).

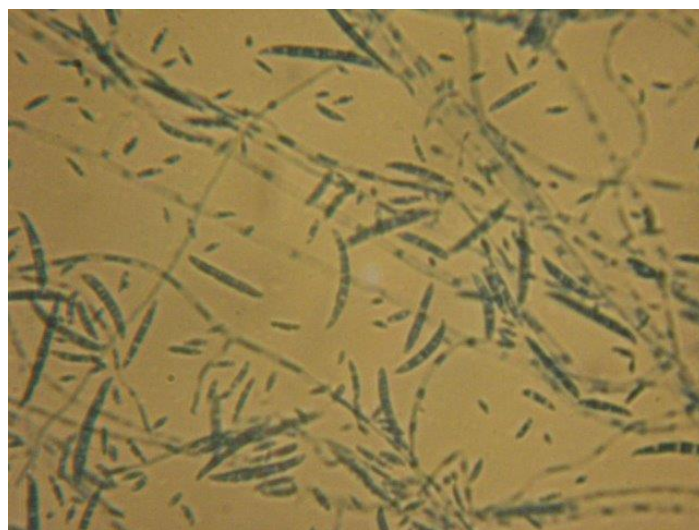


Figura 3: Microscopia de *Fusarium* sp. evidenciando esporos assexuais em forma de canoa e septados. Fonte: COLEÇÃO DE LAMINAS, 2009.

Além dos macroconídios, algumas espécies também possuem microconídios, esporos que podem variar em forma e tamanho e são produzidos no micélio aéreo em tufos ou correntes, tanto em monofiálides quanto em polifiálides (MORETTI, 2009). Dependendo das condições ambientais, pode ocorrer alternância na produção de macroconídios e microconídios (MENEZES, 2009).

Algumas espécies de *Fusarium* que habitam o solo podem se manter sob a forma de hifas ou como estruturas de resistência, os clamidósporos (VENTURA, 1999). Os clamidósporos possuem paredes espessas e alto teor de lipídios; quando presentes podem se formar no meio das hifas ou nas suas extremidades (MORETTI, 2009). Embora o gênero *Fusarium* seja caracterizado pela formação de clamidósporo, nas espécies do gênero *Gibberella fujikuroi* uma das principais características é justamente a ausência dessa estrutura (AGRIOS, 2005).

Os fungos do gênero *Fusarium* podem crescer em uma temperatura que varia entre seis a 40°C, porém sua temperatura ótima de crescimento está entre 18 e 30°C. A faixa de pH para seu desenvolvimento pode variar de dois a oito. Eles necessitam em geral de uma atividade de água superior a 0,88 para crescer e proliferar, e superior a 0,91 para produzir toxinas. São fungos aeróbios, deste modo, qualquer alteração na atmosfera também poderá influenciar na produção de micotoxinas (GIMENO & MARTINS, 2011).

4.3.2 Estrutura química

A FB1, fumonisina mais estudada, tem a fórmula empírica $C_{34}H_{59}NO_{15}$ e consiste em um diéster de propano 1,2,3-ácido tricarbóxico e 2-amino-12, 16 dimetil-3,5,10,14,15-pentahidroxicosano. As fumonisinas B2 e B3 apresentam diferentes padrões de hidroxilação (BEZUIDENHOUT et al., 1988) (Fig. 4).

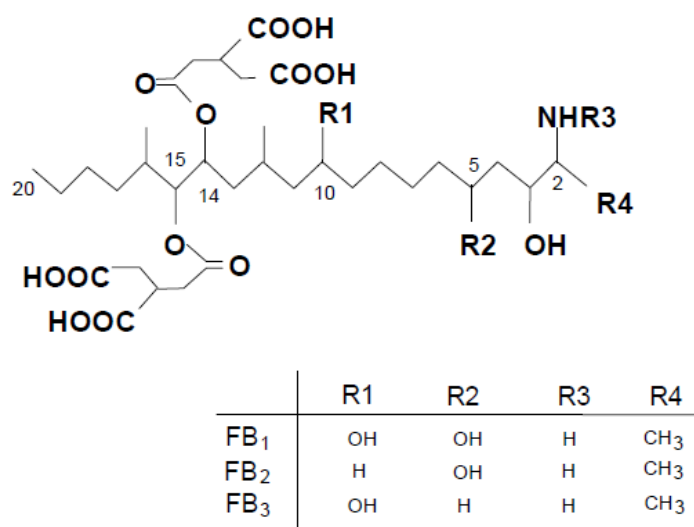


Figura 4: Estrutura química das fumonisinas FB1, FB2 e FB3. Fonte: MINAMI, et al., 2004.

4.3.3 Efeitos tóxicos da ingestão da fumonisina

As fumonisinas são pobremente absorvidas no trato gastrointestinal, sendo retidas no fígado e nos rins, principais órgãos onde seus efeitos são observados (WILLIAMS et al., 2003).

Entre as enfermidades mais relatadas em consequência da ingestão de fumonisinas, principalmente a FB1, estão a leucoencefalomalácia em equinos - LEME (ROSS et al., 1990; ROSS et al., 1991; MEIRELES et al., 1994;) e edema pulmonar - EPS e hidrotórax em suínos (GUMPRECHT et al., 1998; COLVIN & HARRISON, 1992; ROSS et al., 1991; ROSS et al., 1990).

A leucoencefalomalácia (LEME), síndrome que ocorre naturalmente em equinos, afeta o coração, sistema nervoso e fígado. Recebeu o nome de

leucoencefalomalácia porque sua ocorrência mais proeminente encontra-se no cérebro, onde causa amolecimento devido à necrose na matéria branca (Fig. 5). Quando ocorrem surtos da síndrome, a mortalidade geralmente é de 100% (VOSS; SMITH; HASCHEK, 2007). O edema pulmonar causado pela fumosina nos suínos afeta o coração além dos pulmões (HASCHEK et al., 2001; GUMPRECHT et al., 1998) (Fig. 6). A taxa de mortalidade pode estar em torno de 50% (OSWEILER; ROSS; WILSON, 1992).

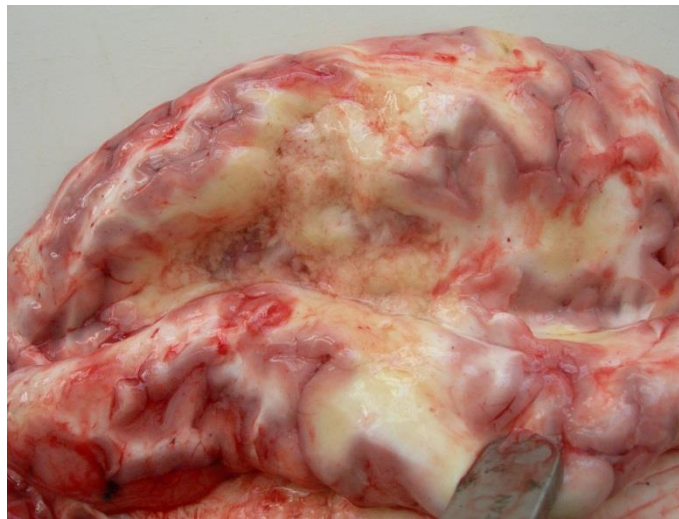


Figura 5: Áreas de malácia no hemisfério cerebral esquerdo de um equino devido à ação da fumonisina. Fonte: DI PAOLO et al., 2014.



Figura 6: Edema pulmonar no pulmão direito de um suíno, devido à ação de FB1. Fonte: COLVIN & HARRISON, 1992.

Experimentalmente, a ingestão de FB1 mostrou causar em ratos, câncer hepático (HOWARD et al., 2001; GELDERBLOM et al., 1988), afetar o desenvolvimento do sistema nervoso entérico (SOUZA et al., 2014) e suprimir a expressão de genes (DOMIJAN et al., 2007). Em frangos, os efeitos da ingestão de FB1 foram atrofia do timo, hiperplasia biliar e necrose hepática (LEDEOUX et al., 1992). Em macacos, a partir de estudo com culturas de células, já foram relatados efeitos aterogênicos (FINCHAM et al., 1992) e ação na indução de apoptose das células (WANG et al., 1996).

Os efeitos das fumonisinas na saúde humana são incertos. Estudos têm relatado um aumento na incidência de câncer de esôfago em diversos países como África do Sul (SYDENHAM et al., 1990), China (YOSHIZAWA; YAMASHITA; LUO, 1994; CHU & LI, 1994); Brasil (VAN DER WESTHUIZEN et al., 2003) e Irã (ALIZADEH et al., 2012; SHEPHARD et al., 2000). Além disso, o elevado número de casos de defeitos do tubo neural tem sido associado a locais onde a incidência de fumonisina é elevada, como na África do Sul e China (MARASAS et al., 2004). Missmer e colaboradores (2006) mostraram que vários casos de defeitos do tubo neural em bebês podem ter relação com a ingestão de fumonisina por mulheres no Texas. A IARC classificou a FB1 como pertencente à Classe 2B, ou seja, como possível agente cancerígeno para seres humanos (IARC, 2002).

4.3.4 Métodos de detecção e quantificação

Ao contrário de outras micotoxinas, que são solúveis em solventes orgânicos, as fumonisinas são hidrossolúveis, o que tem dificultado seu estudo. Devido à característica de hidrossolubilidade ainda é provável que muitas outras micotoxinas permaneçam desconhecidas (JAJIC et al., 2008; BENNETT & KLINCH, 2003).

Para a detecção e quantificação de fumonisinas, assim como para as demais micotoxinas presentes em alimentos, primeiramente são realizadas etapas de extração e purificação. A extração a partir de produtos derivados de milho pode variar significativamente e ser influenciada por fatores como composição e volume da matriz, pH do solvente de extração, entre outros (LINO; SILVA; PENA, 2006). Entre os solventes normalmente utilizados estão a água, o metanol e o acetonitrila,

com variações quanto à mistura dos solventes e proporções utilizadas (LINO; SILVA; PENA, 2006; BENNETT & KLINCH, 2003).

A etapa de purificação permite remover impurezas da matriz e concentrar as fumonisinas. Entre as técnicas utilizadas estão: extração em fase sólida (SPE) em fase reversa, usando sílica octadecil (C18); coluna de imunoafinidade (IAC) (Fig.7), ou troca aniônica (SAX) (TURNER; SUBRAHMAYNAM; PILETSKY, 2009; LINO; SILVA; PENA, 2006).

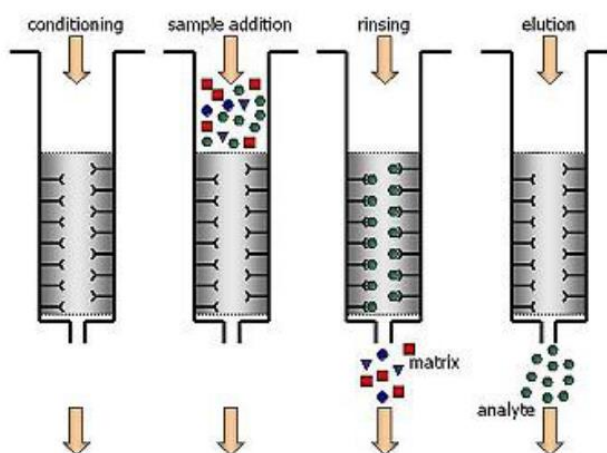


Figura 7: Etapas de purificação em colunas de imunoafinidade (IAC). Fonte: R-BIOPHARM, 2015.

Na detecção e quantificação das fumonisinas em alimentos, os métodos mais comumente utilizados são os cromatográficos. Entre eles estão: cromatografia de camada delgada - CCD, cromatografia gasosa - CG, cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas – CL-EM (TAMURA et al., 2015; RUBERT; SOLER; MAÑES, 2012; IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010; SERRA, 2005; SCHAAFSSMA et al., 1998).

A cromatografia de camada delgada possibilita analisar qualitativamente vários compostos simultaneamente. É amplamente utilizada por ser uma técnica simples, rápida e de baixo custo. Entretanto, apresenta limite de detecção relativamente elevado, pouca precisão e quantificação limitada (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010; SERRA, 2005).

A cromatografia gasosa é uma técnica demorada e exige instrumentos de alto custo. Sendo assim, não é apropriada nem prática para efetuar a análise de grande número de amostras (LINO; SILVA; PENA, 2006).

Na cromatografia líquida de alta eficiência, colunas de fase normal ou fase reversa são usadas para separação e purificação da toxina, dependendo da sua polaridade. Os principais métodos de detecção utilizados são UV e fluorescência (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010; SCHAAFSMA, et al., 1998), que detectam a presença de cromóforos nas moléculas (TURNER; SUBRAHMAYNAM; PILETSKY, 2009).

As fumonisinas, ao contrário de outras micotoxinas, não possuem nenhum cromóforo e portanto não absorvem luz UV, luz visível, bem como não apresentam fluorescência nativa, necessários para sua detecção na análise. Assim é preciso realizar a derivatização dos extratos das amostras. Esta reação ocorre entre o reagente derivatizante, em sua maioria ortoftaldialdeído + 2-mercaptoetanol (OPA) e a amina primária das fumonisinas (LINO; SILVA; PENA, 2006).

Um grande problema na utilização desse método é a baixa estabilidade dos produtos derivatizados com OPA, o que pode ser resolvido pela padronização do tempo da análise (TURNER; SUBRAHMAYNAM; PILETSKY, 2009; LINO; SILVA; PENA, 2006). Como vantagens a CLAE apresenta detecção de limites bem mais baixos que as demais técnicas e uma quantificação mais exata, sendo atualmente muito utilizada nas análises (SERRA, 2005).

A cromatografia líquida acoplada à espectrofotometria de massa é uma técnica recente. Sua ampla utilização se deve à sua praticidade, versatilidade, especificidade, seletividade e exatidão. Ela é capaz de rastrear micotoxinas mesmo com componentes de matriz complicados, pois separa os íons dos compostos dependendo do seu peso molecular e outros componentes. Além disso, dispensa o uso de derivatização, necessária na CLAE e CG, o que torna essa técnica mais rápida e prática (TAMURA et al., 2015; MALLMANN et al., 2011; IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010; RUBERT; SOLER; MAÑES, 2012).

O desenvolvimento da cromatografia líquida-espectrometria de massas sequencial tornou ainda possível uma maior especificidade e sensibilidade, pela possibilidade de isolar e identificar fragmentos formados a partir da quebra de íons precursores. Isso também permite desenvolver métodos que dispensem o preparo de limpeza e concentração da amostra e principalmente analisar simultaneamente

várias micotoxinas. O único impasse, porém, é se obter condições de extração adequadas e compatíveis aos diferentes analitos, que costumam apresentar diferentes propriedades químicas e interagem de forma diferente aos solventes (MALLMANN et al., 2011). Entretanto, devido a todas as vantagens que a CL-EM oferece comparada às outras técnicas citadas, prevê-se que no futuro todos adotem essa técnica para a detecção de fumonisinas e outras micotoxinas.

Quando o número de amostras é grande ou mesmo quando a complexidade de matrizes dos alimentos a serem analisadas é alta, os métodos cromatográficos podem se apresentar lentos e com alto custo (LINO; SILVA; PENA, 2006). A alternativa é a utilização de testes baseados em anticorpos, como o ELISA (do inglês *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) na triagem para verificar a presença ou ausência de uma micotoxina em particular nos produtos (KRSKA et al., 2008; SABINO et al., 1997)

Embora sejam testes de fácil operação, rápidos, que utilizam poucas vidrarias e não necessitem de equipamentos sofisticados, sua maior utilidade é em campos, armazéns e indústrias, que precisam de uma triagem rápida para aceitar ou rejeitar determinado produto ou lote. Por não distinguirem e nem quantificarem resíduos múltiplos, não podem ser utilizados em análises fiscais de micotoxinas. Assim, quando utilizados, são aplicados na triagem para a presença ou ausência sendo posteriormente necessários testes confirmatórios usando técnicas diferentes e mais precisas, como a CLAE e CL-EM (TURNER; SUBRAHMAYNAM; PILETSKY, 2009; SABINO et al., 1997).

4.3.5 Regulamentação de fumonisinas em alimentos no Brasil e no Mundo

Visando a proteção dos consumidores contra os efeitos das micotoxinas, muitos países têm adotado legislações que regulam seus níveis máximos nos produtos. Além de alimentos in natura e processados para consumo humano, as rações para animais de abate e de estimação também são objeto dessas normas (FREIRE et al., 2007).

As legislações mais conhecidas referem-se às aflatoxinas, mas a regulamentação pertinente às outras micotoxinas está sendo implementada, e de um

modo geral têm-se tornado mais rígidas no que se refere aos níveis máximos permitidos nos produtos (PEREIRA; FERNANDES; CUNHA, 2012; FREIRE et al., 2007).

Segundo um estudo feito pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura/Organização Mundial da Saúde (FAO/WHO), até o ano de 2003 cerca de 100 países já possuíam legislações regulando níveis de micotoxinas em alimentos e rações, que em sua totalidade protegiam cerca de 90% da população mundial (FAO/WHO, 2004).

Comparada com outras regiões do mundo, a União Europeia dispõe da mais completa e detalhada regulamentação sobre micotoxinas em alimentos (FREIRE, 2007). No caso da fumonisina, seus níveis máximos foram fixados no Regulamento UE N° 1.881/2006 de Dezembro de 2006, que dispunha sobre limites máximos de certos contaminantes em gêneros alimentícios. Foram alterados no ano seguinte, pelo Regulamento N° 1.126/2007 de 28 de Setembro de 2007, que determinou os níveis máximos permitidos de toxinas de *Fusarium* em milho e derivados.

Nesse decreto foram estabelecidos, para alimentos a base de milho, os seguintes limites expressos no quadro 3.

Quadro 3: Níveis máximos de fumonisinas em milho e derivados na legislação da União Européia

Produto	Limites máximos tolerados ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) de FB1 + FB2
Milho não processado, com a exceção do milho não processado destinado a moagem por via úmida	4.000
Milho processado destinado ao consumo humano direto, produtos a base de milho destinados ao consumo humano direto	1.000
Cereais matinais a base de milho e salgadinhos a base de milho	800
Alimentos a base de milho processados destinados a bebês e crianças	200
Frações de moagem do milho com partículas de tamanho > 500 micron abrangidas pelos e outros produtos da moagem do milho com partículas tamanho > 500 micron que não utilizadas para consumo humano direto	1.400
Frações de moagem do milho com partículas de dimensões \leq 500 micron e outros produtos da moagem do milho com partículas de dimensões \leq 500 micron que não usados para consumo humano direto	2.000

Fonte: EUROPEAN COMMISSION, 2007.

Nos Estados Unidos, o *Food and Drug Administration* (FDA), órgão do governo que controla os alimentos e medicamentos do país, sugeriu por meio da orientação de agosto de 2011 limites de contaminação por micotoxinas em alimentos para humanos e animais. Para as fumonisinas foram propostos limites para a soma de FB1, FB2 e FB3 em produtos de milho (FDA, 2011) O Quadro 4 mostra os valores recomendados de fumonisinas para alimentação humana.

Quadro 4: Níveis de orientação do *Food and Drug Administration* para fumonisina em milho e produtos derivados

Produto	Limites máximos tolerados ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) de FB1 + FB2 + FB3
Produtos de milho degerminados de moagem seca (conteúdo de gordura < 2,25 % base seca).	2.000
Produtos de milho completamente ou parcialmente degerminados de moagem seca (conteúdo de gordura \geq 2,25 % base seca).	4.000
Farelo de milho de moagem seca.	4.000
Milho purificado para produção de massa.	4.000
Milho purificado para produção de pipoca.	3.000

Fonte: FDA, 2011

No Brasil os limites máximos de fumonisinas em alimentos foram estabelecidos somente no ano de 2011, na Resolução RDC N° 7, de 18 de fevereiro de 2011, da ANVISA. Essa regulamentação estabeleceu limites de micotoxinas a serem adotadas em diferentes produtos alimentícios no ano de 2011, 2012, 2014 e 2016. Os limites máximos estabelecidos para fumonisinas são mostrados no quadro 5.

Quadro 5: Níveis máximos de fumonisina em milho e derivados na legislação do Brasil.

Produto	Limites máximos tolerados ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) de FB1 + FB2
Aplicação em 2011	
Milho de pipoca	2.000
Alimentos a base de milho para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	200
Aplicação em janeiro 2012	
Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha	2.500
Amido de milho e outros produtos à base de milho	2.000
Aplicação em janeiro de 2014	
Milho em grão para posterior processamento	5.000
Aplicação em janeiro de 2016	
Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha	1.500
Amido de milho e outros produtos a base de milho	1.000

Fonte: BRASIL, 2011

O CODEX ALIMENTARIUS é um programa conjunto da FAO/WHO que tem como objetivo desenvolver padrões, manuais e normas alimentares internacionais para a proteção da saúde dos consumidores e garantia de práticas leais de comércio de alimentos. As atividades do CODEX são divididas por comitês de assuntos específicos e de áreas geográficas (ANVISA, 2015). O comitê sobre contaminantes em alimentos, propôs por meio do relatório da oitava sessão, em abril de 2014, níveis máximos de fumonisinas para grão de milho e produtos derivados, conforme mostrado no Quadro 6 (CODEX, 2014).

Quadro 6: Proposta do CODEX ALIMENTARIUS para níveis de fumonisinas em milho e derivados

Produto	Limites máximos tolerados ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) de FB1 + FB2
Grão de milho	4.000
Farinha de milho e fubá	2.000

Fonte: CODEX, 2014

Ao comparar os limites máximos estabelecidos nos regulamentos descritos acima, é possível observar que a legislação da União Europeia dispõe de valores máximos tolerados mais baixos em relação aos demais, ou seja, sua regulamentação é mais exigente. Isso se aplica para fumonisinas, como mostrado nos quadros, como para outras micotoxinas (Dados não mostrados).

Em relação ao Brasil nota-se que a legislação (RDC N°7, de 18 de fevereiro de 2011) prevê para o ano de 2016 um decréscimo nos seus limites máximos permitidos em alguns produtos, aproximando-se aos limites da União Europeia.

Como foi afirmado anteriormente, as legislações para micotoxinas em grãos e alimentos derivados estão cada vez mais rigorosas. Tal fato pode influenciar as relações comerciais entre os países, afetando principalmente os exportadores, que podem ser banidos ou restringidos na entrada de alguns de seus produtos nos outros países. Para reverter tal problema, esses países, como o Brasil, estão se adequando às novas exigências internacionais quanto aos limites máximos desses contaminantes, visando e garantindo assim a manutenção de seus produtos no

mercado (BORDINI et al., 2013; MARIN et al., 2013). Deste modo se prevê uma tendência à harmonização das legislações nos países pertencentes aos diferentes blocos econômicos (FREIRE, 2007). Até o momento, o MERCOSUL, bloco econômico que o Brasil pertence, possui somente regulamentação para aflatoxinas, mas com uma futura regulamentação para fumonisinas o país deverá então ter que adotá-la, de modo a garantir a exportação de milho para os demais países do MERCOSUL.

4.3.6 Incidência de fumonisinas em alimentos

Para este trabalho, foi realizado um levantamento de estudos com dados de incidência de fumonisinas em milho e alimentos à base de milho, realizados no Brasil e em outros países, nos últimos 15 anos, cujos dados são passíveis de comparações.

Foram encontrados estudos realizados no Brasil e em outros países, como Espanha, Portugal, Alemanha, Países Nórdicos (Dinamarca, Noruega, Suécia, Finlândia e Islândia), Coreia do Sul e China. Na tabela 1 são mostrados os dados desses estudos, como: alimento analisado, local de coleta, técnica analítica, qual a fumonisina pesquisada e seus níveis encontrados.

Tabela 1: Estudo sobre a incidência de fumonisina em milho e produtos derivados no Brasil e outros países, de 2000 a 2015.

Referência	Origem da amostra	Alimento	FB	Positivo/Total de amostras (%)	Amostra positiva µg/Kg		Técnica analítica
					Variação	Média	
BORDIN et al., 2015	São Paulo e Santa Catarina	Fubá Flocos de milho Milho de pipoca Milho em conserva Polenta	FB1	30/50 (60%)	-	360.4 ± 555.1	CLAE
BORDIN et al., 2014	São Paulo	Fubá Farinha de milho Flocos de milho Polenta Milho em conserva Milho de pipoca	FB1	94/120 (78,3%)	33 – 1.208,6	-	CLAE
PELUQUE et al., 2014	Minas Gerais Paraná São Paulo Santa Catarina Rio Grande do Sul	Mistura de cereais	FB1	88/105 (83,8%)	2 – 1.876	137.8 ± 257.4	CLAE
FERREIRA et al., 2013	Minas Gerais	Canjiquinha Fubá Farinha de milho	FB1	8/16 (50%)	55 – 985	-	Fluorímetro
STUMPF et al., 2013	Rio Grande do Sul	Grão de milho	FB1 FB2	17/29 (58,6%) 11/29 (37,9%)	ND – 2.030 ND -840	660 420	CLAE

Tabela 1: Estudo sobre a incidência de fumonisina em milho e produtos derivados no Brasil e outros países, de 2000 a 2015.
(cont.)

Referência	Origem da amostra	Alimento	FB	Positivo/Total de amostras (%)	Amostra positiva µg/Kg		Técnica analítica
					Variação	Média	
MARTINS et al., 2012	Paraná	Fubá Milho de pipoca Mingau de milho Canjica Farinha de milho Flocos de milho	FB1 FB2 FB1 + FB2	82/100 (82%) 51/100 (51%) -	81 – 3.462 45 – 886 -	398 131 -	CLAE
QUEIROZ et al., 2012	Minas Gerais	Grão de milho	FB1	40/40 (100%)	230 – 6.450	-	Fluorímetro
ROCHA et al., 2009	Mato Grosso São Paulo Rio Grande do Sul Bahia	Grão de milho	FB1 FB2	196/200 (98%) NI	15 – 9.670 15 – 3.160	-	CL
CALDAS & SILVA, 2007	Distrito Federal	Fubá Creme de milho Milho de pipoca Farinha de milho pré cozida Flocos de milho Salgadinhos de milho Milho doce (na espiga, congelado e enlatado)	FB1 FB2	168/208 (80,7%) 149/208 (71,6%)	160 – 4.740 110 – 1.570	- -	CCD

Tabela 1: Estudo sobre a incidência de fumonisina em milho e produtos derivados no Brasil e outros países, de 2000 a 2015.
(cont.)

Referência	Origem da amostra	Alimento	FB	Positivo/Total de amostras (%)	Amostra positiva µg/Kg		Técnica analítica
					Variação	Média	
KAWASHIMA & VALENTE SOARES, 2006	Pernambuco	Canjica Farinha de milho Farinha de milho Flocos de milho pré-cozido Fubá Milho de pipoca Quirera Quirera fina	FB1	71/74 (96%)	20 – 8.600	-	CLAE
BITTERCOURT et al., 2005	São Paulo	Fubá Farinha de milho	FB1 FB2	60/60 (100%) 60/60 (100%)	1.100– 15.300 200 – 3.900	5200 1000	CLAE
CASTRO et al., 2004	São Paulo	Cereal instantâneo Fubá Papinhas a base de milho para bebês Amido de milho	FB1 FB2 FB3	117/196 (59,7%) 106/196 (54,1%) 106/196 (54,1%)	60 – 5.825 28 – 1.687 16 - 549	- - -	CLAE

Tabela 1: Estudo sobre a incidência de fumonisina em milho e produtos derivados no Brasil e outros países, de 2000 a 2015.
(cont.)

Referência	Origem da amostra	Alimento	FB	Positivo/Total de amostras (%)	Amostra positiva µg/Kg		Técnica analítica
					Variação	Média	
SCAFF & SCUSSEL, 2004	Santa Catarina	Farinha de milho Flocos de milho pré-cozido Canjica Milho de pipoca	FB1 FB2	76/82 (92,6%) 56/82 (68,2%)	FB1+FB2 60 – 21.823	-	CLAE
VAN DER WESTHUIZEN et al., 2003	Santa Catarina	Grãos de milho destinados à alimentação humana e animal	FB1 FB2 FB3	90/90 (100%) 90/90 (100%) 88/90 (97,7%)	FB1+FB2+FB3 20 – 18.740	2890	CLAE
ALMEIDA et al., 2002	São Paulo	Grão de milho	FB1 FB2	52/55 (94,5%) 33/55 (60%)	90 – 17.690 50 – 5.240	-	CLAE
MALLMANN et al., 2001	Sul do Brasil	Grão de milho	FB1	94/267 (35,2%)	86 – 78.920	8.860	CLAE
VARGAS et al., 2001	Centro, Sul e Sudeste do Brasil	Grão de milho	FB1	212/214 (99,1%)	200 - 6.100	2.200	CLAE

Tabela 1: Estudo sobre a incidência de fumonisina em milho e produtos derivados no Brasil e outros países, de 2000 a 2015.
(cont.)

Referência	Origem da amostra	Alimento	FB	Positivo/Total de amostras (%)	Amostra positiva µg/Kg		Técnica analítica
					Variação	Média	
ONO et al., 2001	Paraná	Grão de milho	FB1	147/150 (98%)	96 – 22.600	-	ELISA
ORSI et al., 2000	São Paulo	Grão de milho	FB1 FB2	176/195 (90,2%) 190/195 (97,4%)	870 – 49.310 1.960 – 29.160	-	CLAE
MACHINSKI JR & VALENTE SOARES, 2000	São Paulo	Milho degerminado Flocos de milho Farinha de milho Milho na espiga Milho doce enlatado Pamohha	FB1 FB2 FB1 +FB2	40/81 (49,3%) 44/81 (54,3%) -	170 – 4.930 50 – 1.380 -	580 160 740	CLAE
CAMARGOS et al., 2000	São Paulo	Grão de milho	FB1 FB2	23/23 (100%)	1.630 – 25.690 380 – 8.600	5.610 1.860	CLAE
ESCOBAR et al., 2013	Espanha	Óleo de milho Gérmen de milho Margarina com óleo de milho	FB1 FB2	27/74 (36,5%)	ND – 1.544 ND – 1.403	-	CL-EM

Tabela 1: Estudo sobre a incidência de fumonisina em milho e produtos derivados no Brasil e outros países, de 2000 a 2015.
(cont.)

Referência	Origem da amostra	Alimento	FB	Positivo/Total de amostras (%)	Amostra positiva µg/Kg		Técnica analítica
					Variação	Média	
WEI et al., 2013	China	Grãos de milho	FB1 FB2 FB1 + FB2	112/307 (36,5%) 91/307 (29,6%) 120/307 (39,1%)	ND – 9.975 ND – 3.135 ND – 13,110	522 181 703	CLAE
CANO-SANCHO et al., 2012	Espanha	Salgadinho de milho Milho verde Flocos de milho Cerveja Alimentos infantis Pão de milho e massas <i>Tortillas</i> , farinha de milho	FB1 + FB2	162/928 (17,5%)	NI - 682,2	-	CLAE
LIU et al., 2012	China	Milho para consumo humano	FB1 + FB2 + FB3	20/21 (95,2%)	-	441	CL-EM
FEDERICO et al., 2010	Argentina	Salgadinho de milho	FB1 FB2 FB3	19/20 (95%) 14/20 (70%) 6/20 (30%)	ND – 928 ND – 435 ND – 286	257,5 70,4 73,3	CLAE
GONG et al., 2009	China	Grãos de milho	FB1	281/282 (99,6%)	3 - 71.121	6,662	CLAE

Tabela 1: Estudo sobre a incidência de fumonisina em milho e produtos derivados no Brasil e outros países, de 2000 a 2015.
(cont.)

Referência	Origem da amostra	Alimento	FB	Positivo/Total de amostras (%)	Amostra positiva µg/Kg		Técnica analítica
					Variação	Média	
WANG et al., 2008	China	Grão de milho	FB1	42/104 (40,4%)	220 – 3.200	-	CLAE
		Canjica Farinha de milho Amido de milho Tortillas Milho embalado a vácuo		7/39 (17,9%)	210 – 240	250 ± 40	
ZIMMER et al., 2008	Alemanha	Grão de milho Sêmola de milho Cereais Flocos de milho Cereais com ingredientes adicionais Milho verde e milho enlatado Bebidas contendo milho	FB1 FB2 FB3	372/691 (54%)	ND – 4.800	-	CLAE CL-EM

Tabela 1: Estudo sobre a incidência de fumonisina em milho e produtos derivados no Brasil e outros países, de 2000 a 2015.

(cont.)

Referência	Origem da amostra	Alimento	FB	Positivo/Total de amostras (%)	Amostra positiva µg/Kg		Técnica analítica
					Variação	Média	
SILVA et al., 2007	Portugal	Milho amarelo Milho branco Amido de milho Farinha de milho Milho enlatado Flocos de milho Mistura de cereais Salgadinho de milho Semolina	FB1 FB2 FB1 + FB2	15/67 (22,4%)	ND – 1.569 ND – 457 ND – 2.026	-	LC/FD LC/ESI/M S
LINO et al., 2007	Portugal	Broa de milho	FB1 FB2 FB1 + FB2	24/30 (80%) 25/30 (83%) 25/30 (83%)	ND – 448 ND – 207 ND - 550	205 70 266	CLAE
LINO et al., 2006	Portugal	Milho amarelo Milho branco Sêmola de milho Amido de milho Milho verde	FB1 FB2 FB3	22/42 (52,3%)	ND - 1,569 ND - 457 ND - 2,026	-	CLAE
KIM et al., 2002	Coreia do Sul	Flocos de milho Salgadinho de milho Amido de milho Milho de pipoca	FB1	26/76 (34,2%)	18,2 – 1.010	87	CLAE

Tabela 1: Estudo sobre a incidência de fumonisina em milho e produtos derivados no Brasil e outros países, de 2000 a 2015.
(cont.)

Referência	Origem da amostra	Alimento	FB	Positivo/Total de amostras (%)	Amostra positiva µg/Kg		Técnica analítica
					Variação	Média	
TSENG & LIU, 2001	Argentina Australia Tailândia Estados Unidos	Grãos de milho	FB1	8/118 (6,8%)	ND – 1.614	-	CLAE
PETERSEN & THORUP, 2001	Dinamarca Noruega Suécia Finlândia Islândia	Polenta Tacos mexicanos Milho na espiga Grãos de milho Farinha de milho Amido de milho Milho de pipoca Flocos de milho Milho verde enlatado ou congelado	FB1 FB2	26 / 70(37%) 15/ 70 (21%)	1 – 1.000 4 - 250	-	CLAE
SCUDAMORE & PATEL, 2000	França Argentina Espanha Hungria Alemanha	Grãos de milho	FB1 FB2 FB3	139/140 (99,3%)	NI – 3.406 NI – 1.268 NI - 333	-	CLAE

Legenda: FB= Fumonissina; CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência; ELISA= Ensaio imunoenzimático (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*); CL-EM= Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa; LC/FD= Cromatografia líquida/ dessorção por campo (*Liquid chromatography- field desorption*); LC/ESI/MS= Cromatografia líquida acoplada a espectrofotometria de massa com ionização por eletrospray (*Liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry*); ND= não detectado; NI= não informado. Fonte: elaborado por Thaianie Uemoto Rabelo, 2015

De acordo com a tabela 1, observou-se que entre as técnicas analíticas para a detecção e quantificação de fumonisinas, a mais utilizada foi a CLAE. Isso é devido à sua versatilidade, especificidade e seletividade, conforme afirmado anteriormente no item 4.3.5. Dentre os 36 trabalhos analisados, um utilizou a técnica CCD (Caldas & Silva, 2007), um trabalho utilizou ELISA (Ono et al., 2001) e dois utilizaram o fluorímetro (Ferreira et al., 2013; Queiroz et al., 2012). Essas técnicas são pouco utilizadas, pois apesar de serem mais simples e rápidas, são pouco precisas, com limites de detecção elevados e de quantificação limitada.

Técnicas mais recentes baseadas na Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC/MS) foram utilizadas em 5 dos trabalhos analisados (Rocha et al., 2009; Escobar et al., 2013; Liu et al., 2012; Silva et al., 2007; Zimmer et al., 2008). A LC/MS particularmente a LC/MS/MS vem se tornando muito popular e é um grande potencial para análises de micotoxinas. Suas principais vantagens são: baixos limites de detecção, possibilidade de gerar informação estrutural, requer tratamentos mínimos das amostras e um amplo nº de analitos de polaridades diferentes podem ser analisados (MALLMANN et al., 2011).

Ao analisar os estudos realizados no Brasil, observa-se que sua maioria concentra-se nas regiões sul e sudeste, regiões de grande produção de milho. Na pesquisa realizada, foram encontrados somente dois estudos com dados da região nordeste (Bahia e Pernambuco) e nenhum trabalho no norte do país. Por outro lado deve-se levar em consideração que o nordeste embora não seja considerável grande produtor de milho é a região do país que mais se consome alimentos à base do grão. Tal fato mostra a importância da realização do monitoramento nessa região, uma vez que a população desses estados pode estar sujeita a exposição de risco ao consumir alimentos com altos índices de contaminação com fumonisinas.

Foi observada também a necessidade de mais estudos em diferentes regiões, visando-se obter um panorama geral de consumo de fumonisina em todo o país, e que sirva como subsidio para posteriores regulamentos.

Sobre os dados analisados nos trabalhos foi evidenciado que, de um modo geral, a incidência de fumonisina em grão de milho e seus derivados foi alta. Isso foi mostrado por Peluque et al. (2014); Martins et al. (2012) e

Caldas & Silva (2007), que encontraram FB1 em cerca de 80% das amostras analisadas. Scaff & Scussel (2004), Almeida et al. (2002) e Orsi et al. (2000) encontraram cerca de 90% das amostras contaminadas com alguma fumonisina. Kawashima & Valente Soares (2006), Bittencourt et al. (2005), Van der Westhuizen et al. (2003), Vargas et al. (2001), Ono et al. (2001) e Camargos et al. (2000) acharam que 100% ou mais de 90% dos produtos analisados estavam contaminados com fumonisinas.

Entre os menores percentuais de amostras contaminadas estão os trabalhos de Machinski Jr & Valente Soares (2000) que encontraram FB1 em 49,3% das amostras analisadas e Stumpf et al. (2013) que encontraram FB2 em 37,2% dos alimentos estudados.

Em relação aos níveis de fumonisina, os maiores valores encontrados foram de FB1 em grão de milho, sendo relatado 78.900 µg/Kg (MALLMANN et al., 2001) e 49.310 µg/Kg (ORSI et al., 2000). Os alimentos à base de milho apresentaram menor nível de contaminação por fumonisinas que grãos de milho. Os níveis encontrados variaram de 549 µg/Kg a 8.600 µg/Kg (CASTRO et al., 2004 e KAWASHIMA & VALENTE SOARES, 2006).

Foi observado que a quantidade de fumonisinas encontradas tanto em grãos de milho como em seus derivados diminuiu com o passar dos anos. Bittencourt et al. (2005) mostraram que o valor máximo de FB1 em produtos à base de milho foi de 15.300 µg/Kg. Nos estudos mais recentes, também com alimentos à base de milho Ferreira et al. (2013) encontraram o valor máximo de 985 µg/Kg de FB1. Em estudos com grão de milho, Mallmann et al. (2001) encontraram 78.920 µg/Kg de FB1 em grãos do Paraná. Em contrapartida Stumpf et al. (2013) encontraram 3.462 µg/Kg de FB1 em grãos do sul do Brasil, evidenciando tal diminuição de contaminação.

Uma hipótese para tal diminuição na concentração de fumonisinas nos produtos estudados se deve à legislação. Ou seja, o decréscimo de contaminação pode ter ocorrido pela aplicação de medidas visando à adequação à Resolução RDC N° 7, de 18 de fevereiro de 2011, da ANVISA (Brasil, 2011). A lei estabeleceu limites de fumonisinas em alimentos à base de milho a partir de 2011 e 2012 e para grão de milho para posterior processamento em 2014. A diminuição dos valores máximos tolerados de fumonisinas em alimentos à base de milho deverá acontecer no ano 2016.

Os trabalhos realizados no Brasil antes de 2011, ou seja, anterior à implantação da legislação, foram analisados considerando os valores estabelecidos na legislação até o ano presente. Dos estudos realizados analisando grão de milho (oito trabalhos) e produtos à base de milho (seis trabalhos), todos os trabalhos teriam as amostras condenadas caso a legislação tivesse sido implantada anterior ao ano 2011, por apresentarem limites superiores aos tolerados.

Também considerando os limites máximos estabelecidos pelo regulamento até o momento, ano de 2015, para os seguintes alimentos: milho de pipoca (2.000 µg/Kg), farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica e canjiquinha (2.500 µg/Kg), amido de milho e outros produtos à base de milho (2.000 µg/ Kg) e grão de milho para posterior processamento (5.000 µg/Kg) foi analisado quais estudos realizados após a implantação do regulamento, ano de 2011, estariam dentro do que foi estabelecido e quais estariam condenados por apresentarem valores acima dos tolerados.

De todos os estudos realizados após 2011, foi observado que dois trabalhos apresentaram alimentos com níveis acima do tolerado. Queiroz et al. (2012) encontraram 6.450 µg/Kg de FB1 em grão de milho adquirido em Minas Gerais e Martins et al. (2012) encontraram 3.462 µg/ Kg de FB1 nos alimentos à base de milho analisados, adquiridos no Paraná. Os demais estudos realizados apresentaram limites dentro do tolerado (Stumpf et al., 2013; Ferreira et al., 2013; Peluque et al., 2014; Bordin et al., 2014, 2015).

Mesmo se fosse considerado que o limite a ser estabelecido a partir de 2016, para farinha de milho, fubá, flocos de milho, canjica e canjiquinha (1.500 µg/Kg) e amido de milho e outros produtos a base de milho (1.000 µg/Kg) tivesse sido estabelecido em 2011, somente o trabalho de Martins et al. (2012) teria as amostras condenadas por apresentar valores superiores de fumonisinas, entre os alimentos analisados (fubá, mingau, canjica, farinha e flocos de milho). Bondin et al. (2014) embora apresente na tabela valor máximo encontrado de 1.208,60 µg/Kg, não foi considerado, pois a tabela 1 apresenta valores de todos os alimentos em conjunto. Somente a polenta não deveria ultrapassar o valor de 1.000 µg/Kg (dado não mostrado).

Como visto observa-se um decréscimo nos valores de fumonisinas encontrados nos últimos anos no país. Isso somado ao fato que os limites

máximos tolerados na legislação brasileira para alguns produtos serão menores a partir de 2016, espera-se que os novos estudos apresentem valores de contaminação também cada vez menores devido à adequação do regulamento.

Ao se comparar os trabalhos realizados no Brasil com os de outros países foi observado que, em geral, a incidência de produtos contaminados no país foi superior à maioria dos demais trabalhos. Com exceção dos trabalhos de Lino et al. (2012), Liu et al. (2012), Federico et al. (2010), Gong et al. (2009) e Scudamore & Patel (2000), que encontraram FB em pelo menos 80% das amostras, todos os demais onze trabalhos analisados encontraram índices de contaminação menores. Ao contrário do Brasil, em que 15 dos 21 trabalhos apresentaram índices de contaminação superiores 80%.

Assim como no Brasil, os maiores níveis de contaminação foram encontrados em grãos de milho, porém os níveis encontrados foram menores comparados aos brasileiros. Com exceção dos valores encontrados por Wei et al. (2013) e Gong et al. (2009) que encontraram até 9.972 e 71.121 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ respectivamente de FB1 em grão de milho da China, todos os demais trabalhos que analisaram somente grãos de milho apresentaram valores menores que 3.406 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (Wang et al., 2008; Tseng e Liu 2001; Scudamore & Patel, 2000). No Brasil, com exceção de Stumpf et al. (2013) que encontraram até 2.030 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de FB1 em grãos de milho do Rio Grande do sul, todos os demais trabalhos apresentaram valores superiores a 6.100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de FB1 em grãos de milho.

Em relação aos produtos à base de milho, os trabalhos realizados no Brasil após a regulamentação de fumonisinas no país (BRASIL, 2011) apresentaram valores de contaminação semelhantes aos outros países. O valor máximo encontrado foi 3.462 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de FB1 em produtos do Paraná, analisados por Martins et al. (2012). Em relação aos outros países, com exceção de Zimmer et al. (2008) que encontraram até 4.800 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de contaminação por FB1/FB2/FB3 em alimentos à base de milho na Alemanha, todos os demais trabalhos apresentaram valores máximos de contaminação inferiores a 2.026 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

Embora os valores de contaminação por FB encontrados no Brasil nos últimos anos se aproximem aos encontrados em outros países, ainda é

importante que sejam adotadas boas práticas de plantio e produção de alimentos visando uma menor contaminação por fungos e consequente contaminação por fumonisinas. A menor contaminação de milho no Brasil assim poderá garantir o país no mercado de exportação, visto sua maior exigência a cada ano, e também garantir à segurança da população brasileira, dada a importância do milho na sua alimentação.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, procurou-se estudar a literatura recente sobre a incidência de fumonisinas no milho e seus derivados, tema de grande importância para a saúde pública e a economia do Brasil, como importante produtor e exportador desses produtos.

A contaminação de alimentos com micotoxinas causa grandes prejuízos econômicos, incluindo a perda de produtos agrícolas e o impedimento de transações comerciais de commodities. Quando ingeridas, seu alto poder de toxicidade acarreta graves danos à saúde humana e de animais. As fumonisinas, em particular, já mostraram ter relação uma variedade de doenças animais e estão epidemiologicamente ligadas à alta incidência de câncer esofágico em algumas regiões do mundo que consomem grande quantidade de milho. Nesse sentido, o monitoramento desses contaminantes é de extrema importância, tornando possível se obter dados de incidência e principalmente observar se as legislações estão sendo cumpridas.

Dados de estudos no Brasil mostram que a quantidade de fumonisinas em produtos derivados de milho tem diminuído, e segue de acordo com a legislação vigente. Entretanto, a incidência de contaminação ainda é alta, mostrando o risco que a população está submetida, visto o alto consumo de milho e seus derivados em várias regiões do país. À medida que estudos são realizados evidenciando os danos à saúde decorrentes do contato com fumonisinas e também outras micotoxinas, alterações nas legislações podem se tornar necessárias, para maior proteção da população que consome diariamente esses produtos. Deve-se ressaltar que o cumprimento efetivo dos regulamentos requer monitoramento constante, exigindo que os órgãos responsáveis pela saúde pública garantam condições efetivas de trabalho nas instituições encarregadas desse monitoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **ANVISA**. CODEX ALIMENTARIUS. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Rotulagem/dcf0a40040369ecc9c359d1145253526>> Acesso em 01 dezembro 2015.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.

AH-SEO, J.; WON LEE, Y. **Natural Occurrence of the C Series of Fumonisin in Moldy Corn**. Applied and Environmental Microbiology, v.65, n.3, p.1331-1334, março 1999.

ALIZADEH, M.A; et al.. **Fumonisin B₁ Contamination of Cereals and Risk of Esophageal Cancer in a High Risk Area in Northeastern Iran**. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, v.13, p. 2625–2628, 2012.

ALMEIDA, A.P.; et al.. **Milho Recém-Colhido no Brasil: Interação da Microbiota Fúngica, Fatores Abióticos e Ocorrência de Fumonisinas**. Revista Instituto Adolfo Lutz, v.64, n.1, p.1-9, 2005.

ALMEIDA, A.P.; et al.. **Mycoflora and Aflatoxin/Fumonisin Production by Fungal Isolates From Freshly Harvested Corn Hybrids**. Brazilian Journal of Microbiology, v.31, n.4, p.321-326, 2000.

ALMEIDA, A.P.; et al.. **Mycoflora and Fumonisin Contamination in Brazilian Corn from Sowing to Harvest**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.50, p.3877-3882, 2002.

ALVES, H.C.R.; AMARAL, F.R. **Produção, Área Colhida e Produtividade do Milho no Nordeste**. Informe Rural Etene. Banco Do Nordeste, ano v, n.16, setembro 2011.

ASCHERI, J.L.R.; GERMANI, R. **Protocolo de Qualidade do Milho**. Rio De Janeiro: Embrapa Agroindústria De Alimentos, 2004. 23p.

BENNETT, J.W. **Mycotoxins, Mycotoxicoses, Mycotoxicology and Mycopathologia**. Mycopathologia, v.100, n.1, p.3-5, outubro 1987.

BENNETT, J.W.; KLICH, M. **Mycotoxins**. Clinical Microbiology Reviews, v.16, n.3. p.497–516, 2003.

BEZUIDENHOUT, S. C.; et al.. **Structure Elucidation of the Fumonisins, Mycotoxins From Fusarium Moniliforme**. Journal Of Chemistry Of The Society of Chemical Community, v.1988, p.743-745, 1988.

BHATNAGAR, D.; YU, J.; EHRLICH, K.C. **Toxins of Filamentous Fungi.** Breitenbach M, Cramer R, Lehrer Sb (Eds): Fungal Allergy and Pathogenicity. Chemical Immunology and Allergy, Karger, v.81, p.167-206, 2003.

BITTENCOURT, A.B.F.; et al.. **Mycotoxin occurrence in corn meal and flour traded in São Paulo, Brazil.** Food Control, v.6, p.117-120, 2005.

BORDINI, J.G.; et al.. **Impacto das Fumonisinas, Aflatoxinas e Ocratoxina A na Avicultura.** Biochemistry and Biotechnology Reports, v. 2, n. 1, p. 68-88, janeiro/junho 2013.

BORDIN, K.; et al.. **Assessment of Dietary Intake of Fumonisin B1 in São Paulo, Brazil.** Food Chemistry, v. 155, p. 174–178, 2014.

BORDIN, K., et al.. **Evaluation of Fumonisin Exposure by Determination of Fumonisin B1 in Human Hair and In Brazilian Corn Products.** Food Control, v.53, p.67-71, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. **Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011.** Dispõe sobre Limites Máximos Tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Brasília, 2011. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, Distrito Federal, 9 de março de 2011, Seção 1, p. 66.

BRITANNICA, ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA, inc 1996. The Outer Layers And Internal Structures Of A Kernel Of Corn. 1996. In: PAPALIA, I.S.; Londero, P.M.G. **Extração De Zeína E Sua Aplicação Na Conservação Dos Alimentos.** Ciência Rural, Santa Maria, v.45, n.3, p.552-559, março 2015.

BROGGI, L.E; et al.. **Natural occurrence of aflatoxins, deoxynivalenol, fumonisins and zearalenone in maize from Entre Ríos Province, Argentina.** Micotoxin Research, v.23, n.2, p.59-64, junho 2007.

BULLERMAN, L.B. **Significance of Mycotoxins to Food Safety and Human Health.** Journal Of Food Protection, v.42, n.1, p.65-86, 1979.

CALDAS, E.D.; SILVA, A.C. **Mycotoxins in Corn-Based Food Products Consumed in Brazil: na Exposure Assessment for Fumonisins.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.55, p.7974–7980, 2007.

CAMARGOS, S.M.; et al.. **Fumonisins in Corn Cultivars in the State of São Paulo.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 31, p. 226-229, 2000.

CANO-SANCHO, G.; et al. **Occurrence of fumonisins in Catalonia (Spain) and an exposure assessment of specific population groups.** Food Additives and Contaminants, v.29, n.5, p.799-808, maio 2012.

CASTRO, M,F.P.M. **Fumonisins in Brazilian corn-based foods for infant consumption.** Food Additives and Contaminants, v.21, n.7, p.693–699, julho 2004.

CHRISTENSEN, C.M.; KAUFMANN, H.H. Grain Storage: The Role of Fungi Quality Loss. Minneapolis, University Minnesota Press; 1969. In: Almeida, A.P.; et al.. **Milho Recém-Colhido no Brasil: Interação da Microbiota Fúngica, Fatores Abióticos e Ocorrência de Fumonisin**. Revista Instituto Adolfo Lutz, v. 64, n. 1, p.1-9, 2005.

CHU, F.S.; LI, G.Y. **Simultaneous Occurrence of Fumonisin B1 and Other Mycotoxins in Moldy Corn Collected From the People's Republic of China in Regions With High Incidences of Esophageal Cancer**. Applied and Environmental Microbiology, v.60, n.3, p.847-852, 1994.

Codex Alimentarius Commission. CODEX. **Report of the Eighth Session of the CODEX COMMITTEE ON CONTAMINANTS IN FOODS**, The Hague, The Netherlands: CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2014.

COLEÇÃO DE LAMINAS. **Fusarium sp.** Abril 2009. Disponível em <http://colecaodelaminas.blogspot.com.br/2009/04/fusarium-sp.html>>Acesso em 01 dezembro 2015

COLVIN, B.M; HARRISON, L.R. **Fumonisin-Induced Pulmonary Edema and Hydrothorax in Swine**. Mycopathologia, v.117, p.79-82, 1992.

Companhia Nacional de Abastecimento. **CONAB**. 2015. Indicadores Da Agropecuária. Brasília, Ano xxiv, n.6, p.01-96, junho 2015.

Conselho De Informações Sobre Biotecnologia. **CIB**. Guia Do Milho: Tecnologia Do Campo A Mesa. Setembro, 2010. Disponível em <<http://cib.org.br/wp-content/uploads/2011/10/guiamilhoset2010.pdf> >acesso em 27 julho 2015.

COSTA, R.V.; CASELA, C.R.; COTA, L.V. **Cultivo do Milho: Doenças**. Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de Produção 1, 6 ed, setembro 2010. disponível em http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/doencas.htm> acesso em 15 outubro 2015

COULOMBE JR, R.A. **Symposium: Biological Action Of Mycotoxins**. Journal Of Dairy Science, v.76, n. 3, 1993.

DESJARDINS, A.E. **Gibberella from A (Venaceae) to Z(Eae)**. Annual Review of Phytopathology, v. 41, p. 177-198, 2003.

DESJARDINS, A.E.; PLATTNER, R.D.; NELSON, P.E. **Production of Fumonisin B1 and Moniliformin By Gibberella Fujikuroi From Rice From Various Geographic Areas**. Applied And Environmental Microbiology, v.63, n.5, p.1838–1842, maio 1997.

DILKIN, P., et al. **Produção de fumonisin por cepas de Fusarium moniliforme de acordo com a temperatura, umidade e tempo de cultura**. Brazilian Journal of Microbiology, v.33, n.2, p. 111-118, 2002.

DILKIN, P. **Micotoxicose Suína: Aspectos Preventivos, Clínicos e Patológicos.** *Biológico*, São Paulo, v.64, n.2, p.187-191, julho/dezembro 2002.

DI PAOLO, L.A.; et al.. **Leucoencefalomalacia Equina: Descrição de Tres Brotes Asociados a Intoxicación por Fumonisin, en Provincia de Buenos Aires, Argentina.** *Sitio Argentino de Producción Animal*, v.31, n.311, p.1-10, 2014.

DOEBLEY, J. **Molecular Evidence for Gene Flow Among Zea Species.** *Bioscience*. v.40, n. 6,p. 443-448, junho 1990.

DOMIJAN, A.M. **Fumonisin B₁: A Neurotoxic Mycotoxin.** *Archives of Industrial Hygiene And Toxicology*, v. 63, p. 531–544, 2012.

DOMIJAN, A.M.; et al.. **Fumonisin B₁: Oxidative Status and DNA Damage in Rats.** *Toxicology*, v.232, n.3, p.163-169, abril 2007.

Encyclopedia of Life. **EOL.** Disponível em <<http://eol.org/>> acesso em 28 julho 2015.

ESCOBAR, J.; et al.. **Occurrence and exposure assessment of Fusarium mycotoxins in maize germ, refined corn oil and margarine.** *Food and Chemical Toxicology*, v.62, p.514–520, 2013.

ETZEL, R. A. **Mycotoxins.** *American Medical Association, Jama*, v.287, n.4, p.425-427, janeiro 2002.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation N° 1881/2006 of 19 December 2006.Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of EU*, L, 364,20 dezembro 2006, p. 5.

EUROPEAN COMMISSION. N° 1126/2007 of 28 September 2007. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards *Fusarium* toxins in maize and maize products (2007). *Official Journal of EU*, L. 255, 29 setembro 2007, p. 14-17.

FARONI, L. R. A. **Fatores que Influenciam a Qualidade dos Grãos Armazenados.** Viçosa: UFV, 1998. (Apostila Do Departamento De Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa).

FEDERICO, F.J.; et al.. **Natural occurrence of fumonisins in corn puff in Argentina.** *Mycotoxin Research*, v.26, p.273–278, 2010.

FERREIRA, H.;et al.. **Aflatoxinas: Um Risco a Saúde Humana e Animal.** *Ambiência - Revista do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais*, v.2, n.1, p.113-127, janeiro/junho 2006.

FERREIRA, P.; et al.. **Incidência de Aflatoxinas e Fumonisin em Produtos**

de Milho Consumidos no Estado de Minas Gerais. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.12, n.1, p. 54-60, 2013.

FINCHAM, J. E.; et al.. **Atherogenic Effects in a Non-Human Primate of Fusarium Moniliforme Cultures Added to a Carbohydrate Diet.** Atherosclerosis, v.94, p.13–25, 1992.

Food and Agriculture Organization of The United Nations. **FAO/WHO** Safety evaluation of certain mycotoxins in food. FAO: Food and Nutrition Paper 74, World Health Organization, Geneva, 2001. Disponível em <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je01.htm>> Acesso em 28 outubro 2015.

Food and Agriculture Organization of The United Nations. **FAO/WHO.** Worldwide regulations for micotoxins in food and in feed in 2003, Food and Nutrition: Paper, 81. Roma, 2004. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e00.htm>>. Acesso em 29 outubro 2015.

Food and Drugs Administration. **FDA.** FDA Mycotoxin Regulatory Guidance - A guide for grain elevators, feed manufactures, grain processors and exporters. Whashington D.C. 2011.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. As Micotoxinas. n. 7, 2009. disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/90.pdf>>. acesso em 15 outubro 2015.

FREIRE, F.C.O. **Micotoxinas: Importância Na Alimentação e na Saúde Humana E Animal.** Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza. 1ed. 2007. 48p. documentos, 110.

GABRIEL,A.N.C. **Seleção Recorrente Recíproca de Famílias de Irmãos Completos em Milho Comum (*Zea Mays L.*) Monitorada por Marcadores Moleculares: Avanço de Gerações e Avanços Do Progresso Genético.** 2009. 115p. Tese (Doutorado Em Genética E Melhoramento De Plantas). Centro De Ciências E Tecnologias Agropecuárias Da Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo Dos Goytacases, 2009.

GARCIA, J.C.; et al.. **Aspectos Econômicos da Produção d Utilização do Milho.** Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho E Sorgo/Mapa, Dezembro 2006.12p. (Embrapa, Circular Técnica, 74)

GELDERBLOM, W.C.A.; et al.. **Fumonins- Novel Mycotoxins With Cancer-Promoting Activity Produced by Fusarium Moniliforme.** Applied and Environmental Microbiology, v.54, n.7, p.1806-1811, julho 1988.

GIMENO, A. **Revisión genérica del problema de los hongos y las micotoxinas en la alimentacion animal.** 1999. Disponível em <http://www.adiveter.com/ftp_public/noticia758.pdf> Acesso em 03 dezembro 2015.

GIMENO, A.; MARTINS, M.L. **Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos**. 3. ed. Mexico: Inc. USA, 2011. 127 p.

GOLOUBINOFF, P.; PAABO, S.; WILSON, A.C. **Evolution of Maize Inferred from Sequence Diversity of an ADH 2 Gene Segment from Archeological Specimens**. Washington, D.C., v.90, p.1997- 2001, 1993.

GONG, H.Z.; et al.. **Occurrence of Fumonisin B1 in Corn from the Main Corn-Producing Areas of China**. Mycopathologia, v.167, p.31–36, 2009.

GUMPRECHT, L.A.; et al.. **Development of Fuminisin-Induced Hepatotoxicity and Pulmonary Edema in Orally Dosed Swine: Morphological And Biochemical Alterations**. Toxicologic Pathology, v. 26, n.6, p. 777-788, 1998.

HASCHEK, W.M; et al.. **Fumonisin Toxicosis in Swine: An Overview of Porcine pulmonary edema and current perspectives**. Environmental Health Perspectives, v.109, n.2, p. 251-257, maio 2001.

HOWARD, P.C.; et al.. **Fumonisin B1 Carcinogenicity in A Two-Year Feeding Study Using F344 Rats and B6c3f1 Mice**. Environmental Health Perspectives, v. 109, n.109, n.2, p 277-282, 2001.

IAMANAKA, B.T; OLIVEIRA, I.S.; TANIWAKI, M.H. **Micotoxinas em Alimentos**. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, v.7, p.138-161, 2010.

International Agency for Research on Cancer . **IARC**. Monographs on The Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. IARC. Monographs on The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans. Lyon, France, v.56,1993, 599p.

International Agency For Research on Cancer. **IARC**. IARC Monographs on The Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene And Styrene. Lyon: France, v. 82. 2002. 601p.

JAJIC,I.; et al.. **Occurrence of Deoxynivalenol in Maize and Wheat in Serbia**. International Journal of Molecular Sciences, v.9,p 2114-2126, 2008.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. **JECFA**. Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. Geneva: World Health Organization; 1998

JORNAL AGRO CERES. São Paulo: Agroceres, N.219, Janeiro 1994. In GARCIA, J.C.; et al.. **Aspectos Econômicos da Produção e Utilização do Milho**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho E Sorgo/Mapa, Dezembro 2006.12p. (Embrapa, Circular Técnica, 74)

JURJEVIC, C. et al.. **Fusarium Species of the Gibberella Fujikuroi Complex and Fumonisin Contamination Of Pearl Millet and Corn In Georgia, USA.** Mycopathologia, v.159, p.401–406, 2005.

KAWASHIMA, L.M.; VALENTE SOARES, L.M. **Incidência de Fumonisina B1, Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, Ocratoxina A e Zearalenona em Produtos de Milho.** Ciência E Tecnologia De Alimentos, Campinas, v. 26, n. 3, p. 516-521, julho/setembro 2006.

KIM, E.K.; et al.. **Survey for fumonisin B1 in Korean corn-based food products.** Food Additives and Contaminants , v. 19, n. 5, p. 459-464, 2002.

KIRINCIC, S., et al.. **Mycotoxins in Cereals and Cereal Products in Slovenia- Official Control of Food in The Years 2008-2012.** Food Control, v.50, p.57-165, 2012.

KRSKA, R.; et al.. **Mycotoxin analysis: An update.** Food Additives and Contaminants, v.25,n.2, p.152-163, fevereiro 2008.

LINO, C.M.; et al.. **Determination of fumonisins B1 and B2 in Portuguese maize and maize-based samples by HPLC with fluorescence detection.** Anal Bioanal Chemistry, v.384, p.1214–1220, 2006.

LEDOUX, D.R.; et al.. **Fumonisin Toxicity in Broiler Chicks.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v.4, p.330-333, 1992.

LINO, C.M.; et al.. **Occurrence of fumonisins B1 and B2 in broa, typical Portuguese maize bread.** International Journal of Food Microbiology, v.118, p.79–82, 2007.

LINO, C.M.; SILVA, L.J.G.; PENA, A.S. **Metodologias Analíticas para Determinação das Fumonisinias Em Milho e Alimentos À Base De Milho.** Química Nova, v. 29, n. 2, p.293-299, 2006.

LIU, Y.P., et al.. **Occurrence of fumonisins and aflatoxins in cereals from markets of Hebei province of China.** Food Additives and Contaminants: Part B, v. 5, n. 3, p. 208–211, setembro 2012

LOGUERCIO, L.L.; CARNEIRO, N.P.; CARNEIRO, A.A. **Milho Bt.** Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento. n. 24, janeiro/fevereiro 2002.

MACHINSKI JR, M.; VALENTE SOARES, L.M. **Fumonisin B1 and B2 in Brazilian corn-based food products.** Food Additives and Contaminants, v. 17, n. 10, p. 875- 879, 2000.

MADBOULY, A. K.; et al.. **Co-Occurrence of Mycoflora, Aflatoxins and Fumonisin in Maize and Rice Seeds From Markets of Different Districts in Cairo, Egypt.** Food Additives And Contaminants: Part B, v.5, n.2, p.12-120, junho 2012.

MALLMANN, C. A.; et al.. **Comparação de metodologias analíticas e de amostragem para micotoxinas**. Micotoxinas, página de website, 2011. Disponível em < <http://pt.engormix.com/MA-micotoxinas/artigos/metodologias-analiticas-amostragem-micotoxinas-t570/p0.htm>> Acesso em 02 dezembro 2015.

MALMMAN, C.A.; et al.. **Fumonisin B1 Levels in Cereals and Feeds from Southern Brazil**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.68, n.1, p.41-45, janeiro/junho 2001.

MAKUN, H.A.; et al.. **Natural Multi-Occurrence of Mycotoxins in Rice from Niger State, Nigeria**. Mycotoxin Research, v.27, n.2, p.97-104, maio 2011.

MARASAS W.F.O., et al.. **Fumonisin Disrupt Sphingolipid Metabolism, Folate Transport, and Neural Tube Development in Embryo Culture and in Vivo: A Potential Risk Factor For Human Neural Tube Defects Among Populations Consuming Fumonisin-Contaminated Maize**. Journal of Nutrition, v. 134, p. 711-716, 2004.

MARIN, S.; et al.. **Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment**. Food and Chemical Toxicology, v. 60, p. 218–237, 2013.

MARTINS, F.A.; et al.. **Daily intake estimates of fumonisin in corn-based food products in the population of Parana, Brazil**. Food Control, v. 26, p. 614-618, 2012.

MAZIERO, M.T.; BERSOT, L.S. **Micotoxinas em Alimentos Produzidos no Brasil**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.12, n.1, p.89-99, 2010.

MEIRELES, M.C.A.; et al.. **Mycoflora of the Toxic Feeds Associated with Equine Leukoencephalomalacia (ELEM) Outbreaks in Brazil**. Mycopathologia, v.127, p.183-188, 1994.

MENEZES, V.O. **Inoculação de *Fusarium Moniliforme* (Sheld.) em Sementes de duas Cultivares de Pepino Através da Técnica de Restrição Hídrica e sua Influência sobre a Qualidade Fisiológica**. 2009. 85p. Tese (Mestrado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria/ Rs. Santa Maria, 2009.

MINAMI, L. et al.. **Fumonisin: Efeitos Toxicológicos, Mecanismo de Ação e Biomarcadores para Avaliação da Exposição**. Seminários: Ciências Agrárias, Londrina, v. 25, n. 3, p. 207-224, julho/setembro 2004.

MISSMER, S.A.; et al.. **Exposure to Fumonisin and the Occurrence of Neural Tube Defects Along the Texas-Mexico Border**. Environmental Health Perspectives, v.114, n.2, fevereiro 2006.

MORETTI, A.N. **Taxonomy of *Fusarium* Genus, a Continuous Fight Between Lumpers and Splitters**. Matica Srpska Proceedings For Natural

Sciences, n.177, p.7-13, 2009. Disponível em <
<http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0352-4906/2009/0352-49060917007m.pdf>>
acesso em 21 setembro 2015.

MUNKVOLD, G.P. **Epidemiology of *Fusarium* Diseases and their Mycotoxins in Maize Ears.** European Journal of Plant Pathology, v.109, p.705–713, 2003.

MUSSER, S.M.; PLATTNER, R.D. **Fumonisin Composition in Cultures of *Fusarium Moniliforme*, *Fusarium Proliferatum*, and *Fusarium Nygami*.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.45, p.1169-1173, 1997.

NELSON, P.E. **Taxonomy and Biology of *Fusarium Moniliforme*.** Mycopathology, v.117, p.29-36, 1992.

NOGUEIRA, S.; OLIVEIRA, M.B.P.P. **Prevalência de Ocratoxina em Alimentos e Consequentes Problemas de Segurança Alimentar.** Alimentação Humana, v.12, n.2, 2006.

NORRED, H.P.; et al.. **In Vitro Toxicology of Fumonisin and the Mechanistic Implications.** Mycopathologia, v.117, p. 73-78, 1992.

Office of the Gene Technology Regulator. **OGTR.** 2008. The Biology of *Zea Mays* L. Spp *Mays* (Maize Or Corn). Governo Da Austrália, Departamento de Saúde. Versão1: 2008.

OLIVEIRA, C.A.F.; GERMANO, P.M.I. **Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular.** Revista De Saúde Pública, Universidade De São Paulo, v.31, n. 4, p. 417-424, agosto 1997.

OMINSKI, K.H.; et al.. Ecological Aspects of Growth and Mycotoxin Production By Storage Fungi. In: MILLER, J.D.; TRENHOLM, H.L. **Mycotoxins in Grain: Compounds Other Than Aflatoxin.** Universidade de Minnesota: Eagan Press, 1994. 552p.

ONO, E.Y.S.; et al.. **Evaluation of fumonisin- aflatoxin co-occurrence in Brazilian corn hybrids by ELISA.** Food Additives and Contaminants, v.18, n.8, p. 719-729, 2001.

ORSI, R.B.; et al.. **Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvested and stored hybrid maize.** Journal of Stored Products Research, v.36, p. 75-78, 2000.

OSWEILER, G.D., ROSS, P.F., WILSON, T.M., et al.. **Characterization of an Epizootic of Pulmonary Edema in Swine in Corn Screening.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v.4, p.53-59, 1992.

PAES, M.C.D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho E Sorgo/Mapa, Dezembro 2006. 6p. (Embrapa, Circular Técnica, 75)

PAVAO, A.R.; FERREIRA FILHO, J.B.S. **Impactos Econômicos da Introdução do Milho Bt11 no Brasil: Uma Abordagem de Equilíbrio Geral Inter-Regional**. Revista de Economia e Sociologia Rural, v.49, n.1, p. 81-108, março 2011.

PEREIRA, V.L.; FERNANDES, J.O.; CUNHA, S.C. **Micotoxinas em Portugal: Ocorrência e Toxicidade**. Acta Farmacêutica Portuguesa, v.2, n.1, p.61-73, 2012.

PETERSEN, A.; THORUP, I. **Preliminary evaluation of fumonisins by the Nordic countries and occurrence of fumonisins (FB1 and FB2) in corn-based foods on the Danish market**. Food Additives and Contaminants, v.18, n.3, p.221-226, 2001.

PELUQUE, E.; et al.. **Fumonisin B1 in cereal mixtures marketed in Brazil**. Food Additives & Contaminants: Part B, v. 7, n. 1, p. 46-48, 2014.

PIPERNO, D.R.; FLANNERY, K. V. **The Earliest Archaeological Maize (Zea Mays L.) From Highland Mexico: New Accelerator Mass Spectrometry Dates And Their Implications**. Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America. v. 98, n. 4, p. 2101 -2103, 2000.

PRADO, G. **Contaminação De Alimentos Por Micotoxinas no Brasil e no Mundo**. Revista De Saúde Pública Do SUS/Mg. v. 2 n 2. junho/dezembro 2014.

PRADO, G. et al.. **Occurrence of Aflatoxin M1 in Parmesan Cheese Consumed in Minas Gerais, Brazil**. Ciência e Agrotecnologia. Lavras, v.32, n.6, p.1906-1911, novembro/dezembro 2008.

PRADO, G.; et al.. **Ocorrência Natural de Desoxinivalenol e Toxina T-2 em Milho Pós-Colheita**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.17, n.259, 1997. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0101-20611997000300013&script=sci_arttext> acesso em 15 setembro 2015.

PUSCHNER, B. **Mycotoxins**. The Veterinary Clinics Small Animal Practice, v.32, p.409-419, 2002.

QUEIROZ, V.A.V.; et al.. **Occurrence of fumonisins and zearalenone in maize stored in family farm in Minas Gerais, Brazil**. Food Control, v.28, p. 83-86, 2012.

R- BIOPHARM. Colunas de Imunoafinidade para a análise das micotoxinas. Catálogo de produtos: Ambifood, 2p. Disponível em <<http://www.ambifood.com/pt/catalogo/alimentar/>> Acesso em 01 dezembro 2015.

REYES-VELAZQUEZ, W.P.; et al.. **Occurrence of Fungi and Mycotoxins in Corn Silage, Jalisco State, México.** Revista Iberoamericana de Micología, v.25, p.182-185, 2008.

RHEEDER, J. P.; MARASAS, W.F.; VISMER, H.F. **Production of Fumonisin Analogs by *Fusarium* Species.** Applied and Environmental Microbiology, v.68, p.2102–2105, 2002.

ROCHA, L.O., et al.. **Mycoflora and Co-occurrence of Fumonisin and Aflatoxins in Freshly Harvested Corn in Different Regions of Brazil.** International Journal of Molecular Sciences, v.10, p.5090-5103, 2009.

ROSS, P.F.; et al.. **Concentrations of Fumonisin B1 in Feed Associated With Animal Health Problems.** Mycopathologia, v.114, p.129-135,1991.

ROSS, P.F., et al.. **Production of Fumonisin by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* Isolates Associated with Equine Leukoencephalomalacia and a Pulmonary Edema Syndrome in Swine.** Applied and Environmental Microbiology, v.56, n.10, p.3225-3226, outubro 1990.

RUBERT, J.; SOLER, C.; MAÑES, J. **Application of an HPLC–MS/MS Method for Mycotoxin Analysis in Commercial Baby Foods.** Food Chemistry, v. 133, p. 176–183, 2012.

SABINO, M.; et al.. **Avaliação da eficiência de dois kits comerciais para detecção de aflatoxina B1 em amostras de milho, ração e amendoim e seus produtos.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.17, n.2, p.107-110, maio/agosto 1997.

SANTIN, E. **Understanding Mycotoxins.** Engormix: Mycotoxins. Disponível em < <http://en.engormix.com/ma-mycotoxins/articles/understanding-mycotoxins-t3428/p0.htm>>acesso em 11 agosto 2015.

SANTOS, M.C.; et al.. **Micotoxinas e seu Potencial como Agentes de Guerra.** Revista Virtual De Química, v.6, n.3, p.761-778, 2014. Disponível em <<http://www.uff.br/rvq/index.php/rvq/article/view/742/462>>acesso em 28 setembro 2015.

SCAFF, R.M.C.; SCUSSEL, V.M. **Fumonisin B1 and B2 in Corn-Based Products Commercialized in the State of Santa Catarina –Southern Brazil.** Brazilian Archives of Biology and Technology, v,47, n. 6 , p. 911-919, novembro 2004.

SCHAAFSMA, A.W.; et al.. **Analysis of *Fusarium* Toxins in Maize and Wheat Using Thin Layer Chromatography.** Mycopathologia, v.142, p.107-113, 1998.

SCUDAMORE, K.A.; PATEL, S. **Survey for aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and fumonisins in maize imported into the United Kingdom.** Food Additives and Contaminants, v.17, n.5, p.407-416, 2000.

SERRA, R.M.A. **Micoflora das Uvas Portuguesas e Ssu Potencial para a Contaminação de com Micotoxinas, com Destaque para a Ocratoxina A.** 2005. 399p. Tese (Doutorado Em Engenharia Química E Biológica). Departamento De Engenharia Biológica Da Universidade Do Minho, Braga, Portugal, 2005.

SHEPHARD, G.S.; et al.. **Natural Occurrence of Fumonisin in Corn From Iran.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.48, p.1860-1864, 2000.

SILVA, L.J.G.; et al.. **Occurrence of fumonisins B1 and B2 in Portuguese maize and maize-based foods intended for human consumption.** Food Additives and Contaminants, v.24, n.4, p. 381–390, abril 2007.

SMITH, S.N. **An Overview of Ecological and Habitat Aspects in the Genus *Fusarium* With Special Emphasis On the Soil-Borne Pathogenic Forms.** Plant Pathology Bulletin, v.16, p.97-120, 2007.

SOUZA, M.L.M.; et al.. **Cooccurrence of Mycotoxins in Maize and Poultry Feeds From Brazil by Liquid Chromatography/ Tandem Mass Spectrometry.** The Scientific World Journal , v. 2013, ID artigo: 427369. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/427369>> Acesso em 19 setembro 2015.

SOUZA, C.S.; et al.. **Effect of Fumonisin-containing Diet on the Myenteric Plexus of the Jejunum in Rats.** Autonomic Neuroscience, v.185, p.93-99, outubro 2014.

STORM, I.M.L.D.; RASMUSSEN, R.R.; RASMUSSEN, P.H. **Occurrence of Pre and Post Harvest Mycotoxins and Other Secondary Metabolites in Danish Maize Silage.** Toxins, v.6, p.2256-2269, 2014.

STUMPF, R.; et al.. ***Fusarium* species and fumonisins associated with maize kernels produced in Rio Grande do Sul State for the 2008/09 and 2009/10 growing seasons.** Brazilian Journal of Microbiology, v.44, n.1, p.89-95, 2013.

SWEENEY, M.J., DOBSON, A.D.W. **Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species.** International Journal of Food Microbiology, v.43, p.141-158, 1998.

SYDENHAM, E.W.; et al.. **Natural Occurrence of Some *Fusarium* Mycotoxins in Corn From Low and High Esophageal Câncer Prevalence Areas of the Transkei, Southern Africa.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.38, p.1900-1903, 1990.

TAMURA, M.A.; et al.. **Method for simultaneous determination of 20 *Fusarium* Toxins in Cereals by High-Resolution Liquid Chromatography-Orbitrap Mass Spectrometry With a Pentafluorophenyl Column.** Toxins, v.7, p.1664-1682, 2015.

TROPICOS. tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Disponível em <<http://www.tropicos.org>> Acesso em 29 julho de 2015.

TSENG, T.C.; LIU, C.Y. **Occurrence of fumonisin B in maize imported into Taiwan.** *International Journal of Food Microbiology*, v.65, p.23-26, 2001.

TURNER, N.W.; SUBRAHMAYNAM, S.; PILETSKY, S. **Analytical Methods for Determination of Mycotoxins: A Review.** *Analytica Chimica Acta*, v.632, p.168–180, 2009.

United States Department Of Agriculture. **USDA.** World Agricultural Supply And Demand Estimates, Wasde n.543, julho 2015. 40p.

VAN DER WESTHUIZEN, L.; et al.. **Fumonisin Contamination and *Fusarium* Incidence in Corn from Santa Catarina, Brazil.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51, p. 5574-5578, 2003.

VARGAS, E.A.; et al.. **Co-occurrence of aflatoxins B1,B2, G1, G2, zearalenone and fumonisin B1 in Brazilian corn.** *Food Additives and Contaminants*, v.18, n.11, p.981-986, 2001.

VENTURA, J. A. **Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados: I– História, Meios e Procedimentos de Cultivo.** *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v.7, p.271-297, 1999.

VIANA, G. **Na espreita das águas para plantar o milho.** *Jornal Eletrônico da Embrapa Milho e Sorgo (Sete Lagoas -MG)*. Ano 4. ed.27, outubro/novembro de 2010. Disponível em <http://www.cnpms.embrapa.br/grao/27_edicao/grao_em_grao_materia_02.htm>. Acesso em 21 de agosto de 2015.

VOSS, K.A.; SMITH, G.W.; HASCHEK, W.M. **Fumonisins: Toxicokinetics, Mechanism of Action and Toxicity.** *Animal Feed Science and Technology*, v.137, p.299–325, 2007.

WANG, J.; et al.. **Fumonisin level in corn-based food and feed from Linxian County, a high-risk area for esophageal cancer in China.** *Food Chemistry*, v.106, p.241–246, 2008.

WANG, H.; et al.. **Fumonisins and *Alternaria Alternatelycopersici* Toxins: Sphinganine Analog Mycotoxins Induce Apoptosis in Monkey Kidney Cells.** *Proceedings of The National Academy of Sciences*, v.93, p. 3461-3465, 1996.

WEI, T.; et al.. **Natural occurrence of fumonisin B1 and B2 in corn in four provinces of China.** *Food Additives & Contaminants: Part B*, v.6, n.4, p.270–274, 2013.

WILKES, G.H. **Maize and its Wild Relatives.** *Science*, v.177, n.4054, p.1071-1077, 22 setembro 1972.

WILLIAMS, L.D.; et al.. **Leaching and Biding of Fumonisin in Soil Microcosms**. Journal Of Agricultural And Food Chemistry, v. 51, p. 685-690, 2003.

WU, F. **Mycotoxin Reduction in Bt Corn: Potential Economic, Health, and Regulatory Impacts**. Transgenic Research, v.15, p.277–289, 2006.

YOSHIZAWA,T.; YAMASHITA,A.; LUO, Y. **Fumonisin Occurrence In Corn From High-And Low-Risk Areas for Human Esophageal Cancer in China**. Applied and Environmental Microbiology, v.60, n.5, p.1626-1629, maio 1994.

ZHANG, L; et al.. **Analysis of Potential Fumonisin-Producing *Fusarium* Species in Corn Products From Three Main Maize-Producing Areas in Eastern China**. Journal Of The Science Of Food And Agriculture, v.93, n.3, p.693–701, fevereiro 2012.

ZIMMER, I.; et al.. **Fumonisin intake of the German consumer**. Mycotoxin Research, v.24, n.1, p.40-52, 2008.