

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Instituto de Ciências Agrárias

Laura Soares Magalhães

**IDENTIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS NO LEITE E PRODUTOS LÁCTEOS:
REVISÃO DE LITERATURA**

Unai

2021

Laura Soares Magalhães

**IDENTIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS NO LEITE E PRODUTOS LÁCTEOS:
REVISÃO DE LITERATURA**

Monografia apresentada ao curso
de Medicina Veterinária da Universidade
Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri,
como requisito para obtenção do título de
Médico Veterinário.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª Marília Cristina Sola

Unaí
2021

Laura Soares Magalhães

**IDENTIFICAÇÃO DE AFLATOXINAS NO LEITE E PRODUTOS LÁCTEOS:
REVISÃO DE LITERATURA**

Monografia apresentada ao curso
de Medicina Veterinária da Universidade
Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri,
como requisito para obtenção do título de
Médico Veterinário

Orientador: Prof^ª. Dr^ª Marília Cristina Sola

Data de aprovação ____ / ____ / ____

Prof^ª. Dr^ª. Marília Cristina Sola
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM

Prof^ª. Dr^ª. Soraia de Araújo Diniz
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM

Prof^ª. Dr^ª. Cristina Moreira Bonafe
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM

Unai

2021

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me permitido chegar até aqui e por conduzir os meus passos.

Agradeço aos meus pais, Hamilton José Batista Magalhães e Iolanda Freitas Soares, que sempre rezaram por mim e me incentivaram a estudar. Tudo o que sou, devo ao senhor e a senhora, muito obrigada.

À minha orientadora Dra. Marília Cristina Sola, pela invejável sabedoria, paciência, amor e dedicação. Obrigada pelos ensinamentos, pelo tempo doado, pelo incentivo, pela oportunidade e entusiasmo em conduzir este trabalho. Muito obrigada por tudo.

Ao meu namorado, Tiago Henrique Sobrinho de Andrade e à minha irmã, Késsia Soares Magalhães por sempre torcerem pelo meu sucesso em todos os momentos da minha vida, em especial, nas conquistas relacionadas à minha graduação.

A todos vocês, serei eternamente grata.

RESUMO

As aflatoxinas são metabólitos tóxicos de fungos do gênero *Aspergillus* que podem ser comumente encontradas em produtos de origem animal e vegetal. O objetivo deste trabalho foi investigar a presença de aflatoxinas no leite e seus derivados a partir da consulta de trabalhos publicados no Brasil através das bases de dados *Scientific Electronic Library Online*, *Pubmed* e *Google Scholar*. Para isso, foram escolhidos dezesseis trabalhos publicados entre os anos de 1989 e 2018 onde treze avaliaram leite em diferentes formas de tratamento e três avaliaram queijos. Dos treze estudos acerca da detecção de aflatoxinas no leite, cinco apresentaram uma concentração acima do limite estabelecido pela legislação brasileira para aflatoxinas em leite, sendo 0,010 a 0,645 µg/L, 0,075 a 1,280 µg/L, 1,68 µg/L, 0,04 a 1,05 µg/L e 0,04 a 4,64 µg/L. Dos três estudos que avaliaram queijos, todos verificaram a presença de aflatoxinas, mas apenas um estudo identificou concentração do metabólito acima do limite máximo tolerado, resultando num valor entre 2,7 e 6,6 µg/kg. A metodologia utilizada para detecção da toxina fúngica variou entre as técnicas CLAE, CCD, CLUE e ELISA. A presença das aflatoxinas em produtos lácteos demonstra a importância do monitoramento desses produtos, bem como uma maior atenção aos alimentos destinados aos animais de produção, sendo esta, fonte de contaminação indireta para o homem, podendo gerar impacto à saúde por seu consumo de forma crônica. Assim sendo, torna-se evidente a necessidade de um monitoramento constante das aflatoxinas nos produtos de origem animal, tendo em vista a ocorrência natural e elevada toxicidade das aflatoxinas para a saúde humana e animal.

Palavras-chave: *Aspergillus spp.*, derivados lácteos, micotoxinas, resíduos químicos.

ABSTRACT

Aflatoxins are toxic metabolites of fungi of the *Aspergillus* genus that can be commonly found in products of animal and plant origin. The objective of this work was to investigate the presence of aflatoxins in milk and its derivatives based on the consultation of works published in Brazil through the Scientific Electronic Electronic Online, Pubmed and Google Scholar databases. For this, sixteen works published between 1989 and 2018 were chosen, where thirteen evaluated milk in different forms of treatment and three evaluated cheeses. Of the thirteen studies on the detection of aflatoxins in milk, five showed a concentration above the limit established by Brazilian legislation for aflatoxins in milk, being 0.010 to 0.645 $\mu\text{g} / \text{L}$, 0.075 to 1.280 $\mu\text{g} / \text{L}$, 1.68 $\mu\text{g} / \text{L}$, 0, 04 to 1.05 $\mu\text{g} / \text{L}$ and 0.04 to 4.64 $\mu\text{g} / \text{L}$. Of the three studies that evaluated cheeses, all verified the presence of aflatoxins, but only one study identified a concentration of the metabolite above the maximum tolerated limit, resulting in a value between 2.7 and 6.6 $\mu\text{g} / \text{kg}$. The methodology used to detect fungal toxin varied between the HPLC, CCD, CLUE and ELISA techniques. The presence of aflatoxins in dairy products demonstrates the importance of monitoring these products, as well as greater attention to food intended for farm animals, which is a source of indirect contamination for humans, which can have an impact on health due to their chronic consumption. . Therefore, it becomes evident the need for constant monitoring of aflatoxins in products of animal origin, in view of the natural occurrence and high toxicity of aflatoxins for human and animal health.

Keywords: *Aspergillus* spp., dairy products, mycotoxins, chemical residues.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS.....	9
2.1 Objetivo geral	9
2.2 Objetivos específicos	9
3. REVISÃO DE LITERATURA	10
3.1 Caracterização dos fungos e micotoxinas	10
Aflatoxinas.....	10
Outras micotoxinas	11
3.2 Mecanismos de veiculação das micotoxinas.....	13
3.3 Condições oportunas para a produção de micotoxinas	14
3.4 Limites máximos de aflatoxinas tolerados.....	15
3.5 Métodos de detecção de aflatoxinas nos alimentos	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
5. RESULTADOS	20
6. DISCUSSÃO.....	23
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

1. INTRODUÇÃO

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por algumas espécies de fungos, sendo considerados contaminantes naturais de difícil controle nos alimentos. Apesar de serem descritas com maior frequência em produtos de origem vegetal, os alimentos de origem animal também podem ser comprometidos.

De acordo com Bochio *et al.* (2017), a maioria dos produtos animais podem ser contaminados a partir da ingestão das micotoxinas presentes nas rações, gerando assim um resíduo tecidual. A contaminação do leite, por exemplo, ocorre após a metabolização da toxina através de enzimas hepáticas. No fígado, a aflatoxina B1, ingerida pelo animal através de rações contaminadas, ao alcançar o fígado, sofre uma biotransformação, resultando em aflatoxina M1, que é excretada junto ao produto lácteo (HUSSEIN e BRASELL, 2001).

Atualmente no Brasil, há grande oferta e demanda de produtos de origem animal. O país é um dos maiores produtores de leite do mundo, mantendo-se em quarto lugar no *ranking* mundial. Em 2020, a produção leiteira industrializada atingiu 25,4 bilhões de litros, tendo Minas Gerais como estado destaque, produzindo 24,6% do total (IBGE, 2020). Devido a essa magnitude de produção e consumo, fez-se necessário a realização de estudos acerca da presença de micotoxinas no leite, sendo concretizados em todo o mundo.

Além do leite, as micotoxinas podem ser encontradas em outros produtos de origem animal, como derivados lácteos, produtos cárneos e ovos. Desse modo, o estudo a respeito da ocorrência de micotoxinas nesses alimentos, bem como no leite e seus derivados, apresenta grande importância para a sociedade por apresentar risco à saúde humana e animal, acarretando em perdas econômicas, devido à desvalorização e descarte dos alimentos contaminados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a presença de aflatoxinas no leite e seus derivados a partir de uma revisão de literatura de estudos publicados entre os anos de 1980 a 2021.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a presença de aflatoxinas no leite e derivados em estudos publicados nacionalmente;
- Analisar os métodos laboratoriais de quantificação utilizados na detecção das aflatoxinas;
- Determinar a concentração de aflatoxinas em leite *in natura*, leite pasteurizado, leite UHT e queijos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Caracterização dos fungos e micotoxinas

Os fungos são organismos eucariotos, podendo ser aeróbios ou anaeróbios facultativos (TORTORA, FUNKE e CASE 2012). Alguns são potentes produtores de micotoxinas, como a aflatoxina, ocratoxina, zearalenona, patulina e fumonisina (HUSSEIN e BRASSEL, 2001; RODRÍGUEZ-AMAYA e SABINO, 2002; MURPHY *et al.*, 2006). De acordo com Trabulsi (2004), há em torno de duzentas espécies de fungos produtores de micotoxinas.

As aflatoxinas são produzidas pelo gênero *Aspergillus*, onde são comumente conhecidos o *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. As ocratoxinas, além de serem produzidas pelo *Aspergillus ochraceus* também se originam de espécies do gênero *Penicillium*. A zearalenona e as fumonisinas são produzidas por diversas espécies do gênero *Fusarium* (PINTO e VAAMONDE, 1996) enquanto a patulina é sintetizada principalmente pelo *Penicillium expansum* (PÁDUA e MACHINSKI JUNIOR, 2005).

Geralmente, as toxinas fúngicas são produzidas em maior escala nos alimentos ricos em carboidratos, visto que estes propiciam um ambiente ótimo para o metabolismo dos fungos. Todavia, estes microrganismos podem ser observados em outros tipos de substratos que também forneçam condições favoráveis para a sua proliferação (VECCHIA e FORTES, 2007).

- **Aflatoxinas**

Segundo Pereira e colaboradores (2002), a aflatoxina é a micotoxina mais encontrada nos alimentos. Os principais tipos são a B₁, G₁, B₂ e G₂, sendo a B₁ a que apresenta maior potencial tóxico (LEESON *et al.*, 1995). De acordo com Pier e colaboradores (1980), a toxina B₁ possui a capacidade de se ligar aos ácidos nucleicos, o que esclarece a possibilidade de ocorrer alterações genéticas, conferindo a característica carcinogênica dessa micotoxina.

O *Aspergillus flavus* e o *Aspergillus parasiticus* infectam as rações dos animais durante o período de armazenamento. O tempo, a temperatura e a umidade são os fatores mais importantes para que seu desenvolvimento aconteça (ESPER, 2011).

A aflatoxina M1 (resultado da biotransformação da aflatoxina B1) foi detectada no leite em muitos rebanhos no Brasil. Essa micotoxina tem apresentado grande importância por estar presente em leites pasteurizado e UHT (*ultra high temperature*), demonstrando sua termoestabilidade frente aos tratamentos térmicos empregados nos leites comercializados (ASSEM *et al.*, 2011).

Da mesma maneira, animais alimentados com rações contendo aflatoxina B2, ao alcançar o fígado, será biotransformada em aflatoxina M2, que é passível de ser excretada no leite (GILBERT, 2003). Apesar da detecção da aflatoxina M1 ser mais frequente, Sartori (2015) relatou em seu estudo a presença do composto M2 ao avaliar leite e fórmulas infantis a base de leite e cereais.

No Brasil foram realizados alguns estudos acerca da presença de micotoxinas em produtos de origem animal. Saraiva (2017) realizou um estudo sobre a presença de aflatoxinas M1 em queijos coloniais no sul do país, onde observou que todas as amostras estavam contaminadas, porém, se encontravam abaixo do limite máximo estabelecido pela legislação brasileira (0,06 µg/kg até 0,56 µg/kg).

Já Oliveira e colaboradores (2010) ao avaliarem a presença de aflatoxina B1 e M1 na ração e no leite respectivamente, constataram a presença destas toxinas em ambos os produtos, embora também tenham evidenciados valores abaixo do limite máximo estabelecido pela legislação do país (0,010 a 0,645 µg.L⁻¹).

- **Outras micotoxinas**

Embora haja relatos da presença de outras toxinas como a ocratoxina (BREITHOLTZ-EMANUELSSON *et al.*, 1993; BOUDRA *et al.*, 2007; PATTONO *et al.*, 2013), zearalenona (YIANNIKOURIS e JOUANY 2002; COFFEY *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2014) e fumonisina (GAZZOTTI *et al.*, 2009) em amostras de leite e derivados, são poucas as pesquisas destas nesses alimentos quando comparado com as aflatoxinas.

As ocratoxinas, zearalenona, patulina e fumonisina são mais frequentemente relatadas em produtos de origem vegetal. As espécies produtoras de ocratoxinas podem ser encontradas no solo, tendo influência, por exemplo, na produção de uvas, pois eventualmente corrobora para a contaminação destas (OIV, 2005). Isso é um grande problema para a economia vitivinícola, tendo em vista a descoberta do seu potencial

nefrotóxico, hepatotóxico, genotóxico, teratogênico, imunossupressor e carcinogênico (PFOHL-LESZKOWICZ e MANDERVILLE, 2007).

Em produtos lácteos destinados a produção de fórmulas infantis, a ocratoxina tem permanecido entre as principais micotoxinas detectadas. Um estudo realizado em Ankara na Turquia, mostrou que 24% das amostras de fórmulas infantis a base de leite, estavam contaminadas por ocratoxinas na concentração de 0,50 µg/kg. Do mesmo modo, foram analisadas amostras de fórmulas infantis a base de leite com cereais, onde a ocratoxina foi encontrada em 44% destas, na concentração de e 2,38 µg/kg ((BAYDAR *et al.*, 2007).

A toxina zearalenona é habitualmente encontrada em grãos, como o trigo. Seu efeito tóxico ocorre devido a secreção de metabólitos análogos ao hormônio estradiol BRIYONES-REYES *et al.*, 2007). Nos animais, seu consumo induz a síndrome hiperestrogênica, levando a hipertrofia uterina, edema vulvar e mamário e interfere diretamente na ocorrência do cio (DE SAEGER *et al.*, 2003).

Devido a sua alta estabilidade, a zearalenona pode ser encontrada em alimentos que passaram por processos fermentativos e por altas temperaturas (IQBAL *et al.*, 2014), como os produtos lácteos. De acordo com Yiannikouris e Jouany (2002) e Signorini e colaboradores (2012), animais alimentados com ração contaminada por zearalenona, possuem uma baixa taxa de transferência desta para o leite. Desse modo, Smith (2006), concluiu que o resíduo da micotoxina nesse alimento, não tem significado clínico digno de nota.

A patulina é uma toxina corriqueiramente encontrada em frutas, como a maçã. Ela possui efeitos mutagênicos, teratogênicos, carcinogênico e imunossupressores (PÁDUA e MACHINSKI JUNIOR, 2005). Por ser uma toxina extremamente solúvel em água, é facilmente transferida para o suco no momento do processamento, o que acaba sendo um fator preocupante para a exportação de sucos do Brasil (WELKE *et al.*, 2009).

Embora na literatura consultada não tenha sido encontrados relatos em produtos de origem animal, a patulina apresenta grande importância para o mercado internacional, pois é considerada um padrão de qualidade (MELLO, 2004). Segundo o Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC), países como Noruega, França e Uruguai estabelecem limites máximos de 50µg/L desta micotoxina em sucos.

As formas mais significativas de contaminação alimentar pela fumonisina são B1, B2 e B3 (RHEEDER *et al.*, 2002). Elas possuem uma grande importância na

pecuária por estarem comumente presentes em grãos de milho. Na espécie equina, por exemplo, o consumo dessa toxina pode acarretar a ocorrência da leucoencefalomalácia, doença grave que leva o animal a óbito (PITT, 2000).

Bovinos leiteiros são muito resistentes à contaminação por fumonisina comparado às outras espécies. De acordo com Richard e colaboradores (1996) ao adicionarem propositalmente fumonisina à ração de vacas Jersey no período de lactação, não foram encontrados resíduos desta micotoxina no leite, embora o animal tenha apresentado sinais sistêmicos de diarreia e aumento dos níveis de colesterol (RICHARD *et al.*, 1996). No entanto, um estudo realizado por Gazzotti em 2009, foi possível detectar a presença de fumonisina no leite, apesar de ter sido em baixas concentrações.

Em bovinos saudáveis, a contaminação por micotoxina pode ser reduzida quando elas entram em contato com o líquido ruminal, sendo considerada a primeira barreira de defesa contra zearalenona e ocratoxina. Todavia, não consegue atuar contra aflatoxina B1, fumonisina e patulina (KIESSLING *et al.*, 1984; OBREMSKI *et al.*, 2009; PRANDINI *et al.*, 2009).

3.2 Mecanismos de veiculação das micotoxinas

Segundo relatos de Diniz (2002), os produtos capazes de veicular as micotoxinas para o homem ou para os animais, são de origem agrícola (cereais, sementes, oleaginosas, frutos e vegetais), rações industrializadas, produtos de origem animal (leite e seus derivados, carnes, embutidos e queijos curados por fungos) e produtos obtidos por fermentação, como a cerveja.

Na alimentação animal, os fungos possuem a capacidade de degradar grande quantidade da energia e proteínas presentes nos grãos. Isso ocorre devido à liberação das micotoxinas que decompõem a ração, afetando-a nutricionalmente, reduzindo a sua palatabilidade (LAZZARI, 1997).

Rações contaminadas por aflatoxinas podem gerar danos aos animais devido ao seu alto potencial de toxicidade, sendo o metabólito possivelmente excretado no leite, estar presente na carne e nos ovos, se tornando fonte de infecção indireta importante para o homem (SILVÉRIO 2015). No ser humano, os impactos dessas micotoxinas ainda não estão bem esclarecidos, mas existem evidências da contribuição para cirrose

hepática e câncer no fígado em lugares como a Índia e a África, onde os alimentos estão mais propensos à contaminação por aflatoxinas (TORTORA, FUNKE e CASE, 2012).

O armazenamento correto dos alimentos direcionados aos animais de produção é o ponto crucial na prevenção da veiculação de toxinas fúngicas. De acordo com Silvério (2015), a aflatoxina B₁, que pode ser comumente encontrada nas rações, após ingerida pelos animais, é absorvida, ocorrendo uma biotransformação hepática na qual resulta na produção da aflatoxina M₁ que é excretada junto ao leite.

Em aves, também há relatos da presença desta micotoxina no fígado (SILVEIRA *et al.*, 1996). Vilar e colaboradores (2002) ao investigarem a incidência de micotoxinas no fígado de aves abatidas no estado de Pernambuco, constataram aflatoxinas em quarenta amostras, porém em concentrações abaixo do limite máximo estabelecido pela legislação nacional. Após avaliação histopatológica das amostras, os autores identificaram hepatócitos aumentados, proliferação celular nos ductos biliares e infiltração de gordura, sendo esta última, uma característica do efeito da aflatoxina B₁ (MERKLEY *et al.*, 1987).

A presença de aflatoxina também pode ser identificada em ovos oriundos de aves que foram alimentadas com cereais contaminados (OLIVEIRA *et al.*, 2000), todavia, a percepção de contaminação é dificultada pelo alto teor de triglicerídeos, proteínas, caroteno e colesterol (SCUSSEL, 2003).

3.3 Condições oportunas para a produção de micotoxinas

As micotoxinas, de forma geral, são muito estáveis, o que favorece sua presença em produtos agrícolas, somado ao fator climático do Brasil e das práticas equivocadas de manejo estabelecidas em algumas propriedades distribuídas no país (ROSMANINHO *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A umidade é um fator determinante na síntese de micotoxinas, uma vez que a presença de água no alimento permite o crescimento dos fungos. Desse modo, é de suma importância que os insumos sejam armazenados em locais com baixa umidade (Diniz, 2002).

Alguns cereais usados na alimentação humana e de animais de produção, por exemplo, são mais propensos à contaminação fúngica, como o amendoim, milho, feijão, trigo e cevada, que estabelecem condições favoráveis ao desenvolvimento do fungo do campo até a estocagem dos grãos (BANDO *et al.*, 2007).

3.4 Limites máximos de aflatoxinas tolerados

O monitoramento de micotoxinas em alimentos é de suma importância, considerando o impacto destes metabólitos na saúde dos consumidores, no cumprimento das legislações sanitárias nacionais e internacionais e conseqüentemente nas perdas econômicas que propiciam ao sistema produtivo (AMBIFOOD, 2021).

Considerando a toxicidade destes metabólitos à saúde humana, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) implementou por meio da Resolução nº 7 de 18 de fevereiro de 2011, os limites máximos para a presença de micotoxinas em amendoim e seus derivados, alimentos à base de cereais para alimentação infantil, café torrado e solúvel, cereais e produtos de cereais, especiarias, frutas secas e desidratadas, nozes e castanhas, amêndoas de cacau e seus derivados, suco de maçã e polpa de maçã, suco de uva e polpa de uva, vinho e seus derivados, fórmulas infantis para lactentes e fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância, leite, produtos lácteos, leguminosas e seus derivados.

Recentemente, os parâmetros para micotoxinas em alimentos foram alterados pela Instrução Normativa nº 88 de 26 de março de 2021 e a Resolução nº 487 de 26 de março de 2021 que se complementam e tem por objetivo reforçar o estabelecimento de limites máximos de contaminantes em alimentos, onde a quantidade deve ser a menor possível mediante a aplicação das melhores práticas e tecnologias de produção disponíveis (BRASIL, 2021).

De importância veterinária, os limites máximos tolerados para aflatoxinas M₁ no leite fluido é de 0,5µg/kg, no leite em pó, de 5µg/kg e nos queijos, 2,5µg/kg (BRASIL, 2021). Não há especificações de limite máximo de outras micotoxinas para estes produtos alimentícios, assim como não há indicações destes metabólitos em produtos cárneos, ovos e mel.

Quanto aos parâmetros internacionais, observa-se uma variação quanto aos limites máximos para micotoxinas no leite e derivados lácteos, conforme disposto no quadro 1.

Quadro 1. Limites máximos para a presença de Aflatoxinas no leite in natura e leite em pó em alguns países.

PAÍS	LEITE IN NATURA (Destinado para elaboração de produtos)	LEITE EM PÓ
Brasil	0,5µg/kg	5µg/kg
União Europeia	0,05 ng/L	0,03 µg/kg
Estados Unidos	0,05 ng/L	0,03 µg/kg.
China	0,5 µg/kg	-
Chipre	0,5 µg/kg	-
Egito	0,0 µg/kg	-
Nigéria	1,0 µg/kg	-

Fonte: Laboratório de Análises Micotoxicológicas – UFSM

3.5 Métodos de detecção de aflatoxinas nos alimentos

A cromatografia em camada delgada e a cromatografia líquida de alta eficiência constituem os métodos de eleição para separar, detectar e quantificar a aflatoxina M1 em amostras de leite (VAN EGMOND e DEKKER, 1995). Todavia, o ELISA também pode ser utilizado, sendo escolhido para detecção de aflatoxinas tanto em produtos oriundos de vegetais, quanto de animais devido a sua sensibilidade, especificidade, rapidez e fácil manipulação (AMARAL e JUNIOR, 2006).

- Cromatografia em camada delgada

A criação da cromatografia em camada delgada foi muito importante para a indústria alimentícia devido ao seu baixo custo e simplicidade, sendo o teste habitual realizado para detecção de micotoxinas (BECKWITH e STOLOFF, 1968).

Esta técnica de cromatografia é comumente utilizada para separar compostos químicos presentes numa amostra. Desse modo, a técnica é realizada sobre uma placa de cobre, plástico ou folha de alumínio, revestida com uma fina camada de material adsorvente, geralmente sílica-gel, óxido de alumínio ou celulose (DEGANI *et al.*, 1998).

Depois que a amostra é aplicada sobre a placa, deve-se adicionar um solvente. Os diferentes compostos presentes nas amostras percorrem a placa de maneiras diferentes, sendo possível a separação das substâncias. A cromatografia em camada

delgada pode ser usada para diversas finalidades, dentre elas, monitorar o progresso de uma reação química, identificar os compostos presentes numa mistura e determinar a pureza de uma substância, bem como a identificação de pesticidas, inseticidas e toxinas em alimentos (CÉSAR *et al.*, 2007).

- Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência é o teste de maior sensibilidade e possui grande importância por conseguir extrair da amostra, partículas em partes por trilhão (SCOTT, 1989; HANSEN, 1990; TUINSTRAN *et al.*, 1993).

Essa técnica é um tipo de cromatografia que emprega pequenas colunas compostas por materiais especializados e uma fase móvel que é eluída sob altas pressões devido à sua baixa permeabilidade. A coluna da técnica CLAE pode ser preenchida por diversos compostos e isso faz dela uma técnica muito versátil (DEGANI *et al.*, 1998; ASSIS, 2015; COLLINS *et al.*, 1993).

A separação da amostra pode ocorrer através da adsorção, partição ou exclusão por tamanho e podem ser utilizados vários detectores, como ultravioleta, índice de refração, eletroquímico e fluorescência, todavia, o ultravioleta é o mais utilizado. (DEGANI *et al.*, 1998; SKOOG *et al.*, 2001; PERES, 2002). Além disso, possui uma alta capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de amostras, em pouco tempo, com alta resolução, eficiência e sensibilidade (COLLINS *et al.*, 1993).

- ELISA

O *Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay* (ELISA) é um teste quantitativo baseado na relação de antígeno e anticorpo (ZHENG *et al.*, 2006). Ele é realizado através da extração de anticorpos de algum animal usado como cobaia que, através da injeção do antígeno, é induzido a produzir anticorpos frente a ele. Essa extração é feita através de uma solução de metanol ou água e a análise produz uma cor que traduz a quantidade de micotoxinas presentes.

Embora a grande ocorrência de resultados falsos-positivos e falsos-negativos, (AMARAL e JUNIOR, 2006), o ELISA é muito utilizado para mensurar a quantidade de aflatoxinas nos alimentos, pois além de conseguir a detecção dos metabólitos a partir

de 2,5ppb, é uma opção ágil, possibilitando notar com antecedência a presença da toxina e evitar contaminações maiores (ZHENG *et al.*, 2006).

Esse teste possui muitas variedades, todavia, os mais utilizados para detectar a presença de aflatoxinas nos alimentos são o ELISA direto e o indireto, sendo o direto, a opção mais empregada (ZHENG *et. al.*, 2006).

4. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada neste estudo foi a revisão bibliográfica, realizada entre os meses de fevereiro e abril de 2021 a fim de avaliar a prevalência de aflatoxinas no leite e produtos lácteos.

As principais bases de dados *online* consultadas foram *Scientific Electronic Library Online* (<https://scielo.org/>), *Pubmed* (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Ministério da Saúde (<http://bvsmms.saude.gov.br/>) e *Google Scholar* (<https://scholar.google.com/>) por meio da busca pelos termos “*aflatoxin bovine milk*”, “*mycotoxins present in products of animal origin*”, “presença de aflatoxinas em produtos lácteos”, “*aspergillus flavus*”, “*timely conditions for the production of mycotoxins*”, “*effects of mycotoxins in animals*”, “*fungi characterization*”, “*zearalenone in dairy products*”, “*ochratoxins in dairy cows*” e “*fumonisin in milk*”.

Foram analisados 16 trabalhos entre os anos de 1989 e 2018 que realizaram a quantificação de micotoxinas no leite e derivados lácteos no Brasil. Estudos adicionais, entre os anos de 1980 a 2021 foram utilizados para enriquecer a introdução e discussão deste material.

5. RESULTADOS

No quadro 2 encontram-se os estudos que quantificaram micotoxinas em amostras de leite e derivados lácteos, sendo especificado o tipo de micotoxina, alimento avaliado, número de amostras avaliadas, % de detecção, quantidade do analito detectado ($\mu\text{g/L}$), limite de referência nacional, método de detecção, local do estudo e referência.

A partir dos resultados dispostos abaixo, foi possível notar que os estudos avaliados ocorreram entre os anos de 1989 e 2018, sendo a detecção das micotoxinas realizada majoritariamente pelo método de cromatografia, com destaque à cromatografia líquida de alta eficiência.

A concentração dos metabólitos variou entre 0,009 $\mu\text{g/L}$ e 1,68 $\mu\text{g/L}$ para leite in natura; 0,02-4,64 $\mu\text{g/L}$ em amostras de leite pasteurizado; 0-1,05 leite UHT; 0,08-1,19 $\mu\text{g/kg}$ em amostras de leite em pó e de 0,06-6,6 $\mu\text{g/kg}$ em queijos.

Dos treze estudos que avaliaram diferentes tipos de leite, como *in natura*, pasteurizado, em pó e UHT, cinco ultrapassaram a concentração máxima permitida de aflatoxina M1 conforme estabelecido pela legislação brasileira (0,5 $\mu\text{g/L}$) (BRASIL, 2011), sendo os estudos realizados por Sabino *et al.* (1989), Gonzalez *et al.* (2005), Oliveira *et al.* (2013), Gonçalves *et al.* (2016) e Gonçalves (2018), indicando percentuais de detecção entre 0,01 $\mu\text{g/L}$ e 4,65 $\mu\text{g/L}$.

Três estudos também avaliaram a presença de aflatoxina M1 em queijos, sendo que somente Prado *et al.* (2008) constataram valores superiores ao estabelecido pela legislação (2,5 $\mu\text{g/kg}$) (BRASIL, 2011), obtendo valores entre 2,7 $\mu\text{g/kg}$ e 6,6 $\mu\text{g/kg}$, resultando em 46,4% das amostras contaminadas.

Quadro 2. Presença de aflatoxinas em leite e queijos no Brasil entre os anos de 1989 e 2018.

Micotoxina	Alimento Inspecionado	Nº amostras avaliadas	% de detecção de micotoxinas	Quantidade detectada (µg/L)	Limite de referência (BRASIL, 2021)	Metodologia utilizada	Local	Referências
Leite in natura								
Aflatoxina M1	Leite fluido <i>in natura</i>	65	40%	0,009 a 0,069 µg/L	0,5µg/kg	CLAE	Pirassununga, São Paulo	Jager, 2013
Aflatoxina M1	Leite cru	30	36,7%	0,010 a 0,645 µg/L*	0,5µg/kg	CLAE	São Paulo	Oliveira <i>et al.</i> , 2010
Aflatoxina M1	Leite cru	40	87,5%	0,013 a 0,018 µg/L	0,5µg/kg	ELISA	Castro, PR	Venâncio, 2017
Aflatoxina M1	Leite <i>in natura</i>	20	100%	0,075 a 1,280 µg/L*	0,5µg/kg	QuEChERS e CCD	Concórdia, SC	Gonçalves <i>et al.</i> , 2016.
Aflatoxina M1	Leite <i>in natura</i>	100	1%	1,68µg/L*	0,5µg/kg	CLAE	Vale Médio do Paraíba, SP	Sabino <i>et al.</i> , 1989
Leite pasteurizado								
Aflatoxina M1	Leite pasteurizado tipo C	40	42,5%	0,02 a 0,14 µg/kg	0,5µg/kg	CCD	Curitiba, PR.	Baggio, 2006.
Aflatoxina M1	Leite pasteurizado	107	74%	0,02 a 0,26 µg/L	0,5µg/kg	CCD	São Paulo e Marília, SP	Shundo e Sabino, 2006.
Aflatoxina M1	Leite pasteurizado	43	39,5%	0,04 a 4,64 µg/L*	0,5µg/kg	CLAE	São Paulo	Gonzalez <i>et al.</i> , 2005

Micotoxina	Alimento Inspeccionado	Nº amostras avaliadas	% de detecção de micotoxinas	Quantidade detectada (µg/L)	Limite de referência (BRASIL, 2021)	Metodologia utilizada	Local	Referências
Leite UHT								
Aflatoxina M1	Leite UHT	31	22,6%	0,0 a 0,183 µg/L	0,5µg/kg	CLAE/DFL	Rio de Janeiro, RJ	Castro <i>et al.</i> , 2013
Aflatoxina M2	Leite UHT	16	18%	0,009 µg/L	-	CLUE-EM/EM	Rio de Janeiro	Sartori <i>et al.</i> , 2015
Aflatoxina M1	Leite UHT desnatado	11	63,6%	0,04 a 1,05 µg/L*	0,5µg/kg	CLAE-FD	Rio Grande, Rio Grande do Sul	Gonçalves, 2018
Leite em pó								
Aflatoxina M1	Leite em pó integral	72	24%	0,08 a 1,19 µg/kg	5µg/kg	CLUE-EM/EM	Rio de Janeiro	Sartori <i>et al.</i> , 2015
Aflatoxina M1	Leite em pó	7	100%	0,33 a 0,81 µg/L	5µg/kg	ELISA	Londrina, PR	Santos, 2015
Queijos								
Aflatoxina M1	Queijos coloniais	15	100%	0,06 a 0,56 µg/kg	2,5µg/kg	ELISA	Vale do Taquari, RS	Saraiva, 2017
Aflatoxina M1	Queijo	10	30%	0,091 a 0,30 µg/kg	2,5µg/kg	CLAE	Pirassununga São Paulo	Jager, 2013
Aflatoxina M1	Queijo Parmesão	88	46,4%	2,7 a 6,6µg/kg*	2,5µg/kg	Cromatografia por imunoafinidade	Minas Gerais	Prado <i>et al.</i> , 2008

CCD: Cromatografia em camada delgada; CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência; CLUE-EM/EM: cromatografia líquida de ultra eficiência acopladas à espectrometria de massas sequencial; CLAE/DFL: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por 2 Fluorescência; CLAE-FD: Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de fluorescência; QuEChERS: Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe. *Concentração (µg/kg) acima do estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2021)

6. DISCUSSÃO

As micotoxinas são produtos tóxicos produzidos por diversos fungos e que eventualmente podem ser encontradas em produtos de origem animal, como carne, ovos, leites e queijos devido à conhecida biotransformação que ela sofre quando é ingerida pelo animal.

Uma vez no organismo, a toxina fúngica passa por uma metabolização hepática podendo depositar-se nos músculos e assim, na carne e ovos que serão comercializados. Da mesma maneira, o fígado age sob uma micotoxina primária (B1) possibilitando sua excreção via leite (M1). Isso demonstra a importância do monitoramento destes produtos, bem como o manejo correto dos alimentos dos animais de produção para que sejam livres de quaisquer contaminantes que ofereçam risco à saúde.

Com base nos resultados avaliados neste estudo, foi possível observar que, mesmo após o leite ter passado por processamento térmico, como a pasteurização e esterilização, esses métodos não foram eficientes na eliminação destes metabólitos, demonstrando a dificuldade em controlá-los uma vez que já estejam presentes nos alimentos.

A presença de aflatoxina M1 no leite vem sendo considerada um problema mundial visto o impacto para a saúde humana e animal. Diante disso, Gonçalves e colaboradores (2017) desenvolveram um experimento através de um método natural para o combate de aflatoxinas, utilizando o composto RumenYeas®, a base de *Saccharomyces cerevisiae*, verificando que nos animais que fizeram a ingestão deste composto, apresentaram redução na transferência de aflatoxinas M1 para o leite. Deste modo, isso demonstra a existência de uma ótima solução para diminuir a veiculação deste metabólito para humanos, tendo em vista que a toxina se mostra resistente a todos os tratamentos térmicos empregados pela indústria.

Assim como a aflatoxina M1, a aflatoxina M2 realiza o papel de um importante metabólito de excreção ativo. No país, não há limites máximos tolerados para aflatoxina M2, o que se torna um fator preocupante, tendo em vista que estudos feitos no Brasil, como o de Sartori e colaboradores (2015), demonstraram a presença deste metabólito em amostras de leite UHT. Da mesma maneira, Lamiaa e colaboradores (2019), através da Alexandria University no Egito, detectaram uma incidência de 20% de contaminação de aflatoxina M2 no queijo mish e 13,3% no queijo Ras, comprovando que se trata de

um metabólito presente não só no território brasileiro e que também oferece riscos à saúde humana.

Há diferenças significativas na regulamentação de micotoxinas em nível nacional e internacional, pois países como os Estados Unidos, possuem legislação mais rigorosa, apresentando um nível máximo de 0,05 µg/L para leite *in natura* e 0,03 µg/L para leite em pó, divergindo muito dos parâmetros nacionais que determinam 0,5 µg/L e 5µg/kg respectivamente. Essa rigidez provavelmente está ligada aos impactos que as micotoxinas podem promover na saúde humana, como a síndrome de *Reye* e neoplasias hepáticas, que podem ser desencadeadas devido à ingestão crônica de aflatoxinas.

Apesar da escassez de informações quanto à detecção de micotoxinas como a fumonisina, zearalenona e ocratoxina no leite e derivados quando comparado às aflatoxinas e da ausência de limites máximos tolerados na legislação brasileira, esses metabólitos podem impactar negativamente a saúde humana e animal, sendo necessário seu monitoramento, visto a presença em substratos utilizados para a elaboração de rações voltadas a alimentação de animais de produção.

Quanto à metodologia utilizada na quantificação das aflatoxinas no leite e derivados lácteos, a cromatografia foi a técnica mais utilizada nos estudos avaliados, provavelmente por ser muito sensível, apresentar alta capacidade de separação de partículas, ser de fácil execução e por fornecer resultados rápidos (SCOTT, 1989; HANSEN, 1990; TUINSTRA *et al.*, 1993).

No Brasil, muitos autores verificaram altos índices de contaminação, evidenciando a presença de aflatoxina M1, como o estudo realizado por Gonçalves e colaboradores (2016), mostrando que 80% das amostras de leite coletadas, estavam acima do limite estabelecido pela legislação brasileira. Essa porcentagem elevada demonstra a necessidade de se avaliar a presença de micotoxina nos produtos de origem animal, uma vez que são conhecidos os impactos que causam à saúde humana.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da avaliação de estudos publicados no Brasil, entre os anos de 1989 e 2018, as aflatoxinas M1 estiveram presentes em amostras de leite e derivados, sendo detectadas principalmente por métodos cromatográficos, indicando a necessidade de monitoramento constante destas substâncias nos produtos de origem animal, diante da ocorrência natural e elevada toxicidade das aflatoxinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, K. A. S. do.; JUNIOR, M. M. **Métodos analíticos para a determinação de aflatoxinas em milho e seus derivados: Uma revisão.** Revista Analytica, Maringá, n. 24, p. 60-62, ago./set. 2006.

AMBIFOOD. **Métodos rápidos para análise de micotoxinas.** 2021. Disponível em <<https://www.ambifood.com/pt/noticias/metodos-rapidos-para-analise-de-micotoxinas/>>. Acesso em 09/03/2021.

ASSEM E.; MOHAMAD A.; OULA E. A. **A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in raw and processed milk samples marketed in Lebanon.** Food Control, 2011.

ASSIS, D. C. S. **Validação de metodologia analítica por UPLC/MS-MS para avaliação da presença de resíduos de antimicrobianos em músculo de frangos de corte após tratamento.** Tese apresentada à Escola de Veterinária-UFMG, programa de pós-graduação Ciência Animal, Belo Horizonte, 2015.

BAGGIO E. C. R. **Determinação de aflatoxina m1 em leite pasteurizado pelos métodos de ccd e clae utilizando coluna de imunoafinidade.** Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Setor de Tecnologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

BANDO, E.; GONÇALES, L. N.; TAMURA, N. K.; MACHINSKI JUNIOR, M. **Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas.** J Bras Patol Med Lab, vol. 43, n. 3, p. 175-180, 2007.

BAYDAR, T.; ERKEKOGLU, P.; SIPAHI, H.; SAHIN, G. **Aflatoxin B1, M1 and Ochratoxin A Levels in Infant Formulae and Baby Foods Marketed in Ankara, Turkey.** Journal of Food and Drug Analysis, 2007.

BECKWITH, A. C.; STOLOFF, L. **Fluorodensitometric measurement of aflatoxin thin layer chromatograms.** Journal of Association of Official Analytical Chemists International, v. 51, p. 602-608, 1968.

BOCHIO V.; TAKAHASHI S. E.; GROFF. P. M.; SCHADECK M. M.; MAIER G. S. **Efeitos da aflatoxina na produção avícola: Revisão.** Revista PUBVET v.11, n.8, p.832-839, Ago. 2017.

BOUDRA H, BARNOUIN J, DRAGACCI S, MORGAVI DP. **Aflatoxin M₁ and Ochratoxin A in raw bulk milk from French dairy herds,** 2007.

BREITHOLTZ-EMANUELSSON A, OLSEN M, OSKARSSON A, PALMINGER I, HULT K. **Ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples,** 1993.

BRIYONES-REYES D.; GOMÉZ-MARTINEZ L.; CUERVA-ROLÓN R. **Zearalenone contamination in corn for human consumption in the state of Tlaxcala, México.** Food Chemistry, v.100. 2007.

CASTRO I. M.; TEIXEIRA A. S.; ANJOS M. R.; SANTOS S. N. **Contaminante em Leite: Análise de Aflatoxina M1 por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por Fluorescência - CLAE/DFL**. EMBRAPA, 2013.

CÉSAR, I. C.; BRAGA, F. C.; VIANNA-SOARES, C. D.; NUNAN, E. A.; BARBOSA, T. A. F.; MOREIRA-CAMPOS L. M. **Determinação de daidzeína, genisteína e gliciteína em cápsulas de isoflavonas por cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 17, n. 8, p. 615–625, 2007.

COFFEY R, CUMMINS E, WARD S. **Exposure assessment of mycotoxins in dairy milk**. 2009.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. e BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 5ª ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1993.

DE SAEGER S.; SIBANDA L.; VAN PETEGHEM C. **Analysis of zearalenone and α -zearalenol in animal using high-performance liquid chromatography**. Analytica Chimica Acta, 2003.

DEGANI, A. L.; CASE, Q. L.; VIERA, P. C. **Cromatografia um breve ensaio**. Química nova na escola, São Paulo, n. 7, p. 21-25, 1998.

DINIZ, S.P.S.S. **Micotoxinas**. Livraria e Editora Rural. 181p. 2002.

DRAGACCI, S.; GROSSO, F.; GILBERT, J. **Immunoaffinity column clean up with liquid chromatography for determination of aflatoxin m1 in liquid milk: collaborative study**. Journal of AOAC International, v. 84, n. 2, p. 437-443, 2001.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Suínos e Aves 2019**. Disponível em < <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas>>. Acesso em 09/03/2021.

ESPER, R. H. **Óleos essenciais de mentrasto e orégano no controle de Aspergillus flavus em milho e soja**. Dissertação de Mestrado. Instituto Biológico, São Paulo, 2011.

FONSECA, H. **Micotoxinas on line**. 2008.

GAZZOTTI, T.; LUGOBONI, B.; ZIRONI, E.; BARBAROSSA A.; SERRAINO A.; PAGLIUCA G. **Determination of fumonisin B₁ in bovine milk**, 2009.

GILBERT J.; POHLAND A. E. **Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems**. Council for Agricultural Science and Technology, 2003.

GONÇALEZ E.; FELICIO J. D.; PINTO M. M.; ROSSI M. H.; NOGUEIRA J. H. C.; MANGINELLI S. **Ocorrência de aflatoxina m1 em leite comercializado em alguns municípios do estado de são paulo**. São Paulo, SP, Brasil, 2005.

GONÇALVES K. D. M. **Ocorrência de aflatoxinas B1 e M1 em leite em pó e UAT, consumido em Cabo Verde e região sul do Brasil**. Rio Grande, RS. Programa de pós-graduação, 2018.

GONÇALVES, B. L.; GONÇALVES, J. L.; ROSIM, R. E.; CAPPATO, L. P.; CRUZ, A. G.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. **Effects of different sources**

of *Saccharomyces cerevisiae* biomass on milk production, composition and aflatoxin M1 excretion in milk from dairy cows fed aflatoxin B1. Journal of Dairy Science, 2017.

GONÇALVES, L.; DALLA, A. R.; GONZALEZ, S. L.; FELTES, M. M. C.; BADIALE-FURLONG, E.; DORS, G. C. **Determinação de aflatoxina m1 em leite bovino in natura.** FAURGS. 2016.

HANSEN, T. J. **Affinity column cleanup and direct fluorescence measurement of aflatoxin M1 in raw milk.** Journal of Food Protection, v. 53, n. 1, p. 75-77, 1990.

HUANG, L. C.; ZHENG, N.; ZHENG, B. Q.; WEN, F.; CHENG, J. B.; HAN R. W.; XU X. M.; LI, S. L.; WANG, J. Q. **Simultaneous determination of aflatoxin M₁, ochratoxin A, zearalenone and α -zearalenol in milk,** 2014.

HUSSEIN, S.H.; BRASELL, J.M. **Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals.** Toxicology, v.167. 2001.

IBGE – 2020. **Estatística da Produção Pecuária.** Disponível em: <https://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_202004caderno.pdf>.

INTERNATIONAL ORGANIZATION OF VINE AND WINE – OIV. **Code of Sound Vitivinicultural Practices in Order to Minimise Levels of Ochratoxin A in Vine - Based Products.** OIV, 2005.

IQBAL, S. Z.; ASIC, M. R.; JINAPA, S.; RASHIDE, U. **Detection of aflatoxins and zearalenone contamination in wheat derived products.** Food Control, 2014.

JAGER, A. V.; TEDESCO, M. P.; SOUTO, P. C. M. C.; OLIVEIRA, C. A. F. **Assessment of aflatoxin intake in São Paulo, Brazil.** Department of Food Engineering, School of Animal Science and Food Engineering. University of São Paulo. Duque de Caxias Norte, 225, CEP 13635-900 Pirassununga, SP, Brazil 2013.

KIESSLING K. H., PETTERSSON H., SHOLM K, OLSEN M. **Metabolism of aflatoxin, ochartoxin, zeralenone, and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumenbacteria.** Appl Environ Microbiol, 1984.

Laboratório de Análises Micotoxicológicas – Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: < <https://www.lamic.ufsm.br/site/legislacoes/legislacao-outros-paises>>. Acesso em 09/03/2021.

LAMIAA, M. S.; AHLAM A. EL-L.; HUSSEIN, A. EL-M. **Prevalence of Aflatoxins M1 and M2 in some curd dairy products.** Alexandria Journal of Veterinary Sciences. AJVS. Vol. 61 (1): 140-145. April 2019. Disponível em < file:///C:/Users/Laura%20Magalh%C3%A3es/Downloads/PrevalenceofAflatoxinsM1andM2insomecurddairyproducts%20(1).pdf >

LEESON, S.; DIAZ,G.J.; SUMMERS, J.D. **Metabolic Disorders and Mycotoxins.** University Books. Canada. 1995.

MALLMANN, C. A.; DILKIN P.; GIACOMINI L. Z. RAUBER R. H. **Crítérios para seleção de um bom sequestrante para micotoxinas.** Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2006.

- MELLO, L. M. R. **Produção e mercado brasileiro de maçã.** 2004.
- MERKLEY, J. W.; MAXWELL, R. J.; PHILLIPS, J. G. HUFF, W. E. **Hepatic fatty acid profiles in aflatoxin-exposed broiler chickens.** Poultry Science, 1987.
- MIDIO, A. F.; MARTINS, D. I. **Toxicologia de alimentos.** São Paulo: Varela, 2000.
- MURPHY, P.A.; HENDRICH, S.; LANDGREN, C.; BRYANT, C.M. **Food Mycotoxins: An Update.** J. Food Scien. v.71. 2006.
- OBREMSKI, K.; ZIELONKA, L.; GAJECKA, M.; JAKIMIUK, E.; GAJECKI, M. **Mycotoxins - dairy cattlebreeding problem.** A case report. Bull Vet Inst Pulawy, 2009.
- OLIVEIRA, C. A. F.; SEBASTIÃO, L. S.; FAGUNDES, H.; ROSIM, R. E.; FERNANDES, A. M. **Determinação de aflatoxina B1 em rações e aflatoxina M1 no leite de propriedades do Estado de São Paulo.** Ciência e Tecnologia de Alimentos Campinas, 2010.
- OLIVEIRA, L. S. F.; KOLLER, F. F. C. **Ocorrência de Aspergillus spp. e aflatoxinas em amostras de amendoim in natura e paçocas.** Revista Científica Ambiental, vol. 5, n. 1, p. 57-68, 2011.
- OLIVEIRA, M. S. **Validação de metodologia analítica para análise de aflatoxina M1 e sua ocorrência no leite bovino comercializado no sul do Brasil.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFSM, 2010.
- PÁDUA, R.A.F.; MACHINSKI JÚNIOR, M. **Aspectos toxicológicos e ocorrência de patulina em suco de maçã.** Sem. Cienc. Agrar. v. 26. 2005.
- PATTONO, D.; GROSSO, A.; STOCCO, P. P., PAZZI, M.; ZEPPA, G. **Survey of the presence of patulin and ochratoxin A in traditional semi-hard cheeses,** 2013.
- PEREIRA, M. L.G.; CARVALHO, E. P.; PRADO, G. **Crescimento e produção de aflatoxinas por Aspergillus flavus e Aspergillus parasiticus.** B. Ceppa. v.20. 2002.
- PERES, T. B. **Noções básicas de cromatografia.** Biológico, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.
- PFOHL-LESZKOWICZ, A.; MANDERVILLE, R. A. **Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans.** Molecular Nutrition and Food Research, Weinheim, v. 51. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.200600137>>.
- PIER, A.C.; RICHARD, J.L.; CYSEWSKI, S.J. **Implications of mycotoxins in animal disease.** J. Am. Vet. Med. Assoc., Chicago, v.176. 1980.
- PINTO, V.E.F.; VAAMONDE, G. **Hongos productores de micotoxinas en alimentos.** Rev. Arg. Microb., Buenos Aires, v.28. 1996.
- PITT, J.I. **Toxigenic fungi and mycotoxins.** British Med. Bul. v.56. 2000.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; LIMA, A. S.; MOREIRA, A. P. A. **Ocorrência de aflatoxina M₁ em queijo parmesão consumido em Minas Gerais, Brasil.** Ciênc. agrotec. vol.32. Lavras Nov./Dez. 2008.

PRANDINI, A.; TANSINI, G.; SIGOLO, S.; FILIPPI, L.; LAPORTA, M.; PIVA, G. **On the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products.** Food Chem Toxicol. 2009.

RHEEDER, J. P.; MARASAS, W. F. O.; VISMER, H. F. **Production of fumonisin analogs by fusarium species.** Applied and Environmental Microbiology. 2002.

RICHARD, J.L.; MEERDINK, G.; MARAGOS, C.M.; TUMBLESON, M.; BORDSON, G.; RICE, L.G.; ROSS, P.F. **Absence of detectable fumonisins in the milk of cows fed *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg culture material.** Mycopathologia. 1996.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B.; SABINO, M. **Mycotoxin research in Brazil: the last decade in review.** Braz. J. Microbiol. v.33, 2002.

ROSMANINHO, J. F.; OLIVEIRA C. A. F.; BITTENCOURT, A. B. F. **Efeitos das micotoxicoses crônicas na produção avícola.** Arq. Inst. Biol. vol. 68, n. 2, p. 107-114, 2001.

SABINO, M.; PURCHIO, A.; ZORZETO, M.A.P. **Variations in the levels of aflatoxin in cows milk consumed in the city of São Paulo.** Food Additives and Contaminants, v.6, n.3, p. 321-326, 1989.

SANTOS, J. S.; FRANÇA, V. R.; KATTO, S.; SANTANA, E. HW. **Aflatoxina M₁ em leite UHT pasteurizado e leite em pó comercializado em Londrina, Brasil e estimativa de exposição.** ALAN vol.65 n° 3. Conjunto de Caracas. 2015.

SARAIVA, O. J. **Determinação da aflatoxinas m₁ em queijos coloniais comercializados na região vale do taquari –RS.** Dissertação de Mestrado, UFRS. 2017.

SARTORI, A. V. **Desenvolvimento, validação e aplicação de métodos analíticos para determinação de micotoxinas em leite, fórmulas infantis, alimentação infantil a base de cereais e amendoim por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial.** Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015.

SARTORI, A. V.; MATTOS, J. S.; MORAES, M. H. P.; NÓBREGA, A. W. **Determination of aflatoxins m₁, m₂, b₁, b₂, g₁, g₂ and ochratoxin a in uht and powdered milk by modified quechers method and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry.** Fundação Oswaldo Cruz. 2015.

SCOTT, P. M. **Methods for determination of aflatoxin M₁ in milk and milk products - a review of performance characteristics.** Food Additives and Contaminants, v. 6, n. 3, p. 283-305, 1989.

SCUSSEL, V.M. **Comparison of methods by TLC and HPTLC for determination of aflatoxin M₁ in milk and B₁ in eggs.** Cienc. Tecnol. Aliment. v.23. 2003.

SHUNDO, L.; SABINO, M. **Aflatoxin M1 in milk by immunoaffinity column cleanup with TLC/HPLC determination.** Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo, 2006.

SIGNORINI, M.L.; GAGGIOTTI, M.; MOLINERI, A.; CHIERICATTI, C.A.; BASÍLICO M.L. Z.; BASÍLICO, J.C.; PISANI, M. **Exposure assessment of mycotoxins in cow's milk in Argentina.** Food and Chemical Toxicology, v. 50, p. 250–257, 2012.

SILVEIRA, S.M.; MAIXNER, A.E.; FONTANA, F.Z.; ALMEIDA, C.A.; STEFANON, E.B.; SANTURIO, J.M.; MALMANN, C.A. **Determinação de aflatoxina B1 e M1 no fígado de aves.** Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino. Santa Maria, 1996.

SILVÉRIO, L. L. **Laboratório de Qualidade do Leite do IZ visa produto saudável e nutritivo combatendo as Micotoxinas.** Instituto de Zootecnia. São Paulo. 2015.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análisis Instrumental.** 5ª ed., Bookman: Porto Alegre, 2001.

SMITH, B. P. **Distúrbios provocados por substâncias tóxicas.** Medicina Interna de Grandes Animais. 3ª ed. Barueri: Manole, 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 10ª edição. Editora Artmed. 2012.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 4ª edição. Atheneu. São Paulo. 2004.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 6ª edição. Ed. Atheneu. São Paulo. 2015.

TUINSTRA, L. G. M.; ROOS, A. H.; VAN TRIJP, J. M. P. **Liquid chromatographic determination of aflatoxin M1 in milk powder using immunoaffinity columns for cleanup: interlaboratory study.** Journal of the Association of Official Analytical Chemists International, v. 76, n. 6, p. 1248-1254, 1993.

VAN EGMOND, H. P.; DEKKER, W. H. **Worldwide regulations for mycotoxins in 1994.** Natural Toxins, v. 3, n. 4, p. 332-336, 1995.

VECCHIA, A. D.; FORTES, R. C. **Contaminação fúngica em granola comercial.** Ciênc. Tecnol. Aliment. 2007.

VENÂNCIO R. L. **Ocorrência e sazonalidade de aflatoxina m1 em leite nas regiões de Londrina-PR e Castro-PR.** Londrina 2017.

VILAR, E.A.; OLIVEIRA, M.C.M.; STAMFORD, T.L.M. **Pesquisa micotoxicológica em fígado de aves produzidas e comercializadas em Pernambuco.** B. Ceppa. v.20, n.2. 2002.

WELKE, J. E.; HOELTZ, M.; DOTTORI, H. A.; NOLL, I. B. **Ocorrência, aspectos toxicológicos, métodos analíticos e controle da patulina em alimentos.** Cienc. Rural vol.39, Santa Maria. 2009.

YIANNIKOURIS, A.; JOUANY, J. P. **Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review.** *Animal Research*, v. 51, p. 81–99, 2002.

ZHENG, M. Z.; RICHARD, J. L.; BINDER, J.; **A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins.** *Mycopathologia*, 2006.