

Micotoxinas no milho e seu controle

As micotoxinas são substâncias químicas tóxicas, metabolitos secundários produzidos por fungos. As espécies de fungos produtoras de micotoxinas, que ocorrem com maior frequência nas nossas condições de campo e armazenamento do milho, são dos gêneros *Aspergillus* e *Fusarium*. No âmbito do Grupo Operacional QualiMilho, o INIAV está a implementar e validar métodos de detecção de micotoxinas.

Carla Brites, Ana Sanches Silva, Andreia Freitas,
Jorge Barbosa . INIAV, I.P.



Impacto das micotoxinas na cadeia agroalimentar

A FAO estimou que cerca de 25% das 'commodities' agrícolas estão contaminadas com micotoxinas. Foram já caracterizadas centenas de micotoxinas, contudo apenas algumas delas são tóxicas e motivo de preocupações para a saúde. As aflatoxinas, zearalenona (ZEA), desoxinivalenol (DON), fumosininas e ocratoxina A (OTA) são as mais frequentes e investigadas.

As contaminações com fungos e micotoxinas podem ocorrer no campo e após a colheita durante o armazenamento. Devido às condições propícias e específicas para o desenvolvimento das diferentes espécies de fungos produtoras de micotoxinas, as fumosininas, ZEA e DON surgem principalmente no campo, enquanto as aflatoxinas e a OTA ocorrem durante o armazenamento (Tabela 1).

De facto, a contaminação dos alimentos e rações com micotoxinas tóxicas representa um perigo para a saúde humana e animal. A grande variabilidade na estrutura molecular das micotoxinas explica os diferentes níveis de toxicidade e também dos sintomas clínicos observados em humanos e animais. Geralmente, as micotoxinas são mutagénicas, carcinogénicas, teratogénicas, estrogénicas e imunossupressoras.

As principais micotoxinas, limites legais

Existem limites máximos para diferentes micotoxinas nos alimentos. Na Europa, existem limites máximos estipulados pelo Regulamento (CE) n.º 1831/2003 e suas alterações. Os valores mais restritivos são para os alimentos para bebés e lactentes, seguindo-se os cereais e produtos à base de cereais (incluindo milho e produtos de milho) para consumo humano direto.

O milho, para ser classificado para a alimentação humana, tem como limites máximos: 4000 µg/kg para as fumosininas; 1750 µg/kg para DON; 5 µg/kg para aflatoxina B₁; 10 µg/kg para aflatoxinas totais; 5 µg/kg para OTA; e 350 µg/kg para zearalenona (Tabela 2).

Amostragem

A distribuição das micotoxinas nos grãos de milho é muito heterogênea, as concentrações estipuladas para os limites máximos são muito baixas, portanto, para garantir a reprodutibilidade dos resultados analíticos importa implementar um plano de amostragem eficaz. O plano de amostragem tem muito impacto para o controle, dado que vários estudos têm demonstrado que com apenas um grão de milho contaminado se podem atingir valores próximos dos limites máximos de micotoxinas estipulados.

Existem normas Europeias e recomendações da Comissão dos Contaminantes Alimentares do *Codex Alimentarius* para os planos de amostragem para análises de micotoxinas. Devem-se retirar, aleatoriamente, várias porções incrementais do lote e misturar de forma a obter uma amostra agregada ou global de pelo menos 5 kg, que deve ser limpa e homogeneizada por trituração. A homogeneização por trituração significa que toda a amostra global deve ser moída e a farinha tem de passar por um crivo de 1 mm. Depois da moenda, o moinho deve ser limpo para evitar contaminações cruzadas. As análises das micotoxinas devem realizar-se em 3 porções (repetições) de 50 g retiradas aleatoriamente da farinha

completamente homogeneizada. As amostras devem analisar-se o mais rapidamente possível, evitar a exposição à luz, assim como a temperaturas e humidades que favoreçam o crescimento de fungos.

Métodos de análise

A análise das micotoxinas é muito sensível, a maioria dos métodos de análise contempla etapas de preparação da amostra em que a matriz complexa é homogeneizada e as micotoxinas são solubilizadas. As micotoxinas são assim extraídas e purificadas. Utilizam-se técnicas de extração líquido-líquido e líquido-sólido. Nestas, recorre-se à solubilidade das micotoxinas num solvente apropriado, depois os extratos finais são concentrados num evaporador sob corrente de azoto. Posteriormente, diferentes abordagens analíticas poderão vir a ser utilizadas para a detecção de micotoxinas individuais ou em mistura.

Para a quantificação das micotoxinas, existem métodos de referência que são basicamente sistemas cromatográficos com diferentes tipos de detecção, nomeadamente a cromatografia com detetor UV ou fluorescência (HPLC-UV, HPLC-FD) e, mais recentemente, acoplada a detetor de massa (LC-MS/MS). Os sistemas mais recentes de alta resolução são necessários para garantir a elevada sensibilidade e reprodutibilidade que a determinação das micotoxinas requer. Contudo, os métodos de referência exigem conhecimento científico, técnicos especializados, equipamento sofisticado, são dispendiosos e a sua implementação é demorada. Para fazer face às dificuldades de im-

TABELA 1 – TIPOS DE MICOTOXINAS MAIS FREQUENTES NO MILHO, ESPÉCIES DE FUNGOS PRODUTORES E SUA PRINCIPAL OCORRÊNCIA

Tipo de micotoxina	Espécies de fungos produtores (A. – <i>Aspergillus</i> ; F. – <i>Fusarium</i>)	Principal ocorrência
Aflatoxinas	<i>A. flavus</i> ; <i>A. parasiticus</i>	Armazenamento
Ocratoxina A (OTA)	<i>A. ochraceus</i> ; <i>A. carbonarius</i> ; <i>Penicillium verrucosum</i>	Armazenamento
Desoxinivalenol (DON)	<i>F. culmorum</i> ; <i>F. graminearum</i>	Campo
Zearalenona (ZEA)	<i>F. culmorum</i> ; <i>F. graminearum</i>	Campo
Fumonisinas	<i>F. verticillioides</i> ; <i>F. proliferatum</i> ; <i>F. moniliforme</i>	Campo

TABELA 2 – LIMITES MÁXIMOS DE MICOTOXINAS PARA O MILHO DESTINADO À ALIMENTAÇÃO HUMANA E DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EUROPEIA

	Micotoxinas [$\mu\text{g}/\text{kg}$] – Alimentação humana				
	Fumonisinás	DON	Aflatoxinas	OTA	ZEA
Milho não transformado*	4000	1750	5 (B1) 10 (total)	5	350
Frações moagem de milho (não consumo humano direto)	$\leq 500 \mu\text{m}$	2000	–	–	300
	$> 500 \mu\text{m}$	1400	–	–	200
Cereais para consumo humano direto	1000 (à base de milho) 800 (cereais p. almoço)	750 (farinhas) 500 (pão)	2 (B1) 4 (total)	3	75
Alimentos para lactentes e crianças jovens	200	200	0,1	0,5	20

Fonte: Reg CE n.º 1831/2006 consolidado

* Teores máximos não se aplicam ao milho não transformado destinado à moagem por via húmida (produção de amido)

plementação de métodos de referência para a despistagem das micotoxinas, torna-se necessário adotar métodos mais simples e rápidos de triagem para uma primeira seleção de amostras positivas. Os princípios básicos dos métodos de triagem utilizam ensaios imunoenzimáticos (ELISA), técnicas de detecção de fluxo lateral (LFD), polarização e outros imunoenzaídeos. No entanto, sob condições de campo, é necessário implementar técnicas expeditas para monitorizar 'just-in-time' e a pesquisa dirige-se para métodos emergentes que utilizam biossensores, infravermelhos, a polarização e os narizes eletrónicos. Após a detecção, torna-se necessário analisar os dados e interpretar os resultados (Figura 1).

solvente acetonitrilo a 80% (v/v) (Figura 2). Paralelamente, implementou-se um outro método rápido semi-quantitativo de triagem por imunoenzaio, o qual foi validado satisfatoriamente para despiste das amostras positivas (Figura 3).

gem por imunoenzaio, o qual foi validado satisfatoriamente para despiste das amostras positivas (Figura 3).

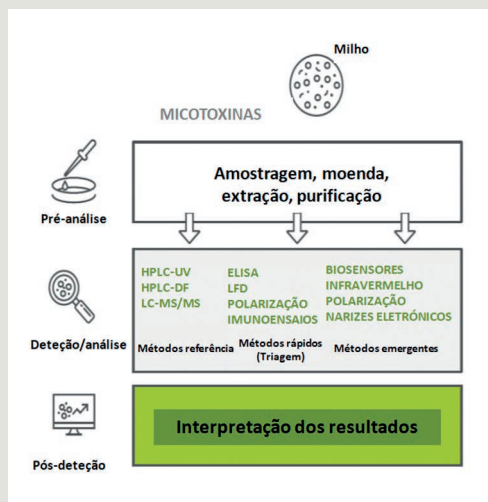


Figura 1 – Esquema representativo dos procedimentos necessários e técnicas analíticas disponíveis para a detecção de micotoxinas no milho

No âmbito do grupo operacional QualiMilho, o INIAV implementou e validou um método de referência por cromatografia líquida de elevada resolução acoplada a detector de massa com analisador por tempo de voo (UHPLC-ToF-MS) para quantificar as aflatoxinas B₁, B₂, G₁, G₂, OTA, toxina T₂, ZEA e fumonisinás B₁ e B₂. A técnica de extração sólido-líquido foi adotada com o

NOVA SÉRIE 6 RSHIFT.
MUDANÇA DE VELOCIDADE
COM O MAIS ALTO CONFORTO.

DEUTZ-FAHR DIESEL

Série 6 Agrotron. Disponível com a nova transmissão robotizada comfortshift.

Para muitos clientes, o modo de operar o trator e uma transmissão confortável e fácil de utilizar têm uma importância crucial. Com a nova Série 6 RShift (seis modelos com potência entre os 156 e os 226 HP), a DEUTZ-FAHR redefiniu o conceito de mudança de velocidade confortável neste segmento de potência.

A nova transmissão RShift totalmente automática permite mudar de velocidade com o mesmo conforto de um automóvel. Três modos de condução podem ser pré-selecionados: manual, semiautomático para as operações de campo e totalmente automático para o transporte em estrada. A velocidade máxima de 50 km/h pode ser atingida num regime de rotação reduzido do motor (1.480 rpm) no modo ECO ou SUPERECO. Os novos motores Deutz 6.1 Tier4 Final são extremamente eficientes. A suspensão do eixo da frente em conjunto com o exclusivo conceito de travões DEUTZ-FAHR asseguram uma condução em total segurança. No que se refere à cabina pode escolher entre os modelos MaxiVision ou MaxiVision 2. Para alcançar um nível superior em velocidade e conforto, contacte o seu concessionário DEUTZ-FAHR ainda hoje.

Para descobrir mais visite deutz-fahr.com.

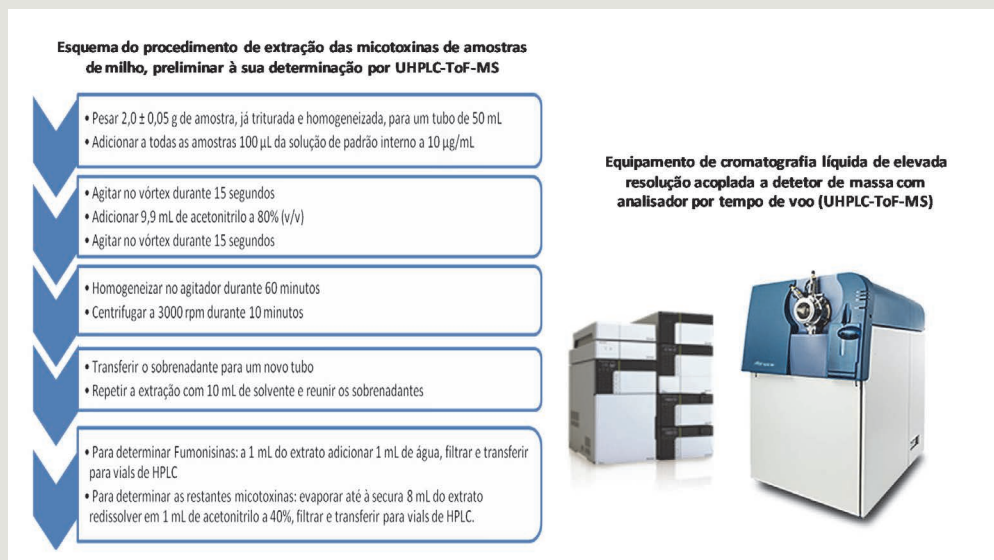


Figura 2 – Esquema do procedimento de preparação da amostra para a quantificação de micotoxinas por cromatografia líquida de elevada resolução acoplada a detetor de massa com analisador por tempo de voo (UHPLC-ToF-MS) e foto do respetivo equipamento

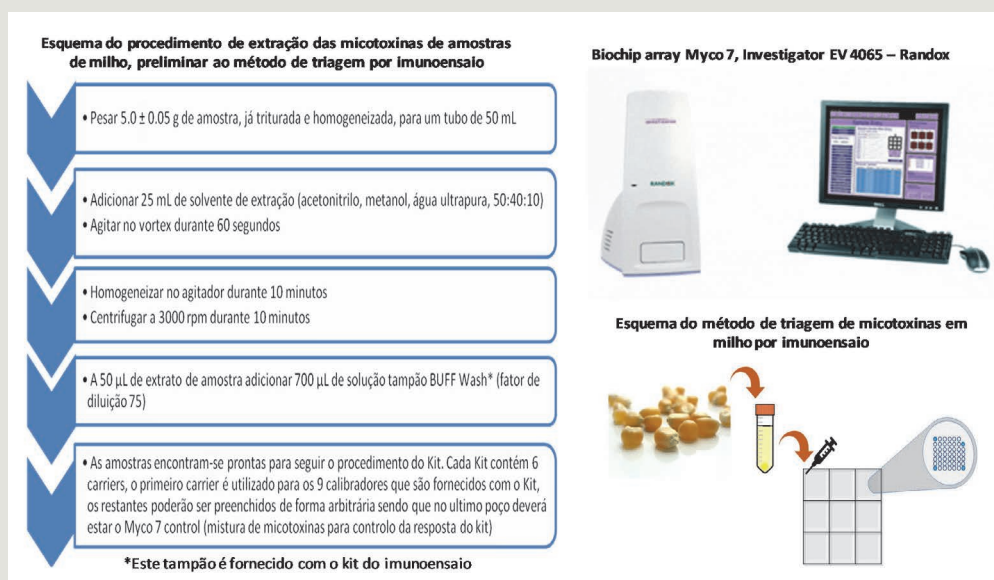


Figura 3 – Esquema do procedimento de preparação da amostra para a triagem de micotoxinas por imunoensaio com o equipamento Randox, foto do equipamento e representação do procedimento

Prevenção e redução das micotoxinas

As micotoxinas são compostos quimicamente estáveis, resistem às altas temperaturas durante o processamento dos alimentos, podendo encontrar-se nas matérias-primas e produtos alimentares armazenados a longo prazo.

A estratégia de prevenção e redução das micotoxinas é complexa, envolve ações a aplicar no campo, após a colheita e durante o armazenamento.

A utilização de boas práticas de gestão no campo, nomeadamente a escolha adequada da cultura precedente, o conveniente tratamento dos resíduos, a redução dos fungos patogénicos no solo, a escolha da variedade de acordo com as classes de risco, a prote-

ção da cultura ao ataque de insetos e a antecipação da colheita são possíveis ações para reduzir os desafios associados à contaminação da cultura por micotoxinas.

As ocorrências de micotoxinas dependem das condições de humidade e temperatura após a colheita, devendo evitar-se a pré-armazenagem de grão húmido e a secagem deve ser eficiente de modo a não danificar a estrutura do grão. A secagem eficiente é um fator muito relevante, porque os grãos partidos ficam mais vulneráveis ao ataque de insetos que são vetores de fungos produtores de micotoxinas. O grão deve ser convenientemente limpo antes de armazenado. Durante o armazenamento, é essencial controlar a temperatura e humidade, e a circulação do grão poderá vir a

ser necessária para garantir a estabilidade sanitária.

Nota final

É importante destacar que o aquecimento global, e nomeadamente o aumento da temperatura previsto para as regiões temperadas da Europa, é um risco potencial para a ocorrência de micotoxinas, especialmente espécies de *Fusarium* produtoras de fumonisinas. Daí que o INIAV, juntamente com a ANPROMIS e os restantes parceiros do grupo operacional QualiMilho, esteja a testar diferentes técnicas para prevenir a disseminação de fungos tóxicos no milho. 🍷



Novas estratégias de integração sustentáveis que garantam a qualidade e segurança na fileira do milho nacional, PDR2020 nº 101-031295.

