

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Ocratoxina A em alimentos e bebidas: uma revisão bibliográfica

Thamara de Lemos Duarte

Porto Alegre

2010/2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Ocratoxina A em alimentos e bebidas: uma revisão bibliográfica

Thamara de Lemos Duarte

Monografia apresentada ao Curso de Graduação  
em Engenharia de Alimentos para a obtenção do  
título de Engenheiro de Alimentos.

Orientadora: Michele Hoeltz

Porto Alegre

2010/2

Ocratoxina A em alimentos e bebidas: uma revisão bibliográfica

Thamara de Lemos Duarte  
Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

.....  
Michele Hoeltz (Orientadora)  
Doutora Microb. Agríc. e do Amb.  
UFRGS

.....  
Juliane Elisa Welke  
Ms. Ciência e Tecnologia de Alimentos  
UFRGS

.....  
Isa Beatriz Noll  
Doutora em Ciência de Alimentos  
UNICAMP

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus pela vida.

Aos meus pais por toda compreensão, dedicação e por sempre priorizarem meus estudos.

Ao meu namorado, Rodrigo, por ser o meu apoio, grande incentivador e por toda sua paciência.

Aos meus amigos por me ajudarem a descontrair mesmo em momentos difíceis.

Aos colegas, aos que já se formaram, aos que ainda vão se formar, pela amizade. Em especial as amigas Giuliana, Taciana e Pâmela que nos últimos anos me acolheram e se tornaram parte indispensável da minha vida: obrigada por todas as risadas e todos os outros momentos que passamos juntas.

Aos professores e funcionários do ICTA, pelo ensinamento, pela dedicação e alegria.

À Prof. Isa, Michele e Juliane, pela orientação e ensinamentos durante esse trabalho .

## RESUMO

Micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos em diferentes etapas dos manejos pré e pós-colheita. Entre as micotoxinas conhecidas atualmente, destaca-se a ocratoxina A, pela sua característica carcinogênica, nefrotóxica e teratogênica em animais, além de um possível carcinógeno humano. A sua presença em qualquer alimento ou bebida é indesejável, tanto do ponto de vista da saúde quanto economicamente. O Brasil é um grande produtor e consumidor de alimentos e bebidas comumente contaminados por esta micotoxina, destacando-se o café, a uva e seus derivados e alguns cereais. Além da questão da saúde pública, a contaminação desses produtos constitui um sério problema para as exportações uma vez que, países importadores têm limites regulatórios definidos, os quais até o momento, o Brasil não dispõe. Uma das características marcantes da ocratoxina A é sua estabilidade à maioria dos processamentos utilizados na fabricação dos mais variados alimentos e bebidas e sua eliminação total é impraticável. Por isso, a prevenção da contaminação fúngica e conseqüente formação da micotoxina é a principal forma de evitar possíveis problemas econômicos e para a saúde dos consumidores.

Palavra-chave: ocratoxina; fungos; alimentos.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>2. OBJETIVO</b> .....	9
<b>3. MÉTODO DE ESTUDO</b> .....	10
<b>4. MICOTOXINAS</b> .....	11
<b>5. OCRATOXINAS</b> .....	16
5.1 CARACTERÍSTICA QUÍMICA DA OCRATOXINA A .....	16
5.2 TOXICIDADE DA OCRATOXINA A.....	17
5.3 FUNGOS E FATORES QUE FAVORECEM A PRODUÇÃO DE OTA ..	20
5.4 OCRATOXINA A EM ALIMENTOS.....	21
5.4.1. Aspectos relacionados à contaminação do café .....	21
5.4.2. Aspectos relacionados à contaminação da uva e seus derivados ..	24
5.4.3. Aspectos relacionados à contaminação da cerveja .....	26
5.4.4. Aspectos relacionados à contaminação do arroz.....	28
5.5 ASPECTOS REGULATÓRIOS E LEGISLAÇÃO .....	29
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	33
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b> .....	34

## 1. INTRODUÇÃO

O interesse pelos fungos e pelas micotoxinas é grande tanto do ponto de vista científico, como da perspectiva da economia e da saúde pública. Entre as conseqüências da contaminação micotoxicológica de alimentos e bebidas estão as perdas diretas dos produtos agrícolas, a redução do valor nutricional dos produtos, as patologias animais, os possíveis danos em longo prazo à saúde humana e o comprometimento das relações comerciais entre países.

Entre as muitas micotoxinas conhecidas, a Ocratoxina A é especialmente importante devido aos seus efeitos tóxicos, sendo considerada possivelmente carcinogênica ao ser humano e, também ao fato de ocorrer em diversos produtos destinados à produção de alimentos e bebidas.

Embora os cereais, em geral, sejam considerados os alimentos com maior incidência de ocratoxina A, outros produtos vem merecendo destaque em função de apresentarem relevante contaminação por esta micotoxina, tais como o café, a uva e seus derivados e o arroz.

A preocupação quanto aos possíveis efeitos causados pela ingestão de produtos contaminados com ocratoxina A é um fenômeno mundial, fazendo com que alguns países estabeleçam limites máximos permitidos em alimentos e bebidas através de legislações específicas.

No Brasil, embora sabidamente fungos e micotoxinas sejam responsáveis por expressivos prejuízos na produção de grãos, não existem estimativas das perdas econômicas associadas às micotoxinas, sendo também escassos os dados epidemiológicos sobre danos causados em seres humanos pelo consumo de produtos contaminados por Ocratoxina. Assim, há a necessidade de um maior esforço em busca desse conhecimento, visto que o país é um grande produtor e exportador de alimentos passíveis de contaminação por esta micotoxina.

Além dos efeitos prejudiciais à saúde humana e animal decorrente do consumo de produtos contaminados com ocratoxina A, existe a preocupação com questões relacionadas ao comércio desses produtos entre países, uma vez que a legislação não é única entre as nações. Considerando os diversos fatores relacionados à presença de ocratoxina A em alimentos e bebidas, avalia-se como relevante a elaboração de uma revisão bibliográfica, tornando o trabalho uma nova fonte de pesquisa sobre o assunto.



## **2. OBJETIVO**

O objetivo desse trabalho foi fazer uma revisão bibliográfica sobre os diversos fatores relacionados à presença de ocratoxina A em alimentos e bebidas, destacando a sua toxicidade, os principais produtos contaminados e aspectos regulatórios.

### **3. MÉTODO DE ESTUDO**

O levantamento bibliográfico foi realizado entre julho e novembro de 2010. Para a pesquisa foi utilizada principalmente a base de dados disponível no Portal de Periódicos da Capes (<http://www.periodicos.capes.gov.br/portugues/index.jsp>). Além disso, a busca foi estendida a teses, dissertações e artigos brasileiros disponíveis no portal do Google (<http://www.google.com.br/>) e em material impresso que faz parte do acervo da Biblioteca do ICTA/UFRGS.

#### 4. MICOTOXINAS

O termo micotoxina é originado da palavra grega “mikes”, que significa fungo e da latina “Toxicum”, que significa toxina (SCUSSEL, 1998). As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos, que têm sido associadas a efeitos patológicos em animais e humanos (TURNER et. al., 2009).

Estes metabólitos compreendem uma grande variedade de estruturas, inclusive algumas relativamente simples e ocorrem em micélios de fungos (COSTA, GERMANO, GERMANO, 2005).

Apesar de serem conhecidas há muito tempo, o estudo sobre as micotoxinas aumentou consideravelmente após o incidente ocorrido em 1960, na Inglaterra, envolvendo a morte de mais de 100.000 aves alimentadas com ração contaminada pelo fungo *Aspergillus flavus* (TANIWAKI & SILVA, 2001).

Diversos fungos já foram testados em laboratório buscando a detecção da produção de micotoxinas. As principais espécies produtoras pertencem aos gêneros *Alternaria* sp (muitas espécies), *Aspergillus* sp (mais de vinte espécies), *Chaetomium globosum*, *Cladosporium* sp (pelo menos duas espécies), *Claviceps* sp (pelo menos duas espécies), *Fusarium* sp (pelo menos seis espécies), *Gibberella zea*, *Paecilomyces variota* (*Byssochlamys fulva*), *Penicillium* sp (mais de quinze espécies), *Myrothecium* sp (pelo menos duas espécies), *Phoma herbarium*, *Pithomyces chartarum*, *Rhizopus oryzae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Stachybothys atra* e *Trichoderma lignorum* (SCUSSEL, 2000).

No entanto, os gêneros fúngicos mais freqüentemente relacionados à produção de micotoxinas em cereais, grãos e sementes são *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp e *Fusarium* sp (COSTA, GERMANO, GERMANO, 2005).

Considerando-se a produção de micotoxinas em alimentos, é importante realçar que nem todas as cepas da mesma espécie são toxigênicas. A presença de fungos toxigênicos em alimentos não confirma a presença de micotoxinas, mas sim a

possibilidade de contaminação. Por outro lado, a ausência de fungos viáveis, não garante que o alimento esteja livre destes compostos, pois estas toxinas permanecem por um longo tempo, após o fungo ter perdido a sua viabilidade (COSTA, GERMANO, GERMANO, 2005).

A contaminação dos alimentos e rações por micotoxinas é potencialmente perigosa para a saúde de homens e animais (KRUGER, 2006), sendo o efeito patológico resultante da ingestão dessas substâncias chamado de micotoxicose (SCUSSEL, 1998).

A ingestão de produtos contaminados é considerada um problema de saúde pública e que assume proporções econômicas à medida que prejudica a produção animal e vegetal (SOARES, 1997).

A produção de micotoxinas por fungos filamentosos é freqüentemente um processo aditivo que pode ocorrer nas mais variadas etapas do pré e pós-colheita de produtos agrícolas, por exemplo: plantio, colheita, armazenamento da matéria-prima, processamento, embalagem e comercialização final. Além disso, a composição química do produto pode influenciar de maneira marcante o grau e tipo de contaminação (GARDA, 2002).

O controle da produção desses compostos tóxicos é uma etapa muito complexa, visto que envolve uma grande variedade de estruturas químicas, em diferentes substratos e variadas operações de processamento. Não há modelo seguro e de solução definitiva para a prevenção e controle das micotoxinas, mas as medidas preventivas devem ser estendidas a todas as etapas da produção (CAST, 2003; TANIWAKI & SILVA, 2001).

Mesmo em produtos que a contaminação não seja evidente, é importante estar atento às implicações do crescimento fúngico, mantendo programas de controle e garantia de qualidade das matérias-primas e produtos acabados. Cabe ressaltar, que é comum a ocorrência de sucessão fúngica podendo o agente etiológico primário de deterioração morrer após um período de multiplicação, sendo substituído por outra microbiota, porém, a micotoxina quando produzida, poderá ser detectada (TANIWAKI & SILVA, 2001).

Conhecer os fungos e entender como, onde e por que eles crescem é necessário para aqueles que trabalham com grãos e sementes armazenados, pois um dos principais requisitos para um bom armazenamento é a prevenção de crescimento desses microrganismos. Os fungos podem afetar a aparência e a qualidade das sementes e grãos para quase todos os propósitos para os quais são utilizados (CHRISTENSEN & KAUFMANN, 1969).

Os principais fatores que governam o desenvolvimento de fungos e conseqüentemente a produção de micotoxinas são (TANIWAKI & SILVA, 2001; SCUSSEL, 1998):

- Umidade Relativa: dependendo da umidade presente no alimento e da presente no ambiente, haverá ganho ou perda de umidade do produto, favorecendo ou impedindo a proliferação de fungos. A umidade relativa mínima onde os fungos crescem é de 70%, e a umidade relativa ótima é de 80-85%, mas eles também podem crescer a uma umidade relativa de 90-100%.
- Temperatura: o crescimento de fungos é afetado pelas variações de temperatura, porém as temperaturas ótimas de crescimento dos fungos não são necessariamente as mesmas de produção de micotoxinas. Os maiores índices de contaminação em alimentos se encontram nas regiões tropicais e semi tropicais, onde o clima favorece a produção de fungos toxigênicos.
- Atividade de água (aa): a produção de toxinas pode ocorrer na faixa de aa entre 0,70-0,90. Alguns podem sobreviver em produtos com aa tão baixa quanto 0,60, mas 0,70 é o mínimo necessário para o crescimento de fungos de armazenamento.

Um método de controle em condições de armazenamento envolve redução do teor de umidade dos grãos ( $\leq 15\%$ ), para atingir uma atividade de água segura e assim, diminuir o crescimento de fungos e a produção de micotoxinas (COSTA, GERMANO, GERMANO, 2005).

O uso de boas técnicas de cultivo e manejo das culturas no campo que inviabilizem o crescimento fúngico e/ou diminua a possibilidade do seu desenvolvimento é um fator importante na pré-colheita (KRUGER, 2006), bem como a utilização de equipamentos ajustados para operar adequadamente, produzindo o menor dano mecânico possível nos grãos (TANIWAKI & SILVA, 2001).

Procedimentos como a colheita dos cereais imediatamente após a maturação fisiológica, deixando-os menos expostos às intempéries pode ser a primeira indicação para a manutenção da qualidade dos grãos na pós-colheita (DILKIN, 2002).

O beneficiamento de grãos constitui, em determinados casos, uma forma de reduzir a contaminação micotoxicológica. Em grãos, tais como a cevada, a fermentação pode ser um bom sistema para diminuir a concentração de determinadas micotoxinas. Neste caso a bebida produzida e o mosto resultante podem ser utilizados para consumo humano e ração animal (GARDA, 2002).

Atualmente, o desenvolvimento de processos biotecnológicos tem trazido benefícios para a indústria de alimentos e para o consumidor. Desde o desenvolvimento da tecnologia da fermentação até os produtos derivados da manipulação genética, buscando oferecer alimentos cada vez mais seguros (BIGELIS, 1992; BENNETT & KLICH, 2003; FAO, 2001).

Conforme BATISTA & FREITAS (2000) cerca de 300 micotoxinas já foram isoladas, mas as mais encontradas em alimentos e que vêm merecendo maior atenção por seus efeitos tóxicos são: aflatoxinas, ocratoxina A, fumonisinas, zearalenona, tricotecenos e patulina.

As etapas necessárias para se fazer o isolamento das micotoxinas segundo FURLANI & SOARES, 1999 são:

- Amostragem;
- Extração;
- Limpeza;
- Separação;

- Detecção;
- Quantificação;
- Confirmação da identidade.

Devido às estruturas variadas destes compostos não é possível usar uma técnica padrão para detectar todas as micotoxinas, porque cada uma exigirá um método diferente, dependendo das propriedades físicas e químicas (TURNER, 2009).

## 5. OCRATOXINAS

A Ocratoxina A (OTA) vem merecendo atenção no cenário nacional e internacional devido à sua toxicidade e ocorrência. Ela tem sido encontrada em diferentes alimentos e bebidas, o que pode, entre outras coisas, dificultar a comercialização dos produtos entre países.

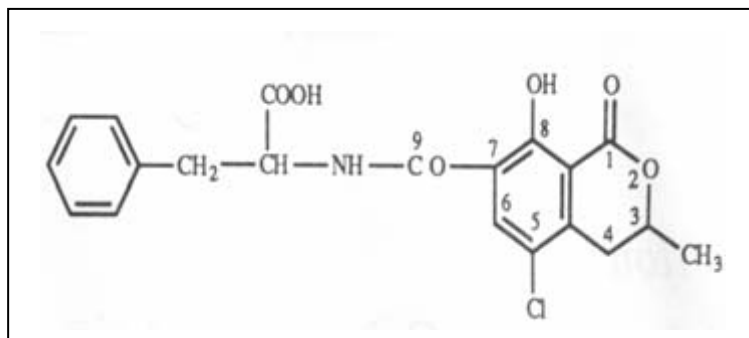
### 5.1 CARACTERÍSTICA QUÍMICA DA OCRATOXINA A

Segundo SCUSSEL (1998), o grupo das ocratoxinas divide-se em Ocratoxina A (OTA), Ocratoxina B e Ocratoxina C. Quimicamente, são compostos que apresentam uma  $\beta$ -fenilalanina ligada a uma isocumarina por ligação amida. A OTA apresenta fluorescência verde e uma molécula de Cloro na fórmula (radical R1), responsável pelo caráter tóxico. A ocratoxina B, fluorescência azulada, não revela toxicidade pela ausência de molécula de Cloro. A ocratoxina C com fluorescência verde, constitui um etil éter da OTA, sendo muito menos tóxica que a outra.

A OTA apresenta alta solubilidade em solventes orgânicos polares e solubilidade moderada em solução aquosa de bicarbonato de sódio; exhibe adsorção UV:  $\lambda_{\text{MeOHmax}} = 333\text{nm}$ . Possui emissão máxima em fluorescência a 428 e 467 nm em etanol 64 absoluto e etanol (96%), respectivamente. Apresenta caráter de ácido fraco, com valores de pKa de 4,2-4,4 para o grupo carboxila da fenilalanina e 7,0 - 7,3 para o grupamento hidroxila da isocumarina (NUNES, 2008).



A estrutura da OTA é um derivado diidro- isocumarínico ligado através de seu grupo 7- carboxílico à L-β-fenilalanina por um grupo amida como pode ser observado na figura 1 (RINGOT et. al., 2006)



**Figura 1:** Estrutura química da ocratoxina A (7-carboxi-5-cloro-8-hidroxi- 3,4-dihidro- 3- metil-isocumarina ligado através do grupo 7- carboxílico por um ligante amida a L-fenilalanina.

A OTA tem também como uma importante característica, a estabilidade térmica e a resistência ao tratamento térmico. Sendo estável em alimentos contaminados e estocados, podendo ser recuperada da amostra contaminada, cerca de 45% da toxina decorridos três meses de armazenamento. Mesmo sendo a OTA pura foto-sensível, o efeito da luz sobre as toxinas aderidas aos cereais tem pouca importância, os níveis verificados em amostras estocadas no escuro ou não são similares. Isso indica que a remoção das ocratoxinas de alimentos e bebidas pode ser muito difícil, tendo como melhor forma de proteção, a prevenção da formação das toxinas (KRUGER, 2006).

## 5.2 TOXICIDADE DA OCRATOXINA A

A principal via de contaminação da OTA é o trato gastrointestinal, sendo a micotoxina absorvida lentamente ao longo do percurso. Na maioria das espécies ocorre primariamente uma absorção no estômago, como consequência de suas características ácidas, seguindo-se uma absorção lenta, a nível intestinal. Já no

sangue, ela encontra-se fortemente ligada às proteínas plasmáticas. Esta ligação será determinante para a persistência da micotoxina no sangue e, portanto, para a sua toxicidade. A fração ligada a macromoléculas constitui um reservatório da micotoxina que permite libertá-la para os tecidos durante um longo período de tempo. Também a alta afinidade para as proteínas séricas retarda a eliminação da micotoxina pelo organismo, aumentando o seu tempo de meia-vida. De acordo com alguns estudos só uma pequena percentagem de OTA é que permanece livre na corrente sanguínea (NOGUEIRA & OLIVEIRA, 2006).

As propriedades toxicocinéticas e toxicodinâmicas da OTA foram revisadas por RINGOT, et. al. (2006), indicando a OTA como um modulador de sinalização celular e não uma toxina clássica. Interações por meio de ligações específicas interferindo na via metabólica clássica da fenilalanina (provocando alterações nas vias metabólicas dos carboidratos). A inibição da síntese de proteínas é considerada o maior efeito tóxico da OTA, porém, existem outros efeitos como a peroxidação de lipídeos, alterações no DNA e desmembramento do cálcio na homeostasia. A inibição da cadeia respiratória é outro efeito da OTA. A elucidação dos mecanismos de genotoxicidade e formação de adução no DNA ainda são obscuras e confusas. Efeitos na apoptose e transdução de sinais com conseqüente morte celular têm sido demonstrados em vários estudos, principalmente, em casos de toxicidade aguda.

A OTA é primeiramente uma nefrotoxina e tem ação teratogênica e mutagênica, sendo o fígado seu alvo secundário (SOARES, 1997). Em humanos, tem sido implicada na nefropatia endêmica dos Bálcãs, doença degenerativa da função renal, com altos níveis de contaminação por OTA nos alimentos daquela região (SOARES, 1997). É caracterizada por progressiva redução das funções renais, sendo também suspeita de causar câncer no trato urinário e danos nos rins dos europeus, pois praticamente todos eles apresentam alguma concentração de OTA em seu sangue. Apesar dos estudos consideráveis feitos até o momento, não existem conclusões definitivas sobre o envolvimento da OTA nos danos aos rins e ao câncer do trato urinário em humanos, porém a reavaliação da IARC classificou esse composto como um possível cancerígeno humano (IARC, 1993).

Devido à ocorrência da OTA em uma grande variedade de alimentos, a sua presença no sangue humano tem sido sugerida como um indicador para avaliar

indiretamente a sua exposição. Análises em amostras de soro humano em muitos países têm revelado que o sangue de pessoas saudáveis freqüentemente contém OTA, o que poderia inferir uma difundida e confirmada exposição (KRUGER, 2006).

Ela já foi encontrada em tecidos animais, principalmente no músculo, rins e gorduras de porco, e nos músculos e ovos de frangos. Nos suínos ocorrem o aumento dos rins e a modificação da cor, podendo ocorrer também o decréscimo de peso, sendo as aves afetadas de maneira similar, com decréscimo na taxa de crescimento e de produção de ovos. As vacas contaminadas com níveis maiores do que 800 ppm podem apresentar decréscimo no desempenho, redução na produção de leite, problemas nos rins e morte. (SCUSSEL, 1998; TANIWAKI & SILVA, 2001; JOBIM, GONÇALVES, SANTOS, 2001).

É importante salientar que as absorções de OTA são maiores em pH ácido. Desta forma, a toxicidade em ruminantes é relativamente baixa, devido à ação da microflora ruminal sobre as micotoxinas (JOBIM, GONÇALVES, SANTOS, 2001).

Alguns estudos mostram que pequenas quantidades de OTA possam suportar o processamento e o metabolismo em suínos e aves, mas é improvável que esta possa ser detectada em leite ou em carne bovina (FREIRE et.al., 2007). Ela pode afetar também a proteção natural do organismo, podendo os danos causados por esta toxina ser cumulativos estando diretamente ligados ao período silencioso da doença, que é longo, até o aparecimento repentino dos sintomas (KRUGER, 2006).

As micotoxinas podem provocar o aumento da glicemia com o acúmulo de glicogênio no fígado ao inibir a ativação de diferentes enzimas participantes do metabolismo do glicogênio e da glicose, como a fosforilase-quinase, enzima chave na gliconeogênese renal, exercendo um efeito negativo neste processo. As lesões dos rins estão relacionadas com a perda de atividade de diversas enzimas do túbulo contornado proximal. A OTA provoca a liberação de alanina-aminopeptidases e leucina-aminopeptidases, como resultado da inibição do transporte aniônico e, também inibe a enzima fosfoenolpiruvatocarboxinase, bloqueando, assim, a gliconeogênese nos rins. A inibição da síntese protéica ocorre com o bloqueio da fenilalanina-tRNA sintetase após agregar-se ao grupo L-fenilalanina da OTA (KRUGER, 2006).

A distribuição da OTA pelos tecidos dos animais varia com a via de introdução, com o tempo decorrente da sua entrada no organismo e com a perfusão sanguínea do órgão atingido. Análises avaliaram algumas diferenças neste sentido em ratos e os resultados indicaram que existe maior possibilidade de retenção de resíduos em órgãos com menor perfusão como pele, músculos, gordura, olhos e certas glândulas (GALTIER, 1991).

### 5.3 FUNGOS E FATORES QUE FAVORECEM A PRODUÇÃO DE OTA

Em 1965 foi a primeira vez que a OTA foi descrita como metabólito do *Aspergillus ochraceus*. Logo após, foi confirmada como metabólito de diferentes espécies do gênero *Aspergillus* (*A. alliaceus*, *A. auricomus*, *A. carbonarius*, *A. citricus*, *A. ostianus*, *A. sulphureus*, *A. fonsecaeus*, *A. petrakii*, *A. glaucus*, *A. melleus* e *A. niger*). Mesmo sendo indicadas nas primeiras pesquisas diversas espécies do gênero *Penicillium* como produtoras de OTA, sabe-se atualmente que uma única espécie, o *P. verrucosum*, é responsável pela produção dessa micotoxina (NOGUEIRA & OLIVEIRA, 2006).

A produção de OTA por fungos do gênero *Penicillium* está associada à ambientes com temperaturas mais baixas, entre 20 e 30°C, Aa até 0,8 e pH ótimo entre 6,0 e 7,0, ocorrendo principalmente no norte e no centro da Europa e do Canadá, contaminando cereais armazenados e carnes. Em áreas mais quentes (tropicais e subtropicais) a OTA é produzida por fungos do gênero *Aspergillus*, porém a faixa de temperatura e atividade de água dependem da espécie, por exemplo, o *A. ochraceus* possui temperatura ótima entre 8 e 37°C e Aa até 0,77, o *A. carbonarius* temperatura ótima entre 32-35°C e Aa 0,82, já o *A. niger* apresenta temperatura ótima de crescimento entre 8-47°C e Aa até 0,72. (RINGOT et. al., 2006, NOGUEIRA & OLIVEIRA, 2006).

## **5.4 OCRATOXINA A EM ALIMENTOS**

A OTA já foi encontrada em diversos tipos de alimentos e bebidas, como: milho, cevada, feijão, amendoim, café, vinho, soja, trigo, centeio, arroz, sorgo, castanha do Pará, entre outros. (SILVA et. al., 2007).

Embora os cereais, em geral, sejam considerados os alimentos com maior incidência de OTA, contribuindo significativamente com a sua ingestão total pela dieta (GOLLUCKE & TAVARES, 2004), outros produtos vem merecendo destaque em função da alta contaminação por esta micotoxina, tais como: café e uvas e seus derivados.

A maior parte dos registros de ocorrência de OTA em alimentos é proveniente da Europa Central, na região dos Bálcãs e Escandinávia, onde as principais fontes de ingestão são cereais (60%), vinho (25%), suco de uva (5 a 7%) e café (5 a 7%) (GOLLUCKE & TAVARES, 2004).

### **5.4.1. Aspectos relacionados à contaminação do café**

Os fungos têm a sua influência reconhecida sobre as características sensoriais do café desde 1940 (CHALFOUN & BATISTA, 2006). Fermentações e reações enzimáticas podem ser responsáveis pela obtenção de uma bebida de boa ou má qualidade (LIMA, 2008).

No café, a OTA é produzida principalmente por *A. westerdijkiae*, *A. steynii*, *A. ochraceus* e pelo *A. carbonarius*, com um pequeno número isolado de *A. niger* (FERRAZ et. al., 2009).

A principal contaminação parece ocorrer durante a fase de colheita e secagem dos grãos, onde o contato prolongado com o solo favorece a colonização fúngica e a produção de toxinas (NOGUEIRA & OLIVEIRA, 2006). Outros fatores são responsáveis pela produção, podendo ser citadas as condições ambientais como umidade e temperatura, bem como fatores intrínsecos, como a atividade de água. O potencial de produção de OTA por fungos depende não apenas de condições isoladas, mas da interação dos fatores intrínsecos e extrínsecos (CAMPOS et. al., 2008).

Segundo GOLLUCKE & TAVARES, 2004, o método APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) seria eficiente no controle dos pontos críticos da produção de café, tais como colheita, secagem e armazenagem, evitando a formação da toxina e perdas econômicas provenientes da eventual rejeição de lotes. Segundo LÒPES-GÁRCIA (2001) os objetivos da aplicação do APPCC são adequados para evitar a formação de toxinas, reduzir e eliminar aquelas que já se encontram nos alimentos e desviar os alimentos irreversivelmente contaminados para outros usos em vez do consumo.

A casca do café é considerada o principal substrato para o desenvolvimento de fungos ocratoxigênicos, quando removida, elimina uma quantidade significativa de microrganismos produtores de OTA. Além disso, acelera o período de secagem, diminuindo o risco de desenvolvimento dos fungos e a produção toxina na pós-colheita dos grãos. A qualidade inicial dos frutos colhidos e as condições do local de processamento podem certamente contribuir para a formação de OTA em café processado via úmida (CHALFOUN & BATISTA, 2006).

Além disso, a torrefação do café reduz os teores dessa micotoxina provavelmente devido às reações químicas que ocorrem durante este processo (NOGUEIRA & OLIVEIRA, 2006). A separação e a seleção dos grãos defeituosos também podem reduzir essa contaminação.

Embora o café não seja a principal fonte de OTA para consumo humano, a Comunidade Européia estabeleceu o limite de 5 ng/g para café torrado e moído e 10 µg/kg para café solúvel. (GOLLUCKE & TAVARES, 2004). Na tabela 1 estão sendo listados os limites permitidos de OTA em alguns países.

**Tabela 1:** Limites máximos permitidos para OTA em café.

<b>País</b>	<b>Produtos</b>	<b>Limite (ng/g)</b>
Uruguai	Café	50,0
Grécia	Café cru	20,0
Finlândia	Café cru	10,0
Itália	Café cru	8,0
Suíça	Café torrado/moído e solúvel	5,0
Itália	Café torrado/moído e solúvel	4,0

**Fonte 1:** GOLLUCKE & TAVARES, 2004.

MICCO et. al. (1989) avaliaram 627 amostras de grãos de café verde provenientes do Brasil, da Costa Rica, do México e da África. Observaram que 56 (9%) estavam contaminadas com OTA em níveis que variam entre 0,5 e 360 ng/g e que a incidência independe da espécie cultivada (*C. arábica* ou *C. canephora*).

Foram analisadas 50 amostras de café verde provenientes do Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Roraima e Bahia. A OTA foi encontrada em 15 (30%) amostras, em níveis que variaram entre 0,8 e 117,4 ng/g (FURLANI, OLIVEIRA e SOARES 1998).

TSUBOUCHI et. al. (1998) isolaram em grãos de café verde uma cepa de *A. ochraceus* produtora de OTA e avaliaram sua estabilidade ao calor após torrefação dos grãos artificialmente contaminados a 200°C, verificando que a ocratoxina foi reduzida em apenas 12%.

A presença de ocratoxina foi avaliada por STEGEN et. al. (1997), em 633 amostras de café solúvel comercializados em diversos países da Europa. Dessas, 299 (47,23%) apresentaram resultado positivo.

PRADO et. al. (2000) verificaram que 73% das amostras de café torrado comercializado em Minas Gerais e evidenciaram a contaminação por OTA entre 0,31 ng/g a 5,87 ng/g.

Uma pesquisa feita por PATEL et. al. (1997) para avaliar a presença de OTA em 100 amostras de café solúvel comercializado na Inglaterra, apontou que 64 amostras apresentaram níveis de contaminação entre 0,1 ng/g e 8 ng/g.

#### **5.4.2. Aspectos relacionados à contaminação da uva e seus derivados**

Após a primeira detecção de OTA no vinho, diversos trabalhos foram conduzidos, principalmente na Europa, para verificar a ocorrência desta toxina no vinho e em outros produtos processados da uva. Na Europa, depois dos cereais, o vinho é a maior fonte de OTA ingerida pela população. (BATTILANI et. al., 2006).

A preocupação com fungos filamentosos em vinhedos tem sido tradicionalmente relacionada ao desenvolvimento de doenças fúngicas em uvas. Segundo BELLI et. al., 2006, os *A. niger* estão sendo considerados os fungos predominantes nas uvas no tempo de colheita, embora possam ser encontrados na superfície de uvas saudáveis em todos os estágios (ABRUNHOSA et. al. 2006).

Os fungos responsáveis pela acumulação de OTA em cereais, principalmente *A. ochraceus* e *P. verrucosum*, foram inicialmente relacionados à formação dessa micotoxina em uvas. Entretanto, estudos recentes demonstram que as espécies produtoras de OTA mais frequentemente detectadas nas uvas de diversos países pertencem à seção Nigri, mais concretamente ao agregado *A. niger* e *A. carbonarius* (WELKE et.al., 2009).



A contaminação de uvas está relacionada diretamente com as condições climáticas, como a temperatura, o índice pluviométrico e a umidade relativa que são fatores essenciais para o desenvolvimento fúngico (NOGUEIRA & OLIVEIRA, 2006).

O suco de uva é mais contaminado que os vinhos, pois não ocorre o processo de fermentação (OTTENEDER & MAJERUS, 2000).

A remoção da OTA em função da fermentação alcoólica tem sido avaliada por vários autores, como um efeito da adsorção da micotoxina à fase sólida e não como consequência da atividade metabólica das leveduras. Ocorre uma redução entre 53,2% e 70,13% dependendo da levedura utilizada, onde as espécies do gênero *Saccharomyces* tiveram os melhores desempenhos. Quando utilizaram a *S.cerevisae* a redução foi de 65,9%. O considerado foi a capacidade de adsorção da OTA na massa de leveduras e não a capacidade de degradação por essas leveduras (NUNES, 2008).

Mas quando são comparados os vinhos tintos e brancos verifica-se uma menor concentração de OTA no vinho branco, o que pode ser explicado devido ao tipo de processamento. Na vinificação dos vinhos brancos, as uvas são esmagadas e o mosto assim obtido é fermentado sem a presença das cascas. Pelo contrário, na fermentação dos vinhos tintos, o mosto e as cascas fermentam em conjunto, para permitir a extração de compostos corantes e aromas. Este processo parece maximizar a passagem de alguma micotoxina das cascas para o mosto, contribuindo para os teores de OTA (BATTILANI et. al., 2006).

A OTA parece pouco susceptível de ser produzida durante o processamento para obtenção do vinho, uma vez que o álcool inibe o crescimento fúngico (BATTILANI et. al., 2006).

A Comissão Científica da Comunidade Européia estabeleceu o limite máximo de OTA em vinho em 2 µg/L (Commission of the European Communities, 2006).

Os vinhos brasileiros apresentam baixas concentrações de OTA, sendo que dos vinhos analisados da safra de 2003, somente 7,4% dos vinhos brancos e 6,25% dos vinhos tintos apresentaram teor de OTA superior a 2 µg/L. Em relação à safra 2004, os teores desta toxina foram inferiores a 2 µg/L. para todas as amostras analisadas,

indicando que a presença de OTA está relacionada diretamente as condições climáticas (VANDERLINDE et. al. 2005). Outros países também detectaram OTA, como na África do Sul, Austrália e Argentina, mas em níveis mais baixos que o valor proposto pela Comissão Científica da Comunidade Européia (SIMON, 2006).

SHUNDO et. al. (2006) analisaram 34 amostras de vinhos importados (Argentina, Chile, Uruguai, Itália, Portugal, Espanha e África do Sul), das quais 18 foram positivas, onde observaram alta incidência de OTA nessas amostras, porém com baixos níveis de OTA, com níveis variando entre 0,03 a 0,32 ng/mL.

Foi realizado um levantamento por ROSA et. al. (2004) em 106 amostras (sucos, polpas congeladas e em vinhos branco, tinto e rose), de produtos de origem brasileira, chilena e argentina. A OTA foi detectada em 29% dos sucos e em 12,5% das polpas congeladas, os níveis oscilaram entre 21 a 100 ng/L. Entre as amostras de vinho, os tintos apresentaram níveis mais altos. Cerca de 24% das amostras foram positivas para OTA, com concentrações na faixa de 28,3 a 70 ng/ L (o limite de detecção do método foi de 21 ng/L). As amostras de origem chilena foram as que apresentaram os valores mais elevados de OTA.

ZIMMERLI & DICK (1996) foram os primeiros a detectar OTA em vinhos portugueses em níveis muito baixos em amostras de vinho do Porto. O teor médio de OTA em 6 amostras foi de 0,011 µg/L.

Das 34 amostras analisadas por WELKE et. al. (2010), de vinhos do Rio Grande do Sul, Brasil, apenas uma amostra estava contaminada com OTA no nível de 4,5 µg/L.

#### **5.4.3. Aspectos relacionados à contaminação da cerveja**

A possibilidade de ocorrência de micotoxinas em cerveja é investigada desde 1972, existindo relatos quanto à presença de aflatoxinas, zearalenona e OTA (NOGUEIRA & OLIVEIRA, 2006).

A OTA encontra-se presente em níveis elevados na matéria-prima, sendo a contaminação da cerveja relacionada com a utilização de malte e cereais já contaminados, com destaque especial à cevada. Os processos da fermentação variam de uma indústria a outra, mas a maneira que a toxina é transferida para a cerveja é basicamente a mesma. Esta contaminação se dilui ou se decompõe durante o processamento, pois durante a fabricação da cerveja os teores da micotoxina diminuem cerca de 70%, provavelmente devido à hidrólise proteolítica da ligação peptídica durante a maltagem (COSTA, GERMANO, GERMANO, 2005; NOGUEIRA & OLIVEIRA, 2006; MATEO, et. al., 2007).

Exames conduzidos em vários países mostraram que OTA é um contaminante usual da cerveja devido à presença dos fungos *Penicillium verrucosum* ou *A. ochraceus* nos grãos (MATEO, et. al., 2007).

Atualmente não existe nenhum limite específico para OTA na cerveja pelos regulamentos da União Européia (UE), embora o limite para os cereais destinados ao consumo humano seja 3 ng/g (European Commission, 2005).

Segundo SIMONATO & MENEZES (2007) de 42 amostras de cervejas comercializadas em Bauru-SP e região, 2,4% das amostras de cervejas nacionais, e 11,1% das cervejas importadas estavam contaminadas com OTA entre 0,32 e 0,80 g/L. Quanto à ocratoxina B, foi encontrada apenas em 2,4% das amostras de cervejas nacionais, no nível de 0,78 g/L.

KAWASHIMA et. al. (2007) analisaram 123 amostras de cerveja proveniente de 36 fábricas localizadas em 5 Estados brasileiros, encontrando OTA em concentrações de 1 a 18 ng/mL, em 5 amostras.

Na Itália, VISCONTI, PASCALE e CENTONZE (2000) encontraram OTA em 30 amostras das 61 analisadas de cerveja e NAKAJIMA, TSUBOUCHI e MIYABE (1999) confirmaram a presença de OTA em 12 amostras das 15 verificadas na

Bélgica, importadas do Japão, mas com concentrações de OTA menores que 0,2 ng/ml.

#### **5.4.4. Aspectos relacionados à contaminação do arroz**

Os grãos são susceptíveis às mudanças durante sua produção e armazenamento sendo os fungos um dos principais responsáveis por perdas na qualidade do arroz durante o armazenamento, na produtividade, no valor nutricional e danos à saúde pública (COELHO et. al., 1999).

Os farelos de arroz são os que possuem maior índice de contaminação por serem constituídos principalmente pelas porções mais externas do grão, a mais exposta à contaminação fúngica, e também por se tratar de um subproduto onde os cuidados no manuseio não seguem condições rígidas de higiene (FURLONG, et.al., 1999)

O arroz parboilizado também pode estar contaminado podendo ter como justificativa o fato de este ser submetido a um processo de encharcamento antes do descascamento que poderia propiciar a migração das micotoxinas para o interior do grão. Então, ao contrário de outros processos de beneficiamento de cereais, a parboilização poderia aumentar a contaminação do produto final (FURLONG, et.al., 1999). Esta contaminação em arroz parboilizado tem sido motivo de estudos em alguns orientais, tais como Índia, Coreia, China e Japão. (COELHO et. al., 1999).

A União Européia (UE) estabelece um limite para os cereais destinados ao consumo humano de 3 ng/g (European Commission, 2005).

FURLONG et. al. (1999) analisaram 47 amostras de arroz comercializadas nas cidades de Rio Grande e Pelotas quanto à presença de aflatoxinas, OTA e zearalenona. Encontraram contaminação de OTA em níveis de 48 e 19 µg/Kg.

NUNES (2001), pesquisando aflatoxinas, OTA e outras micotoxinas em arroz branco-polido e integral, comercializados nas cidades de Pelotas e Rio Grande/RS, identificou a presença de OTA, com níveis de 104 e 128 µg/Kg respectivamente.

CALVETTE et. al. (1993), analisaram amostras de arroz integral comercializados em estabelecimentos de Florianópolis/SC quanto à presença de Ocratoxina, porém os resultados não mostraram contaminação em nenhuma das amostras pesquisadas.

## **5.5 ASPECTOS REGULATÓRIOS E LEGISLAÇÃO**

Para evitar que os consumidores sofram com efeitos nocivos causados pelas micotoxinas em alimentos *in natura* e processados, e até mesmo em rações para animais de abate e de estimação, normas têm sido implementadas em muitos países. As legislações mais conhecidas são aquelas que regulamentam os níveis de aflatoxinas, ainda que limites para outras micotoxinas estejam sendo também implementados rapidamente. Há vários fatores que conduzem à elaboração dessas legislações, por exemplo, existem os aspectos científicos, tais como a disponibilidade de informações toxicológicas, o conhecimento acerca da distribuição das micotoxinas nos alimentos, além da metodologia analítica. Também, devem ser considerados os aspectos políticos e econômicos, principalmente com relação aos interesses comerciais e aos impactos na disponibilidade da oferta de alimentos (FREIRE et. al., 2007).

Os contaminantes de alimentos têm sido avaliados pelos comitês dos órgãos mundiais desde 1970. São as resoluções tomadas a partir destes encontros que estabelecem os níveis a serem seguidos pela comunidade internacional para o comércio dos seus produtos (RIBEIRO, 2007). A OTA é avaliada oficialmente através de uma junta de especialistas da Organização das Nações Unidas para

Agricultura e Alimentação (FAO) e Organização Mundial da Saúde (OMS) que efetiva regularmente reavaliações pertinentes.

Os dados sobre as pesquisas realizadas no mundo sobre OTA foram revisados pelo comitê da FAO entre 1996 e 2001. O continente que mais produziu material científico sobre a OTA foi a Europa com 85% do total, seguido pela América do Sul (7%), América do Norte (6%), África (1%) e Ásia (1%). Entre as pesquisas levantadas, as concentrações de OTA em diferentes gêneros alimentícios foram altamente variáveis. (KRUGER, 2006).

Em reunião realizada em 2001 pelo JECFA (*Joint Expert Committe on Foods Additives*- Órgão da Organização Mundial de Saúde) e pela FAO, concluíram que a ingestão semanal tolerável de OTA deveria ser mantida em 100 ng/Kg de peso corpóreo/semana, o valor estabelecido pelo mesmo comitê em 1995. Já a União Européia através de seu órgão de recomendação em alimentos, o SCF (Scientific Commission on Food), sugere que o nível de OTA, seja mantido o mais baixo possível, ou seja, no intervalo entre 1,2 e 14 ng/Kg de peso corpóreo/dia, o equivalente a 35 ng/Kg de peso corpóreo/semana (GOLLUCKE & TAVARES, 2004).

Alguns países têm estabelecido limites de tolerância para a presença de OTA em alimentos. Os limites especificados por alguns países estão sendo listados na tabela 2.

**Tabela 2:** Limites máximos permitidos para Ocratoxina A em alimentos

<b>País</b>	<b>Produtos</b>	<b>Limite (ng/g)</b>
Uruguai	Arroz, cevada e milho	50,0
Israel	Cereais, legumes e derivados	50,0
Dinamarca	Rins de suínos	25,0
Grécia	Suco e produtos de maçã	20,0
República checa	Alimentos	20,0
Romênia	Alimentos	5,0
Dinamarca	Cereais e derivados	5,0
França	Cereais	5,0

Itália	Cereais e derivados	3,0
Suíça	Cereais	2,0
Itália	Carne de porco e derivados	1,0
Chipre	Leite e laticínios	0,5
Itália	Cacau e derivados	0,5
Itália	Cerveja	0,2
Hungria	Alimentos preservados	0

Fonte: GOLLUCKE & TAVARES, 2004.

No Brasil, as aflatoxinas, classificadas pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC, 2002) como carcinogênicas para humanos, são as únicas micotoxinas cujos níveis máximos em alimentos estão previstos na legislação (BRASIL, 2002). Existe, porém, uma consulta pública em andamento que propõe limites máximos de OTA e outras micotoxinas admissíveis em alimentos (BRASIL, 2009). Os limites máximos sugeridos nesta consulta pública estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3- Limites máximos sugeridos para Ocratoxina A na Consulta Pública em andamento no Brasil**

Limites máximos Tolerados de Ocratoxina A

Micotoxinas	Alimento	LMT ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Ocratoxina A	Cereais e produtos a base de cereais	10,0
	Café torrado	10,0
	Café solúvel	10,0
	Vinho	10,0
	Condimentos e especiarias	10,0
	Alimentos infantis a base de cereais	2,0
	Produtos de cacau e chocolate	5,0
	Frutas secas e desidratadas	10,0

Fonte 2- BRASIL, ANVISA, Consulta Pública nº 100, de 22/12/2009

Os limites deveriam ser uniformizados, evitando-se a perda de produtos animais e/ou vegetais e, assim, contribuir positivamente com as relações comerciais entre os países (KRUGER, 2006).

Uma vez que a eliminação total da toxina nos produtos é um objetivo ainda inatingível, países que possuem uma legislação sobre determinado produto costumam estabelecer barreiras comerciais em relação aqueles que não possuem tais leis. Alguns países, como os Estados Unidos e a Comunidade Européia, já vêm impondo limites para alguns produtos em relação a determinadas micotoxinas. Entretanto, é necessário que os laboratórios estejam qualificados para examinar lotes de grãos que são comercializados entre países (CALDAS, 2002).

Torna-se evidente a necessidade de que sejam estabelecidos padrões de monitoramento para que, a partir de então, sejam aplicadas medidas necessárias para o controle específico das diferentes micotoxinas nos diversos tipos de alimentos, desde cereais até produtos industrializados proveniente de aves e suínos, por exemplo. Uma grande barreira para a regulação dos padrões seguros de micotoxinas em alimentos é justamente a falta de harmonização entre os diferentes países em relação a um modelo único a ser seguido por todos (GOLLUCKE & TAVARES, 2004).



## 6. CONCLUSÃO

A ocratoxina A é produzida por espécies de fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Esses microrganismos se encontram amplamente distribuídos no ambiente e, por essa razão, o controle do seu desenvolvimento deve considerar os diferentes aspectos das práticas agrícolas durante a pré e pós-colheita.

A ocorrência da ocratoxina A já foi determinada em vários tipos de alimentos e bebidas, como nos cereais, café, cerveja, uva e derivados. Em função do seu comprovado efeito nefrotóxico e da variedade de produtos contaminados, a adoção de medidas que previnam a contaminação, bem como o desenvolvimento de programas de controle se fazem necessários para a redução da ingestão dessa micotoxina pela população.

Em países europeus, os alimentos que mais contribuem para a ingestão de ocratoxina A são os cereais, a uva e seus derivados e o café. Por isso, a preocupação com o estabelecimento de regulamentações específicas e cada vez mais rigorosas para esses produtos é realidade nos países da Comunidade Européia.

No Brasil, até o momento, não há regulamentação para Ocratoxina A em alimentos e bebidas, mas devido, principalmente, aos embargos comerciais às exportações, é importante o estabelecimento de níveis máximos compatíveis com as legislações internacionais. Considerando que o arroz, o vinho e o café brasileiros são produtos destinados à exportação, o aspecto regulatório se torna ainda mais imprescindível.

## 7. BIBLIOGRAFIA

ABRUNHOSA, L.. Isolamento de fungos filamentosos e produção de micotoxinas em uvas. **Dissertação de Mestrado. (Engenharia Biológica)**, Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2001.

BATISTA, L. R.; FREITAS, R. F. de. Avaliação da produção de aflatoxinas por espécies do fungo *Aspergillus* associados ao café. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, Especial- (1): p. 44-49, 2000.

BATTILANI, P.; MAGAN, N.; LOGRIECO, A. European research on ochratoxin A in grapes and wine. **International Journal of food microbiology**. v.111,n.1, 2006.

BELLI, N.; BAU, M.; MARIN, S.; ABARCA, M.L.; RAMOS, A.J.; BRAGULAT, M. R. Mycobiota and ochratoxin A producing fungi from Spanish wine grapes. **International Journal of food microbiology**.v.111,n.1, 2006.

BENNET, J.W., KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical microbiology review**. v.16,n.3, p.497-516,2003.

BEUX, M. R.; SOCCOL, C. R. Microbiota isolada durante as fases de pré e pós-colheita dos grãos de café associada à qualidade e sanidade da bebida. **Boletim CEPPA**, v. 22, n. 1, p. 155-172, 2004.

BIGELIS, R. Fungal metabolites in food processing. In.: BHATNAGAR, D.; LILLEHOJ, E.B.; ARORA,D. K. **Handbook of applied mycology: food and feeds**. New York: Mercel Dekker, INC., v.3, cap.13, p. 415-443, 1992.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 274, da ANVISA, de 15 de outubro de 2002, publicada no Diário Oficial da União, de 16/10/2002.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Consulta Pública nº100, da ANVISA, de 21 de dezembro de 2009, publicada no Diário Oficial da União, de 22/12/2009.

CALDAS, E. D. et. al. Aflatoxina e ocratoxina A em alimentos e risco para a saúde humana. **Revista saúde pública**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 319-323, 2002.

CALVETTE, K. L. et. al. Análise de micotoxinas e microscopia de arroz integral, farinha de centeio e farelo de trigo em estabelecimento de Florianópolis- SC. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p.40, 1993.

CAMPOS, R.S.; SILVA, O.F.; CUNHA, Q.; SOUZA, M.L.M.; FREITAS, S.C. Fungos micotoxigênicos e ocratoxina a em cafés com permanência prolongada na planta e no solo, colhidos nas regiões do cerrado mineiro e baiano, 2008.

CHALFOUN, S.M.; BATISTA, L.R. Incidência de ocratoxina A em diferentes frações de grãos de café (*Coffea arabica L.*), 2006.

CHRISTENSEN, C. M.; KAUFMANN, H. H. **Grain storage the role of fungi in quality loss**. Minneapolis: University of Minnesota. 153 p. , 1969

CHU, F.S. A comparative study of the interaction of ochratoxins with bovine serum albumin. **Biochemical Pharmacology**, 23, 1105-1113, 1974.

COELHO, C.S.P.; FURLONG, E.B.; ALMEIDA, T.L.et. al. Migração de micotoxinas durante a parboilização do arroz. **Brazilian Journal of Food Technology**, Champaign, v.2, n.1,2, p. 39-44, 1999.

Commission of the European communities (EC).. N.1881/2006 of 19 december 2006, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L.364, 5-24, 2006.

COSTA,T.P.; GERMANO,P.M.L.; GERMANO, M.I.S. Segurança alimentar e a cerveja: o perigo das micotoxinas. **Higiene Alimentar**. v.19,n.137, p.39-44, 2005.

DILKIN, P. Micotoxicose suína; aspectos preventivos, clínicos e patológicos. **Biológico**. v. 64, n.2, p.187-191, 2002.

European Commission, Commission Regulation No. 123/2005 of 26 January 2005 amending Regulation 466/2001 as regards ochratoxin A. **Official Journal of the European Union** L25, 3–5, 2005.

FAO/WHO (Food and Agricultural Organization /World Health Organization) Ochratoxin A, In "Safety evaluations of specific mycotoxins". Prepared by the fifty – sixth meeting of the JointFAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva : **Food and Agricultural Organization /World Health Organization**,6-15 p., 2001

FERRAZ, M.B.M.; FARAH, A.; Iamanaka, B. T.; PERRONE, D.; COPETTI, M.V.; MARQUES, V.X.; VITALI, A. A.;TANIWAKI, M.H. Kinetics of ochratoxin A destruction during coffee roasting. **Food control**, v. 21, p.873, 2009.

FRANK, J.M.Development of critical control points for preventing ochratoxin A accumulation in coffee. In.: **Mycotoxins na Phycotoxins in perspective at the turn of the Millennium**. Guarujá, 2001.

FREIRE, F.C.O.; VIEIRA, I.G.P.; GUEDES, M.I.F.; MENDES, F.N.P. . Micotoxinas : Importância na alimentação e saúde humana e animal. **EMBRAPA**, P. 24-25, 2007.

FURLANI, R.P.Z.; OLIVEIRA, P.L.;SOARES,L.M.V. Incidência de ocratoxina A em café verde proveniente de várias regiões produtoras brasileiras.**Livro de resumos Florianópolis**,1998.

FURLANI, R.P.Z.; SOARES,L.M.V. Revisão: ocratoxina A em café.**Brazilian Journal of food technology** , 1999.

FURLANI, R.P.Z.; OLIVEIRA, P.L.;SOARES,L.M.V. Avaliação de métodos para determinação de ocratoxina em cafés verdes e torrados. **Revista do instituto Adolfo Lutz**,v. 58, n.2, p. 87-98,1999.

FURLONG, E.B.; SOARES, L.A.S.; VIEIRA, A.P.; DADALT, G. Aflatoxina, Ocratoxina A e Zearalenona em alimentos da região suldo Rio Grande do Sul. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.58, n.2, p. 109,1999.

GALTIER, P. Pharmacokinetics of ochatoxin A in animals. **International agency for research on câncer**. V.115, p. 187-200, 1991.

GARDA, J. Micotoxinas em cervejas: metodologia, ocorrência e influencia no processo fermentativo. Tese de Mestrado em Engenharia de Alimentos-Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 2002.

GOLLUCKE, A. P. B.; TAVARES, D. Q. Efeito do processo sobre a ocratoxina A, em café, **Higiene Alimentar**, v.18, n.118, p.38-46, 2004

JOBIM, C.C.; GONÇALVES, G.D.; SANTOS, G.T. (2001). Qualidade sanitária de grãos e de forragens conservadas “versus” desempenho animal e qualidade dos seus produtos. **Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas**, p.246.

KAWASHIMA, L.M.; VIEIRA, A.P.; SOARES, L.M.V. Fumonisina B1 e ocratoxina A em cervejas fabricadas no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 2007, vol.27, n.2, pp. 317-323.

KROGH, P. Epidemiology of mycotoxic porcine nephropathy. **Nordisk veterinærmedicin** v.28, n.9,p. 452-458,1976.

KRUGER, C.D., Ocratoxina A em suínos abatidos no estado do Rio de Janeiro sob inspeção sanitária, **Tese de pós graduação em medicina veterinária, Universidade Federal Fluminense**. Niterói, Rio de Janeiro, 2006.

KUIPPER-GOODMAN, T. & SCOTT, P.M. (1989). Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A, **Biomedical Environment Science**, 2:179–248.

LIMA,R.R. Avaliação de Fatores de Risco para Incidência de Ocratoxina A em Cafés Produzidos na Região do Sul de Minas.escola agrotécnica federal de Muzambinho Curso Superior de Tecnologia em Cafeicultura, 2008.

LÓPES-GARCÌA, R. Mycotoxin management: na integrated approach In.: **Mycotoxins na Phycotoxins in perspective at the turno f the Millennium**. Guarujá, 2001.

MATEO, R.; MEDINA, A.;MATEO, E. M.; MATEO, F.; JIMÉNEZ, M. An overview of ochratoxin A in beer and wine. **International Journal of Food Microbiology** 119 (2007) 79–83.

MICCO,C. et al. A study of the contamination by ochratoxin A of Green and rosated coffe heans. **Food additives and Contaminants**, v.6, n.3, p.333-339,1989.

NAKAJIMA, M., TSUBOUCHI, H., MIYABE, M., 1999. Survey on ochratoxin A and aflatoxins in domestic and imported beers in Japan by immunoaffinity and liquid chromatography. **Journal of the AOAC International** 82, 897–902.

NOGUEIRA, S.; OLIVEIRA, M.B.P.P. Prevalência de Ocratoxina A em alimentos e conseqüentes problemas de segurança alimentar. **Alimentação humana**. v. 12, n.2, 2006.

NUNES, I. L. **Micotoxinas, micoflora e seu potencial toxigênico em arroz destinado ao consumo humano**. Rio Grande, FURG, 2001. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2001.

NUNES, E.O. **População de fungos filamentosos e sua relação com micotoxinas presentes na uva e no vinho de Santa Catarina**. Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2008.

OMINSKI, K.H.; FROHLICH, A.A.; MARQUARDT, R.R.; CROW, G.H.; ABRAMSON, D. The incidence and distribution of ochratoxin A in western Canadian swine. **Food additives and contaminants**, v.13, n.2, p. 185-198, 1996.

PATEL, S.; HAZEL, C.M.; WINTERTON, A.G.M. et al. Survey of ochratoxin A in UK retail coffees. **Food Additives and Contaminants**, v. 14, n. 3, p. 217-222, 1997.

PITT, J.I. Toxigenic fungi and mycotoxins. **British medical bullent**. v.56, n.1, p.184-192,2000.

PIER, A.C., RICHARD, J.L.; CYSEWSKI, S.J. Implications of mycotoxins in animal disease. **Journal of the American veterinary medical association**. v. 176,n.8, p.719-724,1980.

PITTET, A., Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds –an updated review. **Revue de médecine veterinaire**, v. 149, p. 479-492,1998.

POHLAND, A.E.; SCHULLER, P.L.; STEYN, P.S. and VAN EGMOND, H.P.. Physicochemical data for some selected mycotoxins. **Pure Applied Chemistry**, 54:2219–2284, 1982.

PRADO, G. et al. Incidência de ocratoxina A em café torrado e moído e em café solúvel consumido na Cidade de Belo Horizonte, MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n.2, p. 192-196, 2000.

RIBEIRO, E. A. R. Contaminação Toxicológica de Resíduos Vitivinícolas- Ocratoxina A. **Tese de mestrado em Engenharia do Ambiente**. FEUP-Faculdade de engenharia Universidade do Porto, 2007.

RINGOT, D.; CHANGO, A.; SCHNEIDER, Y.J.; LARONDELLE, Y. (2006). Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. **Chemico-Biological Interactions**, 59-1: 18-46.

ROSA, C.A.R. Microbiota toxigena e ocratoxina em uvas e produtos derivados. Seropédia, 1999. 130f. Tese (Doutorado em ciência e tecnologia de alimentos)- **Instituto de tecnologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro**, Seropédica, 1999.

ROSA, C. A.; MAGNOLI, C., FRAGA, M. E.; DALCERO, A.; SANTANA, D. M. (2004). Occurrence of ochratoxin A in wine and grape juice marketed in Rio de Janeiro, Brazil. **Food Additives and Contaminants**, 21:358-364.

SCOTT, P.M. Mycotoxins in feeds and ingredients and their origin. **Journal of food Protection**. v.41, n.5, p.385-398, 1978.

SCUSSEL, Vildes Maria. **Atualidades em micotoxinas e armazenagem de grãos**. Florianópolis: Ed. Da autora, 2000. 382 p.

SCUSSEL, Vildes Maria. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Insular, 1998. 144 p.

SHUNDO, L.; ALMEIDA, P.A.; RUVIERI, V.; NAVAS, S.A.; LAMARDO, L.C.A.; and SABINO, M. (2006). Ochratoxin A in wines and grape juice commercialized in the city of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, 37:533-537.

SILVA, R.A.; CHALFOUN, S.M. SILVA, M.A. M; PEREIRA, M.C. Inquérito sobre o consumo de alimentos possíveis de contaminação por micotoxinas na ingesta alimentar de escolares da cidade de Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia** v. 31, n.2, 2007.

SIMON, T.T. **Influência das condições fitossanitárias da uva no teor de Ocratoxina A em vinhos brancos**. Universidade Federal de Santa Maria. Dissertação de Mestrado, Santa Maria, 2006.

SIMONATO, E.M.R.S.; MENEZES, M.L. Determinação de ocratoxinas em cervejas, por injeção direta da amostra empregando uma coluna cromatografica IS-aniônica. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. v. 66, n.3, p.235,2007.

SOARES, L.M.V. (1997). Ocorrência de micotoxinas em alimentos: Situação em São Paulo. **Ciência de alimentos avanços e perspectivas**, v.2, p.94-95.

STEGEN, G.V.D.; JÖRISSEN, U. ; PITTET, A. et. al. Screening of European coffee final products for occurrence of ochratoxin A (OTA). **Food Additives and Contaminants**, v.14, n.3, p.211-216, 1997.

SYLOS, C. M. et. al. Ocorrência de ocratoxina A e aflatoxina em arroz. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 62, n. 2, p. 123-130, 2003.

TANIWAKI, M.H. & SILVA, N. (2001). Fungos em alimentos: ocorrência e detecção. **Núcleo de Microbiologia/ITAL**, 82p.

TRENK, H.L.; BUTZ, M.E.; CHU, F.S. Production of ochratoxin in different cereal products by *Aspergillus ochraceus*. **Applied microbiology**. V.21,n.6, p. 1032-1035,1971.

TSUBOUCHI, H.; TERADA, H.; YAMAMOTO, K. et. al. Ochratoxin A found in commercial roast coffee. **Proceedings of the Japanese Association of Micotoxicology**, n.1, supl., p.87-88, 1998.

TURNER, N. W.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKY, S. A. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. **Analytica Chimica Acta** 632 (2009) 168–180.

VALENTA, H. (1998). Chromatographic methods for the determination of ochratoxin A in animal and human tissues and fluids. **Journal Chromatography A**, 815:75–92.

VANDERLINDE, R.; PEDRUZZI, I. ; DUTRA, S.V.; ADAMI, L.; MARCON, A.R. ; BOSCATO, G.M. ; ORLANDIN, A. Ocratoxina A em vinhos e sucos de uva. **In: X**



**CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE VITICULTURA E ENOLOGIA.** Anais. Bento Gonçalves-RS, Brasil, 2005. p. 337.

VISCONTI, A., PASCALE, M., CENTONZE, G., 2000. Determination of ochratoxin A in domestic and imported beers in Italy by immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A** 888, 321–326.

ZIMMERLI, B.; DICK, R. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. **Food Additives and Contaminants**. V. 13, n. 6, p. 665, 1996.

WELKE, J. E.; HOELTZ, M.; NOLL, I.B., Aspectos relacionados à presença de fungos toxigênicos em uvas e ocratoxina A em vinhos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 8, p.2568, 2009.

WELKE, J. E.; HOELTZ, M.; DOTTORI, H. A. NOLL, I.B. Determination of Ochratoxin A in Wine by High-Performance Thin-Layer Chromatography using Charged Coupled Device. **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 21, No. 3, 441-446, 2010.