

Micotoxinas em Portugal: Ocorrência e Toxicidade

Pereira, Vânia L. *; Fernandes, José O. **, Cunha, Sara C. ***

REQUIMTE, Laboratório de Bromatologia e Hidrologia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313 Porto, Portugal

* Farmacêutica, Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Bolseira de Investigação, REQUIMTE, Laboratório de Bromatologia e Hidrologia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

** Professor Auxiliar, Responsável pelo Laboratório de Bromatologia e Hidrologia, REQUIMTE, Laboratório de Bromatologia e Hidrologia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

*** Investigadora Auxiliar, REQUIMTE, Laboratório de Bromatologia e Hidrologia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

Resumo

A contaminação de alimentos e de rações representa um dos principais problemas de segurança alimentar devido às suas implicações na saúde humana. De entre os diferentes contaminantes de origem natural que podem aparecer nos alimentos, o grupo das micotoxinas tem vindo a ganhar especial relevância nos últimos anos devido aos efeitos nefastos que a sua presença pode provocar. As micotoxinas correspondem a importantes metabolitos secundários produzidos por vários fungos, pertencentes maioritariamente aos géneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*, que podem ocorrer numa vasta gama de produtos alimentares com elevada importância, particularmente em cereais e derivados, especiarias, frutos secos, vinho, café, etc. Actualmente, estão já identificadas algumas centenas de micotoxinas, sendo as mais importantes, devido à sua elevada ocorrência e toxicidade, as Aflatoxinas, os Tricotecenos, as Ocratoxinas, a Zearalenona e seus metabolitos e as Fumonisinias. Estas toxinas são responsáveis por uma grande variedade de efeitos tóxicos agudos e crónicos, como carcinogenicidade, neurotoxicidade, toxicidade reprodutiva e atrasos no desenvolvimento. A sua presença nas culturas apresenta, ademais, um forte impacto económico a nível mundial, dada a elevada percentagem de colheitas perdidas.

São vários os trabalhos realizados que revelam uma significativa contaminação de várias matrizes alimentares com micotoxinas, por vezes excedendo os limites estabelecidos pela legislação comunitária. Trata-se de um problema de saúde pública que exige uma monitorização eficaz da sua presença e a adoção de medidas que impeçam a entrada desses alimentos no circuito comercial.

Palavras chave: micotoxinas, contaminação alimentar, saúde pública, tricotecenos, aflatoxinas.

Abstract

Food and feed contamination represents a major food safety problem due to its implications on human health. Among the various natural contaminants frequently found in food, mycotoxins have gained particular importance in recent years because of their adverse effects. Mycotoxins are secondary metabolites produced by different molds, mainly from *Fusarium*, *Aspergillus* and *Penicillium* genera, which can occur in a wide range of important food commodities, particularly in cereals and derived products, spices, *nuts*, *wine*, coffee,

etc. Nowadays, hundreds of mycotoxins have been identified, but the most important ones are Aflatoxins, Trichothecenes, Ochratoxins, Zearalenone and its metabolites and Fumonisin, due to their high occurrence and toxicity. These toxins are responsible for a broad range of acute and chronic toxic effects, including carcinogenicity, neurotoxicity as well as reproductive and developmental toxicity. Their presence in crops has, moreover, a strong economic impact worldwide, owing the high percentage of crops lost.

Several works revealed a significant contamination degree in a wide variety of matrices, sometimes exceeding the legal established limits. This represents an important public health problem that requires effective monitoring of their presence and the adoption of measures to prevent the entry of these foods in the supply chain.

Keywords: mycotoxins, food contamination, public health, Trichothecenes, Aflatoxins.

Introdução

As Micotoxinas são compostos tóxicos resultantes do metabolismo secundário dos fungos, sendo capazes de lhes conferir uma vantagem competitiva sobre outros fungos e bactérias presentes no ambiente. Regra geral, apresentam actividade citotóxica provocando a ruptura de membranas celulares ou interferindo em processos vitais como a síntese proteica e de ácidos nucleicos, e apresentam grande estabilidade térmica, não sendo destruídas pelo calor mesmo a temperaturas elevadas.

Os principais fungos produtores de micotoxinas são os pertencentes aos géneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, os quais, no seu conjunto são responsáveis pela produção de centenas de micotoxinas diferentes, variáveis no que respeita à sua prevalência e grau de toxicidade. As mais importantes, quanto à sua presença e perigosidade em alimentos, são as Aflatoxinas (AFs), as Fumonisin (FMs), os Tricotecenos (TRC), a Zearalenona (ZEN) e respectivos metabolitos e as Ochratoxinas (OTs). Existem ainda outras micotoxinas relevantes, tais como os alcalóides da cravagem do centeio (*Claviceps purpurea*), as Eniatinas (ENs), a Patulina (PAT), a Citrinina (CIT), a Moniliformina (MON), a Fusaproliferina (FUS), a Beauvericina (BEA), o ácido ciclo-

piazónico, a roquefortina C, o ácido micofenólico, a griseofulvina, etc¹.

Todas estas micotoxinas podem ocorrer numa grande variedade de produtos agrícolas, alguns com elevada importância económica como o milho, o trigo e outros cereais, em especiarias, plantas medicinais, frutos secos, café, vinho, etc. De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (*Food and Agriculture Organization - FAO*), estima-se que cerca de 25% das colheitas mundiais de cereais está contaminada com alguma micotoxina. Este valor assume especial relevância económica nos países em que a produção agrícola representa uma percentagem considerável das suas exportações, sendo estimadas perdas globais de cerca de 1000 milhões de toneladas de alimentos por ano².

A contaminação de alimentos e produtos agrícolas por fungos capazes de produzir estas toxinas pode ocorrer no campo, antes e/ou após a colheita, e durante o transporte e armazenamento do produto, dependendo de vários factores, entre eles as condições edafo-climáticas, tais como a temperatura e a humidade. Além disso, pode ocorrer contaminação dos animais através da ração o que pode trazer graves consequências, uma vez que algumas micotoxinas passam para o leite, ovos

e carne, colocando diretamente em risco os consumidores.

A principal via de exposição do homem e dos animais às micotoxinas é através da ingestão de alimentos contaminados. Uma vez ingeridas, estas toxinas naturais podem causar episódios de doença aguda, sub-aguda ou crónica, sendo estes últimos de difícil determinação visto geralmente exigirem a ingestão moderada por longos períodos de tempo.

O grau de toxicidade varia em função das características da micotoxina, podendo mesmo ocorrer alterações durante a sua metabolização no organismo, umas vezes com perda de toxicidade, outras vezes levando à formação de metabolitos ainda mais tóxicos. Por outro lado, a suscetibilidade dos humanos e animais aos seus efeitos está dependente de vários factores, tais como a espécie, a idade, o estado de nutrição, a dose, a duração e via de exposição^{1,3}. A avaliação dos seus efeitos adversos na saúde é uma tarefa complexa, sendo muitas vezes dificultada pela co-ocorrência de várias micotoxinas e pelo facto de uma multi-exposição poder levar a efeitos aditivos, sinérgicos ou antagónicos entre si⁴.

É possível encontrar ao longo da história diversas referências a intoxicações provocadas pela presença de micotoxinas nos alimentos. Uma das primeiras ocorrências diz respeito ao ergotismo, doença causada pela ingestão de cereais e derivados (pão) contaminados com alcalóides da cravagem do centeio, micotoxinas produzidas por fungos do género *Claviceps* e que tomou proporções epidémicas em grande parte da Europa durante a Idade Média^{5,6}. Outra referência histórica de micotoxicose, responsável pela morte de cerca de 100000 pessoas na antiga União Soviética durante a 2ª Guerra Mundial, corresponde à "Aleucia Tóxica Alimentar", que se caracteriza pelo aparecimento de leucopenia, agranulocitose, erupção cutânea (vermelhidão), septicémia, depressão da medula óssea e febre, que parece ter sido causada por uma micotoxina do grupo dos TRC, a toxina T-2, devido à ingestão de pão produzido a partir culturas de trigo infetadas com

Fusarium^{6,7}. A descoberta das AFs, por seu lado, esteve associada a um episódio ocorrido em 1960, de morte de centenas de milhares de perús numa quinta inglesa, que veio posteriormente a descobrir-se estarem a ser alimentados com grãos infetados por *Aspergillus flavus*⁶.

As micotoxinas devido à sua toxicidade podem ser usadas em casos de bioterrorismo. Durante a Guerra Fria, é importante referir a possibilidade dos TRC terem sido usados como armas biológicas pela União Soviética, Afeganistão e por países do Sudeste Asiático. Grande parte dos ataques aéreos envolveram a dispersão de um líquido amarelo, designado "chuva amarela", que se pensa corresponder a uma mistura contendo níveis elevados de TRC. Apesar de existir alguma controvérsia a este respeito, a verdade é que os sintomas descritos coincidem com os efeitos tóxicos característicos dos TRC e, além disso, foram encontrados teores elevados destas toxinas na superfície de plantas, em fragmentos de plásticos e em rochas nas áreas atacadas, o que não se verificou nas amostras de controlo provenientes de zonas onde não ocorreram ataques. Portanto, as evidências parecem suportar a hipótese de que os TRC foram usados como armas biológicas⁸.

Actualmente, o panorama existente relativo à contaminação de alimentos, nomeadamente cereais e derivados, por micotoxinas é justificativo de fundadas preocupações por todos os responsáveis pela segurança alimentar. Na Europa, a ocorrência de micotoxinas em produtos alimentares, assim como de outros contaminantes que representam risco para a saúde pública (resíduos de pesticidas, metais pesados, poluentes orgânicos, microrganismos patogénicos, etc.) é alvo de uma monitorização alargada a todos os países, cujos resultados podem ser consultados semanalmente no site do Sistema de Alerta Rápido para Alimentos e Alimentos para Animais (*Rapid Alert System for Food and Feed - RASFF*) da União Europeia. De 2002 a 2008 o número de notificações RASFF relacionadas com micotoxinas aumentou consideravelmente (302-933), representando durante este período, a categoria de perigo com

o maior número de notificações. Entre 2009 e 2011 o número de notificações de micotoxinas sofreu um ligeiro decréscimo (669-635), mas continua a corresponder à categoria de “perigo alimentar” com um maior número de notificações. Durante todos esses anos, as AFs têm sido as micotoxinas mais relatadas, seguidas pela Ocratoxina A (OTA) ⁹.

A crescente preocupação dos países quanto à presença de micotoxinas nos alimentos tem levado à elaboração de legislações cada vez mais rígidas no que concerne aos níveis máximos de micotoxinas permitidos.

Diferentes tipos de micotoxinas: ocorrência e toxicidade

Entre o elevado número de micotoxinas conhecidas, cerca de duas centenas pertencem à família dos Tricotecenos. Estes são maioritariamente produzidos por fungos do género *Fusarium* e ocorrem nas mais variadas matrizes, principalmente em cereais e seus derivados ¹⁰. Tal como a maioria das micotoxinas, os TRC são altamente estáveis ao aquecimento, não sendo eliminados durante o processamento dos alimentos; além disso, são estáveis a pH neutro e ácido pelo que, conseqüentemente, não são degradados no estômago após ingestão ¹¹. Esta família de toxinas está dividida em 4 grupos (A, B, C e D), de acordo com as suas semelhanças estruturais, sendo os mais relevantes os pertencentes ao grupo A (que geralmente apresentam maior toxicidade), tais como as toxinas T-2 e HT-2 e o Diacetoxiscirpenol (DAS), e as do tipo B, como o Deoxinivalenol (DON) e o Nivalenol (NIV) ¹⁰. A exposição aguda a elevadas doses de TRC pode causar uma série de efeitos tóxicos, tais como vômitos, diarreia e hemorragias, enquanto que uma exposição crónica a pequenas quantidades pode resultar em imunossupressão (aumentando a susceptibilidade a doenças infecciosas), anorexia, alterações neuroen-

dócrinas e anemia ¹⁰. Estes compostos são citotóxicos e potentes inibidores da síntese proteica, DNA e RNA ¹².

As Aflatoxinas constituem um grupo de micotoxinas produzidas pelas espécies *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius* ¹³. Até ao momento, foram identificados mais de 20 tipos diferentes, sendo as Aflatoxinas B1 (AFB1), B2, G1 e G2 as mais frequentes em alimentos. As Aflatoxinas M1 (AFM1) e M2 são os principais metabolitos da AFB1 e AFB2, respetivamente, encontrando-se muitas vezes no leite de vacas que tenham comido ração contaminada. As AFs encontram-se principalmente em frutos secos, como amendoins, nozes, e amêndoas, no milho e outros cereais, em especiarias, ovos, leite e derivados ¹⁰. A AFB1 é a micotoxina com maior carcinogenicidade conhecida, classificada pela Agência Internacional de Investigação sobre o Cancro (*International Agency for Research on Cancer - IARC*) no Grupo 1 de carcinogénicos (carcinogénico para humanos) ¹⁴. Tem sido extensamente associada à ocorrência de carcinoma hepatocelular em humanos e existe evidência de que atua sinergicamente com o vírus da hepatite B ¹⁵.

O grupo das Ocratoxinas inclui a Ocratoxina A (OTA), B (OTB), C (OTC) e os seus respetivos metil e etil ésteres, que ocorrem em vários produtos agrícolas, como cereais, cacau, café, especiarias e frutos secos. A mais estudada é a OTA, devido à sua prevalência e toxicidade, sendo classificada pelo IARC como possível carcinogénico para os humanos (grupo 2B) ¹⁶. As OTs são primariamente toxinas renais, sendo o mais provável agente causal no desenvolvimento de nefropatias e tumores uroteliais em humanos. ¹² Foram também descritas como citotóxicas, teratogénicas, imunossupressoras e hepatotóxicas em ensaios de laboratório e animais domésticos ¹⁶.

As Fumonisinas são toxinas produzidas pelo género *Fusarium*, frequentemente encontradas em frutos secos, especiarias, cereais e derivados ¹⁰. Foram já isoladas mais de 28 diferentes tipos, divididas nos grupos A, B, C e P ¹¹. A Fumonisina B1 (FB1) é

a mais abundante e a mais tóxica, classificada pelo IARC como possível carcinogénio (classe 2B)¹⁵.

Estas micotoxinas apresentam uma estrutura muito semelhante à esfinganina, o que sugere que o seu mecanismo de toxicidade esteja relacionado com a interrupção do metabolismo dos esfingolípidos¹¹. Estão implicadas no aparecimento de Leucoencefalomalácia em cavalos e no síndrome de edema pulmonar em porcos¹⁵. Nos humanos, parecem estar associadas ao aparecimento de cancro esofágico e hepático, além dos seus efeitos teratogénicos, responsáveis por defeitos de tubo neural (espinha bífida), devido à interferência na utilização do ácido fólico^{17,18}.

A Zearalenona e os seus metabolitos pertencem ao grupo das micotoxinas estrogénicas não esteróides, extensamente distribuídas em produtos agrícolas. A sua toxicidade está maioritariamente associada à sua actividade estrogénica, pois atuam como agonistas que se ligam competitivamente aos recetores de estrogénio, induzindo efeitos estrogénicos e anabólicos, como diminuição da fertilidade, vulvovaginites, feminização dos machos, entre outros¹². Estão também associadas a efeitos hematotóxicos e genotóxicos¹¹.

A Patulina é um contaminante comum de frutas e sumos de frutas, como maçã, pêra e marmelo, ocorrendo também em cereais e vegetais (tomates)⁶. Os seus teores são muito reduzidos nos processos de fermentação durante a produção de vinho e de cidra, sendo também destruída na presença de sulfitos e de ácido ascórbico, frequentemente usados como conservantes¹⁰. Os sintomas agudos resultantes do consumo de produtos contaminados com esta toxina incluem agitação, convulsões, edema, vómitos e ulceração intestinal, enquanto que para uma exposição crónica, existem evidências em animais da sua genotoxicidade, imunotoxicidade e neurotoxicidade^{19,20}. Em humanos, os seus efeitos deletérios não são ainda claros, daí ser classificada pelo IARC no Grupo 3 (não considerada carcinogénica para humanos)⁶.

A contaminação de alimentos pela Citrinina (CIT) é pouco comum, quando comparada com as restantes micotoxinas. Esta micotoxina possui uma potente ação antibacteriana, não tendo, porém, chegado a ser usada como fármaco devido à sua toxicidade, estando associada a doença renal em muitos animais. É classificada pelo IARC no Grupo 3, por falta de evidência da sua carcinogenicidade em humanos e animais²¹.

Além das acima referidas, existe ainda um grupo de micotoxinas designadas como emergentes, que foram descritas somente nas últimas décadas e que inclui a Moniliformina (MON), a Beauvericina (BEA), as Eniáticas (ENs) e a Fusaproliferina (FUS). A MON foi descrita pela primeira vez em 1973 e representa um importante contaminante de cereais, sendo encontrados níveis mais elevados no milho²². De todas as micotoxinas emergentes esta é a que apresenta maior toxicidade aguda, responsável por sintomas como fraqueza muscular, dificuldades respiratórias e degeneração e necrose do miocárdio²³. Tem sido também associada ao desenvolvimento da Doença de Keshan, uma insuficiência do miocárdio reportada em algumas áreas da China e África do Sul, assim como à Doença de Kashin-Beck, uma osteoartropatia deformativa crónica endémica na China^{10,22,24}. Os mecanismos moleculares responsáveis por esta toxicidade incluem a inibição da oxidação do piruvato e α -cetoglutarato a nível mitocondrial, resultando em efeitos citotóxicos para os linfócitos, esquelomiócitos e cardiomiócitos²².

A BEA e as ENs são micotoxinas estruturalmente muito semelhantes, apresentando propriedades ionofóricas, uma vez que atuam como transportadores de iões através das membranas, levando a alterações das concentrações fisiológicas dos mesmos²⁵. Possuem uma ação citotóxica que pode levar à fragmentação do DNA e à apoptose, devido ao aumento intracelular da concentração de cálcio, e são inibidores específicos da acil-CoA: Colesterolaciltransferase (ACAT)^{22,26}.

A FUS é outra micotoxina emergente, acerca da qual ainda se sabe muito pouco. Apenas resultados de estudos *in vitro* em plantas, insetos e culturas celulares permitem tirar algumas conclusões acerca da sua possível toxicidade, tendo evidenciado as suas propriedades fitotóxicas²⁷, toxicidade para *Artemis salina* e células de mamíferos (linfócitos B)²⁸ e ação teratogénica em embriões de galinha²⁹. Porém, existe ainda um número insuficiente de dados de toxicidade, particularmente dos seus efeitos crónicos para avaliar o impacto na saúde humana.

Recentemente tem sido dada cada vez mais importância à presença de micotoxinas que se encontram naturalmente conjugadas com outras moléculas como a glicose, glutatona e ácido glucurónico, também designadas por micotoxinas “mascaradas”. As micotoxinas conjugadas podem apresentar considerável toxicidade, em alguns casos superior à da micotoxina precursora, embora grande parte das mesmas se encontre ainda por identificar. Refira-se como exemplos de conjugados glucosídicos o Deoxinivalenol-3-glucosídeo (DON-3-G), a Zearaleno-na-4-glucosídeo (ZEN-4-G) e o Fusarenon-X-glucosídeo (FUS-X-G), os quais, apesar de apresentarem menor toxicidade, após ingestão sofrem hidrólise no tracto gastrointestinal, libertando a toxina precursora. As formas “mascaradas” podem contribuir significativamente para o teor total de micotoxinas nos alimentos, sendo necessário começar a dar-lhes a devida atenção, nomeadamente através do desenvolvimento de metodologias analíticas que permitam a quantificação da totalidade de micotoxina presente (livre + conjugada)³⁰.

Legislação

Como referido anteriormente, as micotoxinas surgem nas mais variadas matrizes, mas com particular incidência em cereais e seus derivados, como farinhas, pão, cereais de pequeno-almoço, etc. Ora,

sendo os cereais uma importante fonte de alimento para humanos e animais, a contaminação destes e outros produtos com micotoxinas torna-se um sério problema, que necessita de ser alvo de ações abrangentes de monitorização e controlo e, adicionalmente, de legislação que estabeleça limites máximos permitidos. A nível mundial, o Comité Conjunto de Peritos em Aditivos Alimentares (*Joint Expert Committee on Food Additives-JECFA*) das Nações Unidas (*World Health Organisation - WHO*) e a FAO são os organismos responsáveis pela avaliação dos riscos associados à contaminação dos alimentos com micotoxinas, enquanto que na União Europeia a entidade responsável é a Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority-EFSA*), que emite pareceres à Comissão Europeia.

A nível europeu, estão legalmente fixados limites máximos para as AFs, OTA, PAT, DON, ZEN e FMs em vários géneros alimentícios. Para a DON, ZEN e FMs os limites estabelecidos são quase exclusivamente para cereais, enquanto que para as AFs estão regulados também os níveis em frutos secos (amendoins, amêndoas, pistachos, avelãs, entre outros), leite e especiarias e para a OTA também em café e em vinhos. No que diz respeito à PAT, estão fixados limites máximos em derivados de maçã, como sumos e produtos sólidos (compota e puré para lactentes e crianças)³¹. Também os produtos destinados a alimentação animal possuem níveis máximos estabelecidos para a DON, ZEN, OTA, AFB1 e FMs^{32,33}.

Como se pode verificar, grande parte das micotoxinas não possuem ainda limites máximos estabelecidos e, atendendo ao facto destas constituírem um importante problema de saúde pública, são necessários mais estudos de forma a avaliar a sua toxicidade a fim de estabelecer limites de contaminação, de modo a garantir a segurança dos consumidores.

Ocorrência em Portugal

São vários os autores que têm avaliado a presença das micotoxinas em alimentos à venda no

nosso país, na sua maioria cereais e derivados como se pode observar na Tabela 1. Paíga *et al.* (2012)³⁴, Bento *et al.* (2009)³⁵ e Juan *et al.* (2008)³⁶ avaliaram a presença da OTA em vários tipos de pão, tendo encontrado um elevado número de amostras contaminadas, embora todas elas abaixo do limite estabelecido. Já no estudo realizado por Lino *et al.* (2007)³⁷, relativo à determinação de FMs em broa, o teor máximo encontrado foi de 550 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (FB1+FB2), o que excede bastante o limite estabelecido pela legislação (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Do mesmo modo, Silva *et al.* (2007)³⁸ ao avaliar o teor de FMs em milho e derivados encontraram amostras de farinha de milho e de milho doce cuja contaminação ultrapassava os teores máximos da legislação. Cunha e Fernandes (2010)³⁹ avaliaram a presença da ZEN e vários TRC em cereais de pequeno-almoço e farinhas, tendo encontrado teores de ZEN superiores ao fixado pela legislação nos cereais de pequeno-almoço. A AFM1 foi detetada em leite no trabalho desenvolvido por Duarte *et al.* (2013)⁴⁰ em níveis que excedem o limite máximo permitido, assim como em farinhas e fórmulas lácteas (Alvito *et al.*, 2010)⁴¹. Também vários outros produtos para crianças à base de maçã apresentaram contaminações com PAT, embora dentro dos limites estabelecidos pela legislação (Cunha *et al.*, 2009)⁴⁶. A contaminação de alimentos destinados a bebés e crianças é bastante preocupante, já que as estas representam uma população mais vulnerável, devido em parte à sua fisiologia e à sua dieta bastante restrita, sendo que qualquer contaminante representa um risco superior para a sua saúde. Quanto às micotoxinas emergentes, são ainda escassos os trabalhos portugueses. Blesa *et al.* (2012)⁴² estudaram a presença de ENs e BEA em produtos derivados de cereais e

verificaram a existência de um número considerável de amostras positivas, o que demonstra o real problema que estas micotoxinas representam e acerca das quais se sabe tão pouco. Por último, tendo em conta os trabalhos realizados em rações de animais, o número de amostras contaminadas é significativo, algumas delas com teores que ultrapassam os níveis máximos autorizados. Isto pode colocar em risco a saúde dos consumidores, uma vez que as micotoxinas ingeridas através de rações contaminadas são posteriormente encontradas em vários produtos de origem animal, como ovos e leite e seus derivados (queijo, iogurtes, etc).

Conclusão

A exposição humana a micotoxinas resultante da ingestão de alimentos contaminados pode ser considerada uma questão de saúde pública, tendo em conta a grande quantidade de produtos agrícolas que entram na cadeia alimentar animal e humana com níveis excessivos destes contaminantes. O nível actual dos conhecimentos científicos e técnicos, assim como os melhoramentos introduzidos nas técnicas de produção e armazenamento, têm contribuído para uma redução das contaminações, não permitindo, porém, eliminar totalmente a presença de micotoxinas nos alimentos. Uma vez que não é possível evitar o seu aparecimento ou eliminá-las completamente dos alimentos torna-se imprescindível a adoção de medidas preventivas adequadas, que passam por uma efetiva monitorização dos seus teores, de forma a reduzir o risco para os consumidores.

Tabela 1. Ocorrência de micotoxinas em produtos portugueses

Amostra	Micotoxinas avaliadas	Amostras positivas / Total	Gama de concentração das amostras positivas / Média ($\mu\text{g}/\text{kg}$ ou $\mu\text{g}/\text{L}$)	Referência
Pão: Broa de Avintes; Broa de milho; Carcça	OTA	Broa de Avintes: 8/8 Broa de milho: 3/4 Carcça: 2/8	Broa de Avintes: 0.05-1.93 / 0.89 Broa de milho: <LQ-1.01 / 0.42 Carcça: <LQ-0.12 / 0.12	(34)
Pão branco (regiões do Algarve e Bragança)	OTA	Pão do Algarve: 24/30 Pão de Bragança: 13/20	Algarve: <LD-0.49 / 0.13 Bragança: <LD-0.43 / 0.16	(35)
Broa	FBI, FB2	24/30 (FBI) 25/30 (FB2)	<LD-448 / 197 (FBI) <LD-207 / 77 (FB2) <LD-550 / 274 (FBI+FB2)	(37)
Pão de trigo e de milho	OTA	Pão de trigo: 4/31 Pão de milho: 21/30	Pão de trigo: <LD-0.26 / 0.02 Pão de milho: <LD-5.86 / 0.44	(36)
Leite (Pasteurizado e UHT)	AFs	11/40 (AFM1)	6.9-69.7 / 23.4 ng/L (AFM1)	(40)
Milho para pipoca e pipoca	DON, NIV, 15AcDON, ZEN, FUS-X	1/30 (ZEN e NIV)	124-124 / 124 (ZEN) 916-916 / 916 (NIV)	(43)
Cereais de pequeno-almoço	ZEN, DON, FUS-X, 15-AcDON, NIV	13/18 (DON) 12/18 (ZEN) 1/18 (15-AcDON)	<LQ-524.6 / 194 (DON) 28.2-66.6 / 42 (ZEN) 110.1-110.1 / 110.1 (15-AcDON)	(39)
Alimentos para bebés: farinhas e fórmulas lácteas (leites em pó)	AFM1, AFB1, OTA	4/27 (AFM1) 1/27 (AFB1) 10/27 (OTA)	0.017-0.041 / NM (AFM1) 0.009-0.009 / NM (AFB1) 0.034-0.212 / NM (OTA)	(44)
Farinhas (milho, trigo, madioca)	ZEN, DON, FUS-X, 15-AcDON, NIV	6/13 (DON) 3/13 (ZEN)	<LQ-434 / 253 (DON) <LQ - 27 / 21(ZEN)	(39)
Milho e derivados (farinha, sémola, amido, milho doce, cornflakes e outros cereais, snacks)	FMS (FBI + FB2)	Milho Amarelo: 6/9 Milho Branco: 2/2 Farinha de Milho: 2/3 Sémola de Milho: 2/3 Amido de Milho: 0/3 Milho Doce: 2/11 Cornflakes:0/16 Outros Cereais: 0/4 Snacks de Milho: 1/16	Milho Amarelo: NM-1061 / 421 Milho Branco: NM-1162 / 638 Farinha de Milho: NM-2026 / 995 Sémola de Milho: NM-183 / 118 Milho Doce: NM-523 / 64 Snacks de Milho: NM-260 / 16	(38)
Produtos derivados de cereais: pasta, cereais pequeno-almoço, farinhas, alimentos para crianças, arroz, pão	ENs (ENA, ENA1, ENB, ENB1), BEA	10/61 (ENA) 32/61 (ENA1) 30/61 (ENB) 27/61 (ENB1) 1/61 (BEA)	2.6-71 / 13 (ENA) 3.4-789 / 56 (ENA1) 1.6-491 / 49 (ENB) 2.8-369 / 33 (ENB1) 3.2-3.2 / 3.2 (BEA)	(42)
Produtos derivados de maçã: sumos (limpidos e opacos) e purés	PAT	Sumos limpidos: 4/32 Sumos opacos: 24/36 Purés: 5/76	Sumos limpidos: <LD-5.5 / NM Sumos opacos: <LD-42 / NM Purés: <LD-5.7 / NM	(45)
Maçã e derivados (sumos convencionais e orgânicos; cidra, alimentos para bebés) e marmelada	PAT	Sumos orgânicos: 6/6 Sumos convencionais: 18/23 Cidra: 0/2 Alimentos para bebés: 1/2 Marmelada: 4/10	Sumos orgânicos: <LQ-8.9 / NM Sumos convencionais: <LQ-12.6 / NM Alimentos para bebés: 9.1-9.1 / 9.1 Marmelada: 9.74-28.62 / NM	(46)

Maçãs	PAT, CIT	241/351 (PAT) 14/351 (CIT)	0.32-0.92 / NM (CIT) 3.06-80.5 / NM (PAT)	(47)
Uvas (região do Dão e Ilha da Madeira)	OTA	3/4	9.5-115.6 / NM	(48)
Vinho tinto e branco	OTA	Vinho tinto: 9/35 Vinho branco: 3/25	Vinho tinto: <LQ-1.23 / NM Vinho branco: <LQ-2.4 / NM	(49)
Vinho do Porto, vinho do porto adulterado e Vinho Verde	OTA	Vinho do Porto: 0/31 Vinho do Porto adulterado: 3/3 Vinho Verde: 0/30	Vinho do Porto adulterado: 0.05-0.08 / NM	(50)
Amêndoas	AFs	1/21 (AFB1)	4.97-4.97 / 4.97	(51)
Ração de animais: para porcos e galinhas poedeiras	OTA	Ração para porcos: 31/478 Ração para galinhas poedeiras: 12/186	Ração para porcos: <LD-130 / NM Ração para galinhas poedeiras: <LD-10.9 / NM	(52)
Ração de porcos para engorda e para porcas	Ração de porcos para engorda: OTA, ZEN, DON Ração para porcas: ZEN, FMs (FB1+FB2)	Ração de porcos para engorda: 21/277 (OTA) 69/277 (ZEN) 47/277 (DON) e para porcas 38/127 (ZEN) 11/127 (FMs)	Ração de porcos para engorda: 2-6.8 / 3.9 (OTA) 5-73 / 18.9 (ZEN) 100-864 / 223.2 (DON) e para porcas 5-57.7 / 19.4 (ZEN) 50-391.4 / 163.7 (FMs)	(53)
Ração para animais	AFB1, OTA, DON, ZEN, FB1	436/1584 (AFB1) 36/220 (OTA) 27/361 (DON) 4/80 (ZEN) 6/357 (FB1)	1-80 / NM (AFB1) 2-5 / NM (OTA) 100-1649 / NM (DON) 104-356 / NM (ZEN) 12-34 / NM (FB1)	(54)

Legenda: LD - Limite de deteção; LQ - Limite de quantificação; NM - Não mencionado

Referências bibliográficas

1. Kralj Cigic I, Prosen H. An Overview of Conventional and Emerging Analytical Methods for the Determination of Mycotoxins. *Int. J Mol Sci.* 2009;10(1):62–115.
2. FAO. Mycotoxins. Food safety and quality. 2013. Available from: <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/a-z-index/mycotoxins/en/>
3. Aljicevic M, Beslagic E, Zvizdic S, Hamzic S, Rebic V. Mycotoxins. *HealthMED.* 2008;2(3):176–82.
4. Ficheux AS, Sibiril Y, Parent-massin D. Co-exposure of Fusarium mycotoxins : In vitro myelotoxicity assessment on human hematopoietic progenitors. *Toxicon.*2012;60(6):1171–9.
5. Angsubhakorn S. Mycotoxins and human health risks an overview. Mycotoxin prevention and control in foodgrains (FAO - Agriculture and Consumer Protection Department). 1989. Available from: <http://www.fao.org/docrep/X5036E/x5036E05.htm#Mycotoxins and human health risks an overview>
6. Bhat R, Rai R V, Karim AA. Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2010;9(1):57–81.
7. Lutsky II, Mor N. Alimentary toxic aleukia (septic angina, endemic panmyelotoxicosis, alimentary hemorrhagic aleukia): t-2 toxin-induced intoxication of cats. *Am J Pathol.* 1981;104(2):189–91.
8. Wannemacher RW, Wiener ST. Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. Chapter 34 - Trichothecene Mycotoxins. Washington, DC: Office of The Surgeon General Department of the Army, United States of America; 1997. p. 655–76.
9. RASFF. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) - 2011 Annual Report. 2011 p. 18–9.
10. Scudamore KA. Bioactive Compounds in Foods. Gilbert J, Enyuva HZ, editors. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.; 2008. p. 134–72.
11. Yazar S, Omurtag GZ. Fumonisin, trichothecenes and zearalenone in cereals. *Int J Mol Sci.* 2008; 9:2062–90.
12. Richard JL. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses-An overview. *Int J Food Microbiol.* 2007;119:3–10.
13. Shephard GS. Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century. *Anal Bioanal Chem.* 2009; 395:1215–24.
14. Milićević DR, Skrinjar M, Baltić T. Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: challenges for food safety control. *Toxins.* 2010;2(4):572–92.
15. Wild CP, Gong YY. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis.* 2010;31(1):71–82.
16. Amézqueta S, Schorr-Galindo S, Murillo-Arbizu M, González-Peñas E, López de Cerain a., Guiraud JP. OTA-producing fungi in foodstuffs: A review. *Food Control.* 2012;26(2):259–68.
17. Waśkiewicz A, Beszterda M, Goliński P. Occurrence of fumonisins in food – An interdisciplinary approach to the problem. *Food Control.* 2012;26(2):491–9.
18. Marasas WFO, Riley RT, Hendricks K a, Stevens VL, Sadler TW, Gelineau-van Waes J, et al. Fumonisin disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo: a potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin-contaminated maize. *J Nut.* 2004;134(4):711–6.
19. Puel O, Galtier P, Oswald IP. Biosynthesis and toxicological effects of patulin. *Toxins.* 2010;2(4):613–31.
20. Moake MM, Padilla-zakour OI, Worobo RW. Comprehensive Review of Patulin Control Methods in Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2005;4(1):8–21.
21. Flajs D, Peraica M. Toxicological properties of citrinin. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju.* 2009;60(4):457–64.
22. Jestoi M. Emerging fusarium-mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2008;48(1):21–49.

23. Jonsson M, Jestoi M, Nathanail A V, Kokkonen U-M, Anttila M, Koivisto P, et al. Application of OECD Guideline 423 in assessing the acute oral toxicity of moniliformin. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;53:27–32.
24. Zhang A, Cao J, Yang B, Chen J, Zhang Z, Li S, et al. Effects of moniliformin and selenium on human articular cartilage metabolism and their potential relationships to the pathogenesis of Kashin-Beck disease. *Journal of Zhejiang University: Science B*. 2010;11(3):200–8.
25. Reyes-Velázquez WP, Figueroa-Gómez RM, Barberis M, Reynoso MM, Rojo FG a., Chulze SN, et al. *Fusarium* species (section *Liseola*) occurrence and natural incidence of beauvericin, fusaproliferin and fumonisins in maize hybrids harvested in Mexico. *Mycotoxin Research*. 2011;27(3):187–94.
26. Gammelsrud A, Solhaug A, Dendelé B, Sandberg WJ, Ivanova L, Kocbach Bølling A, et al. Enniatin B-induced cell death and inflammatory responses in RAW 267.4 murine macrophages. *Toxicol Appl Pharmacology*. 2012;261(1):74–87.
27. Nadubinská M, Ritieni A, Moretti A, Šrobárová A. Chlorophyll content in maize plants after treatment with fusariotoxins. *Biologia - Section Botany*. 2003;58(1):115–9.
28. Logrieco A, Moretti A, Fornelli F, Fogliano V, Ritieni A, Caiaffa MF, et al. Fusaproliferin production by *Fusarium subglutinans* and its toxicity to *Artemia salina*, SF-9 insect cells, and IARC/LCL 171 human B lymphocytes. *Applied and Environmental Microbiology*. 1996;62(9):3378–84.
29. Ritieni A, Monti SM, Randazzo G, Logrieco A, Moretti A, Peluso G, et al. Teratogenic Effects of Fusaproliferin on Chicken Embryos. *J Agricult Food Chem*. 1997;45(8):3039–43.
30. Berthiller F, Crews C, Asta CD, Saeger S De, Hae-saert G, Karlovsky P, et al. Masked mycotoxins : A review. *Mol Nut Food Res*. 2013;57(1):165–86.
31. European Commission EC. Regulation (EC) No 1881/2006 on setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. 2010 p. 1–26. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1881:20100701:EN:PDF>
32. European Commission EC. DIRECTIVE 2002/32/EC on undesirable substances in animal feed. 2010 p. 1–27. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002L0032:20100302:EN:PDF>
33. European Commission EC. Commission Recommendation 2006/576/EC on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. 2006 p. 7–9. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:229:0007:0009:EN:PDF>
34. Paíga P, Morais S, Oliva-Teles T, Correia M, Dele-rue-Matos C, Duarte SC, et al. Extraction of ochratoxin A in bread samples by the QuEChERS methodology. *Food Chem*. 2012;135(4):2522–8.
35. Bento JM V, Pena A, Lino CM, Pereira JA. Determination of ochratoxin A content in wheat bread samples collected from the Algarve and Bragança regions , Portugal : Winter 2007. *Microchemical Journal*. 2009;91(2):165–9.
36. Juan C, Pena A, Lino C, Moltó JC, Mañes J. Levels of ochratoxin A in wheat and maize bread from the central zone of Portugal. *Int J Food Microbiol*. 2008;127(3):284–9.
37. Lino CM, Silva LJG, Pena A, Fernández M, Mañes J. Occurrence of fumonisins B 1 and B 2 in broa, typical Portuguese maize bread. *International Journal of Food Microbiology*. 2007;118(1):79–82.
38. Silva LJG, Lino CM, Pena A, Molto JC. Occurrence of fumonisins B 1 and B 2 in Portuguese maize and maize-based foods intended for human consumption. *Food Additives and Contaminants*. 2007;24(4):381–90.
39. Cunha SC, Fernandes JO. Development and validation of a method based on a QuEChERS procedure and heart-cutting GC-MS for determination of five mycotoxins in cereal products. *J Sep Sci*. 2010;33(4-5):600–9.
40. Duarte SC, Almeida a. M, Teixeira a. S, Pereira a. L, Falcão a. C, Pena a., et al. Aflatoxin M1 in

- marketed milk in Portugal: Assessment of human and animal exposure. *Food Control*. 2013 Apr;30(2):411–7.
41. Alvito PC, Sizoo EA, Almeida CMM, Egmond HP Van. Occurrence of Aflatoxins and Ochratoxin A in Baby Foods in Portugal. *Food Analytical Methods*. 2010;3(1):22–30.
42. Blesa J, Marín R, Lino CM, Mañes J. Evaluation of enniatins A, A1, B, B1 and beauvericin in Portuguese cereal-based foods. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2012;29(11):1727–35.
43. Ferreira I, Fernandes JO, Cunha SC. Optimization and validation of a method based in a QuEChERS procedure and gas chromatography–mass spectrometry for the determination of multi-mycotoxins in popcorn. *Food Control*. 2012;27(1):188–93.
44. Alvito PC, Sizoo EA, Almeida CMM, Egmond HP Van. Occurrence of Aflatoxins and Ochratoxin A in Baby Foods in Portugal. *Food Analytical Methods*. 2010;3(1):22–30.
45. Barreira MJ, Alvito PC, Almeida CMM. Occurrence of patulin in apple-based-foods in Portugal. *Food Chem*. 2010;121(3):653–8.
46. Cunha SC, Faria MA, Fernandes JO. Determination of patulin in apple and quince products by GC–MS using 13C5–7 patulin as internal standard. *Food Chem*. 2009;115(1):352–9.
47. Martins M., Gimeno A, Martins HM, Bernardo F. Co-occurrence of patulin and citrinin in Portuguese apples with rotten spots. *Food Additives and Contaminants*. 2002;19(6):568–75.
48. Serra R, Mendonc C, Vena A. Fungi and ochratoxin A detected in healthy grapes for wine production. *Letters in Applied Microbiology*. 2006;42(1):42–7.
49. Pena A, Cerejo F, Silva LJG, Lino CM. Ochratoxin A survey in Portuguese wine by LC – FD with direct injection. *Talanta*. 2010;82(4):1556–61.
50. Festas I, Herbert P, Santos L, Cabral M, Barros P, Alves A. Ochratoxin A in Some Portuguese Wines: Method Validation and Screening in Port Wine and Vinho Verde. *American Journal of Enology and Viticulture*. 2000;51(2):150–4.
51. Rodrigues P, Venâncio A, Lima N. Aflatoxigenic Fungi and Aflatoxins in Portuguese Almonds. *The Scientific World Journal*. 2012;2012:1–9.
52. Martins HM, Almeida I, Camacho C, Costa JM, Bernardo F. A survey on the occurrence of ochratoxin A in feeds for swine and laying hens. *Mycotoxin Res*. 2012;28(2):107–10.
53. Almeida I, Martins HM, Santos S, Costa JM, Bernardo F. Co-occurrence of mycotoxins in swine feed produced in Portugal. *Mycotoxin Res*. 2011;1–5.
54. Martins HM, Marques M, Almeida I, Guerra MM, Bernardo F. Mycotoxins in feedstuffs in Portugal : an overview. *Mycotoxin Res*. 2008;24(1):19–23.

Lista de Abreviaturas

- 15AcDON – 15-Acetil-Deoxinivalenol
 AFB1 – Aflatoxina B1
 AFB2 – Aflatoxina B2
 AFG1 – Aflatoxina G1
 AFG2 – Aflatoxina G2
 AFM1 – Aflatoxina M1
 AFM2 – Aflatoxina M2
 AFs – Aflatoxinas
 BEA – Beauvericina
 CIT – Citrinina
 DAS – Diacetoxiscirpenol
 DON – Deoxinivalenol
 EFSA – *European Food Safety Authority*
 ENs – Eniatinas
 FAO – *Food and Agriculture Organization*
 FB1 – Fumonisina B1
 FB2 – Fumonisina B2 FMs – Fumonisinias
 FUS – Fusaproliferina
 FUS-X – Fusarenon-X
 IARC – *International Agency for Research on Cancer*
 JECFA – *Joint Expert Committee on Food Additives*

MON – Moniliformina
NIV – Nivalenol
OTA – Ocratoxina A
OTs – Ocratoxinas
PAT – Patulina
RASFF – *Rapid Alert System for Food and Feed*
TRC – Tricotecenos
WHO – *World Health Organisation*
ZEN – Zearalenona

Agradecimentos:

Trabalho financiado pela FCT projeto “PTDC/AGR-ALI/101583/2008” e COMPETE FSE/FEDER. S.C.C. agradece “POPH-QREN- Tipologia 4.2, Fundo Social Europeu e Fundo Nacional MCTES”. V.L.P. agradece à FCT pela Bolsa de Investigação do projeto “PTDC/AGR-ALI/101583/2008”.