

Artigo

Micotoxinas e seu Potencial como Agentes de Guerra**Santos, M. C.; Sousa, R. B.; Oliveira, S. E. M.; Lima, K.S.C.; Lima, A. L. S.****Rev. Virtual Quim.*, 2014, 6 (3), 761-778. Data de publicação na Web: 17 de abril de 2014<http://www.uff.br/rvq>**Mycotoxins and their Potential as Warfare Agents**

Abstract: This article is a brief review of mycotoxins, emphasizing its potential as a warfare agent. Mycotoxins are secondary metabolites of fungi, with varying toxicity, which greatly affect agricultural products worldwide. In addition to its natural occurrence, their characteristics provide conditions that would enable its use in combat or attacks, thus constituting cause for concern. Here we present just some of them, among the ones which generate more losses and the ones more risky. The mycotoxins covered are aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, fumonisin B1, patulin, Ergot alkaloids and trichothecenes, with their chemical properties and structures, their symptoms of mycotoxicosis and other information deemed relevant. Historical facts show that there are precedents that justify the need for developing techniques for detection, determination, decontamination and detoxification, aspects also explored in this paper. Are also addressed the mechanisms of action of these substances in the body and the resulting impacts on the economy.

Keywords: Mycotoxins; biological warfare; chemical warfare.

Resumo

O presente artigo faz uma breve revisão sobre as micotoxinas, enfatizando seu potencial como agente de guerra. Micotoxinas são metabólitos secundários de fungos, com variada toxicidade, que afetam enormemente produtos agrícolas em todo o mundo. Além de sua ocorrência natural, suas características propiciam condições que possibilitariam seu uso em combate ou em atentados, constituindo assim motivo de preocupação. São citadas aqui apenas algumas das principais, entre as que mais geram prejuízos e as que mais oferecem risco. As micotoxinas abordadas são aflatoxina, ocratoxina, zearalenona, fumonisina B1, patulina, alcaloides de Ergot e tricotecenos, com suas estruturas químicas, propriedades, sintomas das respectivas micotoxicoses e demais informações julgadas pertinentes. Fatos históricos mostram que há precedentes que justificam a necessidade de desenvolvimento de técnicas de detecção, determinação, descontaminação e desintoxicação, aspectos também explorados no presente documento. São abordados, ainda, os mecanismos de ação destas substâncias no organismo e os impactos na economia resultantes de sua ocorrência.

Palavras-chave: Micotoxinas; guerra biológica; guerra química.

* Instituto Militar de Engenharia, Seção de Engenharia Química, Praça General Tibúrcio 80, CEP 22290-270, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ marcelocarneiro@ime.eb.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20140046](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20140046)

Micotoxinas e seu Potencial como Agentes de Guerra

**Marcelo C. dos Santos,* Roberto B. Sousa, Sérgio Eduardo M. Oliveira,
Keila S. C. Lima, Antônio Luiz S. Lima**

Instituto Militar de Engenharia, Seção de Engenharia Química, Praça General Tibúrcio 80, CEP
22290-270, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

* marcelocarneiro@ime.eb.br

Recebido em 15 de abril de 2014. Aceito para publicação em 16 de abril de 2014

- 1. Introdução**
- 2. Histórico**
- 3. Definição**
- 4. Principais Micotoxinas**
 - 4.1. Aflatoxinas**
 - 4.2. Ocratoxina**
 - 4.3. Zearalenona**
 - 4.4. Fumonisina B1**
 - 4.5. Patulina**
 - 4.6. Alcaloides de Ergot**
 - 4.7. Tricotecenos**
- 5. Modo de ação**
- 6. Impacto na economia**
- 7. Micotoxinas como agentes de guerra**
- 8. Métodos de detecção e determinação**
- 9. Métodos de descontaminação e desintoxicação**
- 10. Conclusões**

1. Introdução

Os fungos são elementos microbianos encontrados em todos os lugares, seja na água, ar ou no solo.¹ Existem milhares de espécies e, dentre estes milhares, algumas espécies atacam ou apenas sobrevivem em

produtos agrícolas. Fazendo parte de uma parcela ainda mais restrita, alguns destes são capazes de produzir toxinas, chamadas de micotoxinas.¹ Os chamados fungos micotoxigênicos podem encontrar condições favoráveis ao seu crescimento em todas as etapas da produção agrícola, desde o cultivo e colheita ao transporte e armazenamento.

A proliferação indiscriminada de fungos e a provável consequente produção de micotoxinas é assunto de grande preocupação na sociedade moderna, especialmente nos países cujas autoridades já voltaram sua atenção a este grande risco à saúde humana. Por ser um assunto ainda parcamente estudado, não são bem conhecidos todos seus efeitos e tampouco métodos eficientes de controle.

Aliando estes fatos à ciência de que tais substâncias já foram utilizadas em guerra, com potencial considerável para ataques e atentados, a continuidade da pesquisa no intuito de conhecê-las melhor e desenvolver possíveis metodologias para defesa e descontaminação é plenamente justificada.

2. Histórico

As micotoxinas têm recebido atenção considerável nas últimas décadas, constituindo um tema de importância internacional. Os problemas associados aos danos por fungos e o risco de consumir grãos danificados, no entanto, já são conhecidos há centenas de anos. A ocorrência do ergotismo, resultante da infestação de grãos por fungos *Claviceps*, que causa sintomas compatíveis aos relatados em determinados grupos desde os tempos bíblicos, tem sido apontada como uma importante causa de mortandade na Europa medieval.² A utilização de trigo, que é altamente suscetível às espécies *Fusarium*, produzindo tricotecenos, aumentou substancialmente neste período e tem sido relacionada às pragas epidêmicas desta época. Durante a primeira metade do século XIX a possibilidade de doenças humanas ocorrendo como resultado do consumo de arroz e trigo contaminados foi considerada no Japão e em outros países asiáticos.

O problema das micotoxicoses ganhou maior atenção a partir de 1960, quando mais de 100.000 perus morreram em fazendas de aves na Inglaterra no decorrer de alguns meses como resultado de uma doença aparentemente nova, que foi denominada

"Turkey X".¹ Logo foi descoberto que a doença não se limitou a perus. Patos e faisões também foram afetados e houve grande mortalidade, devido ao consumo de ração produzida com amendoim importado do Brasil e da África. A análise da ração demonstrou que havia grande quantidade de uma substância fluorescente produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*, denominada aflatoxina.³ A ocorrência deste incidente levou à suspeita de que outros metabólitos de fungos poderiam ser mortais. A partir de então, o termo micotoxina foi utilizado para incluir uma série de toxinas fúngicas previamente conhecidas (por exemplo, os alcaloides da cravagem do centeio, causadores do ergotismo), alguns compostos que originalmente haviam sido isolados como antibióticos (patulina, por exemplo) e uma série de novos metabólitos secundários (a ocratoxina A, por exemplo).

O período entre 1960 e 1975 foi marcado por um grande avanço na pesquisa e descoberta de outras micotoxinas, graças ao forte financiamento destinado a este fim. Nos dias de hoje, são conhecidas mais de 300 destas substâncias. No entanto, somente um pequeno grupo recebe atenção especial por representarem ameaça à saúde humana e animal.

3. Definição

O termo micotoxina é derivado da palavra grega *Mykes* que significa fungo e *Toxicum* que significa veneno ou toxina.⁴ Micotoxinas são metabólitos secundários, biossintetizados e excretados através de um conjunto de vias metabólicas, não essenciais para o crescimento e sobrevivência do organismo, com variado grau de toxicidade e produzidos por diversos fungos, tendo destaque os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*.⁵ Estas substâncias, tóxicas para seres humanos e animais, causam grande impacto na economia e na saúde pública. Estimativas indicam que aproximadamente 25% de todos os produtos agrícolas do mundo estejam

contaminados por estas substâncias.³ Não há ainda consenso quanto aos fatores que levam à produção das micotoxinas pelos fungos, já que nem todos eles as produzem, mas é fato que algumas medidas podem e devem ser adotadas na sua prevenção. Dentre estas, podemos citar a utilização de linhagens de plantas resistentes à colonização fúngica, colheita apropriada, estocagem adequada, controle de insetos e roedores, controle de temperatura e umidade, tempo de estocagem dentro dos limites de vitalidade dos grãos e irradiação dos grãos.¹

A contaminação com micotoxinas varia bastante de uma época para outra, e essa variação é algo difícil de ser evitado. Práticas adequadas para cultivo e manuseio em uma determinada condição climática podem não ser indicadas em outras situações de temperatura e umidade. A imprevisibilidade e aleatoriedade destas alterações inviabiliza a previsão dos níveis de contaminação futuros.¹

Quimicamente as micotoxinas são moléculas relativamente pequenas, mas com uma grande diversidade estrutural, o que resulta em variadíssimos efeitos biológicos e demanda procedimentos diversos para identificação e quantificação.⁵ Seu baixo peso molecular faz com que dificilmente sejam detectadas por antígenos nos organismos. Elas têm por característica serem termoestáveis, ou seja, uma vez presentes nos alimentos ou matéria prima, dificilmente serão eliminadas nos processos subsequentes de preparo do produto final, o que ressalta a importância da prevenção da contaminação.⁵

Os piores efeitos das micotoxinas no homem tendem a ser os crônicos, de difícil associação com o consumo de alimentos contaminados.¹ Eles se desenvolvem lenta e continuamente, em um processo que pode durar de dias a anos. Casos agudos, no entanto, podem ocorrer. Os sinais e sintomas vão desde lesões de pele, sintomas de hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, hematotoxicidade e genototoxicidade, podendo ocasionar o óbito. Podem apresentar, ainda, efeitos

mutagênicos, teratogênicos, carcinogênicos ou imunossupressores.⁶

Nem todas as micotoxinas são prejudiciais ao homem, no entanto.⁷ O antibiótico natural penicilina é produzido por um fungo, comumente encontrado em pão, chamado *Penicillium chrysogenum* (ou *P. notatum*). Outro exemplo é a substância conhecida como cefalosporina, isolada do fungo *Cephalosporum acremonium*, que inibe o crescimento de diversas bactérias e cujos derivados ainda são de grande importância contra os micro-organismos resistentes à penicilina.¹

Diversos países já contam com legislação versando sobre limites toleráveis das micotoxinas, o que afeta diretamente a economia mundial, já que todas as exportações de produtos agrícolas para estes países estarão submetidos aos critérios estabelecidos. No Brasil, os limites permitidos de micotoxinas em alimentos foram atualizados em regulamentação recente, publicada em 22 de fevereiro de 2011 no Diário Oficial da União.⁸

4. Principais Micotoxinas

4.1. Aflatoxina

As aflatoxinas são derivados cumarínicos policíclicos insaturados e altamente substituídos. Há duas espécies principais produtoras de aflatoxinas.⁹ A espécie *Aspergillus flavus* produz apenas aflatoxina B, e a espécie *Aspergillus parasiticus* produz aflatoxinas B e G.¹⁰ As aflatoxinas M1 e M2 são metabólitos hidroxilados dos tipos B1 e B2, respectivamente, e são produzidas quando ingeridas por humanos e animais, sendo excretadas no leite (humano e animal), urina e fezes dos que consumiram alimentos contaminados por essas aflatoxinas. Há ainda o aflatoxicol, que é produzido pela redução da AFB1 por uma enzima citoplasmática.¹¹

As aflatoxinas foram responsáveis pela

morte de mais de 100.000 perus no sul da Inglaterra, em 1960, quando farinha de amendoim foi dada para os perus como um subproduto da extração do óleo de amendoim.⁹ O alimento foi fortemente contaminado com *A. flavus*, que produziu a micotoxina. Vários surtos de aflatoxicoses já ocorreram em países tropicais, com maior incidência em adultos de populações rurais com baixo nível de nutrição e onde o milho é base da alimentação. Nos casos de intoxicação aguda, a taxa de mortalidade pode variar de 10 a 60%.¹¹ São compostos extremamente tóxicos, imunossupressores, mutagênicos, teratogênicos e carcinogênicos, e têm como principal alvo no organismo o fígado.^{9,11}

A fórmula do tipo B1, o mais comum, é $C_{17}H_{14}O_6$, seu peso molecular 314,3, e seu nome IUPAC (6aR,9aS)-4-methoxy-2,3,6a,9a-tetrahydrocyclopenta[c]furo[3',2':4,5]furo[2,3-h]chromene-1,11-dione. Sua estrutura está mostrada na Figura 1.⁹

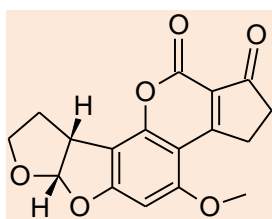


Figura 1. Estrutura molecular da aflatoxina B1

São compostos termicamente estáveis em ambientes secos. São substâncias cristalinas, muito solúveis em solventes moderadamente polares, tais como clorofórmio, metanol e dimetil sulfóxido, e dissolvem-se em água na proporção de 10-20 mg/litro. Eles fluorescem sob radiação UV.

Embora os dois fungos sejam bastante comuns, o *A. parasiticus* predomina em países tropicais e subtropicais. Eles crescem sobre uma vasta gama de produtos alimentares, podendo infectar alimentos mesmo antes da colheita. Elas ocorrem em milho, nozes, amendoim, castanha do Pará, pistache, cereais e arroz, em condições de alta umidade e temperatura. Países com

clima temperado são muito pouco afetados, ocorrendo predominantemente pela importação de produtos.¹²

Os limites tolerados desta substância, pela legislação brasileira, variam bastante de acordo com o produto, indo de 1 µg/kg em alimentos à base de cereais para alimentação infantil a 20 µg/kg em castanhas e amendoins com casca.⁸

Possuem, em geral, muito boa estabilidade ao calor durante o processamento térmico de alimentos e rações. Uma redução de concentração apenas parcial e variável pode ser observada durante autoclavagem, fervura, cocção, extrusão ou processos de fermentação.⁹

4.2. Ocratoxina

Ocratoxinas são micotoxinas produzidas pelos gêneros de fungos *Aspergillus* e *Penicillium*, incluindo *A. ochraceus*, *A. circumdati*, *A. nigri* e *P. verrucosum*. Há três principais tipos, comumente conhecidas como A, B e C. As ocratoxinas são ácidos orgânicos fracos, derivados da di-hidrometil-isocumarina.¹³ Quanto à sua estrutura há pouca diferenciação entre os diferentes tipos; o tipo "A" (OTA), porém, é consideravelmente mais tóxica que as demais, devido à presença de cloro em sua molécula.¹³ Neste trabalho discorreremos especificamente sobre esta variação, que é também a mais comum delas.

Apesar de numerosos casos de intoxicação supostamente atribuídos à ocratoxina A, ela foi isolada pela primeira vez a partir de uma cultura de *Aspergillus ochraceus* em 1965, na África do Sul. É uma micotoxina de ação nefrotóxica, que pode causar câncer em animais de laboratório e em suínos. Apresenta também ação imunossupressora, genotóxica, carcinogênica e teratogênica. Seus efeitos podem ser crônicos ou agudos.¹¹

Sua fórmula é $C_{20}H_{18}ClNO_6$, com peso molecular 403,81, e nome IUPAC N-[(3R)-(5-Cloro-8-hidroxi-3-metil-1-oxo-7-

isocromanil)carbonil]-L-fenilalanina. Sua estrutura está mostrada na Figura 2.¹⁴

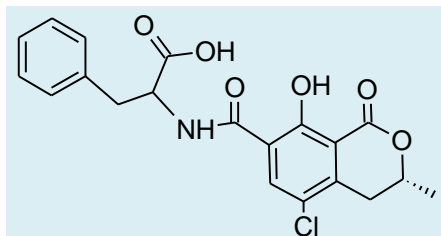


Figura 2. Estrutura molecular da ocratoxina

Assim como a maioria das micotoxinas, a OTA é termicamente estável, e resiste aos processos de cocção em alguma proporção, variando de acordo com a temperatura utilizada, pH e outros fatores. É encontrada principalmente em milho e cevada, mas contamina também milho, arroz, ervilhas, feijão, ervilha, café, pão e vinhos.¹⁵

A legislação brasileira hoje define como limite máximo tolerável 20 µg/kg em cereais para posterior processamento, incluindo grão de cevada.⁸ Na União Europeia são considerados os limites de 10 µg/kg para uvas passa, 3 µg/kg para produtos derivados de cereais e 5 µg/kg para cereais. A OTA é destruída em hidrólise alcalina e ácida, e pela ação de alguns agentes oxidantes.¹⁶

4.3. Zearalenona

É uma micotoxina produzida por diversos fungos do gênero *Fusarium*, como *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. proliferatum* e *F. cerealis*.¹⁷ Apesar de haver poucos registros sobre surtos com origem em contaminações com zearalenona, em 1978 e 1981 em Porto Rico, e em 1997 no sudeste da Hungria ela foi considerada como agente causador de puberdade precoce em meninas.⁹

É um composto estrogênico responsável pela síndrome estrogênica em suínos. Embora não haja confirmação de seus efeitos como causa de doença em humanos, a

ocorrência de puberdade precoce e ginecomastia é correlacionada com a presença em altas concentrações de zearalenona em alimentos à base de milho, além de fibrose do útero, cancro de mama, carcinoma do endométrio, hiperplasia do útero, diminuição da fertilidade e influência nas atividades das glândulas adrenal, tireoide e pituitária.¹⁸

Sua fórmula é C₁₈H₂₂O₅, com peso molecular 318,37, e nome IUPAC “(3S,11E)-14,16-dihydroxy-3-methyl-3,4,5,6,9,10-hexahydro-1H-2-benzoxacyclotetradecine-1,7(8H)-dione”. Sua estrutura está mostrada na Figura 3.¹⁷

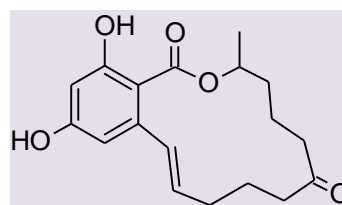


Figura 3. Estrutura molecular da zearalenona

A zearalenona é um composto cristalino branco, insolúvel em água e solúvel em vários solventes orgânicos. É um composto estável, resiste ao armazenamento, moagem, processamento e cozedura de produtos alimentares. Não se decompõe a temperaturas elevadas. Sua estrutura permite sua ligação a receptores de estrogênios de mamíferos, interferindo com a concepção, ovulação, implantação e desenvolvimento fetal. Possui também atividade anabólica.¹⁷

Os fungos produtores infectam os cereais antes da colheita, crescendo e produzindo suas toxinas durante o armazenamento, quando sob más condições de temperatura e umidade (>22%). Alguns dos mais afetados são a cevada, aveia, trigo, arroz e milho, ocorrendo tanto em regiões de clima temperado quanto em locais mais quentes.¹⁷

Atualmente os limites tolerados desta micotoxina de acordo com a legislação brasileira estão mostrados na Tabela 1. A

partir de 2016 deverão ser adotados os limites previstos na Tabela 2.⁸

Embora não estejam ainda bem definidos métodos de descontaminação da zearalenona, esforços têm sido conduzidos no desenvolvimento de organismos

geneticamente modificados, que produziram enzimas capazes de degradá-la. Estudos apontam o fungo *Clonostachys rosea* como sendo capaz de converter a zearalenona em um composto com propriedade estrogênica bem menor.¹⁹

Tabela 1. Limites máximos aceitáveis para zearalenona – aplicação desde janeiro de 2014⁸

Alimento	LMT (µg/kg)
Alimentos à base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	20
Farinha de trigo, massas, crackers e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	200
Arroz beneficiado e derivados	200
Arroz integral	800
Farelo de arroz	1000
Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos e subprodutos à base de milho	300
Trigo integral, farinha de trigo integral, farelo de trigo	400
Milho em grão e trigo para posterior processamento	400

Tabela 2. Valores máximos aceitáveis para zearalenona - aplicação em janeiro de 2016⁸

Alimento	LMT (µg/kg)
Farinha de trigo, massas, crackers e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada.	100
Arroz beneficiado e derivados	100
Arroz integral	400
Farelo de arroz	600
Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos e sub-produtos à base de milho	150
Trigo integral, farinha de trigo integral, farelo de trigo	200

4.4. Fumonissina B1

As fumonissinas são micotoxinas produzidas por vários fungos do gênero *Fusarium*, incluindo *F. anthophilum*, *F. dlamini*, *F. napiforme*, *F. nygami*, *F. moniforme* e *F. proliferatum*.¹

Descoberto em 1988, este grupo de micotoxinas tem como variações mais comuns os tipos B1, B2, e B3, sendo a primeira delas a que mais demanda atenção devido à sua elevada toxicidade e por representar aproximadamente 70% do total de fumonissinas encontradas nos alimentos contaminados.²⁰ Neste texto falaremos especificamente, portanto, da FB1.

No estudo de seus sintomas, foi demonstrado que a fumonisina B1 apresenta efeitos hepatotóxicos, nefrotóxicos e imunossupressor em ratos, além de ser hepatocarcinógeno não genotóxico. O consumo de alimentos contaminados com esta micotoxina pode causar leucoencefalomalácia em cavalos e edema pulmonar em suínos. Em seres humanos estudos indicam frequência maior de câncer de esôfago em regiões com alta ingestão de milho e elevados níveis de contaminação por

fumonisinias.²¹

Sua fórmula é $C_{34}H_{59}NO_{15}$, com nome IUPAC "1,2,3-propanetricarboxylic acid, 1,1'-(1-(12-amino-4,9,11-trihydroxy-2-methyltridecyl)-2-(1-methylpentyl)-1,2-ethanediyl) ester" (Figura 4), e peso molecular 721.83 g/mol.²² A fumonisina B1 é estável ao calor, e resiste aos processos de fermentação envolvidos na produção do etanol. É levemente solúvel em água, solúvel em acetonitrila. Sua estrutura está mostrada na Figura 4.²⁰

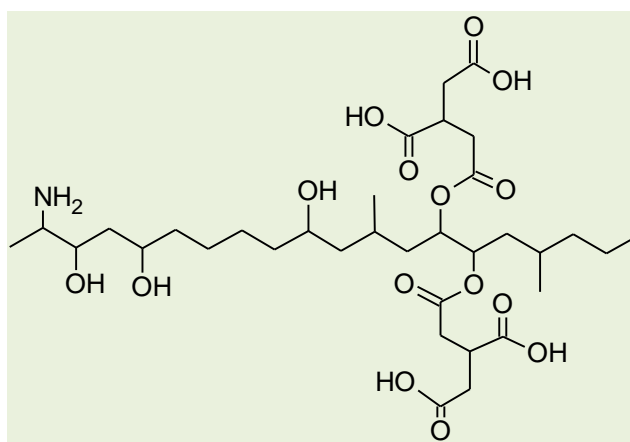


Figura 4. Estrutura molecular da fumonisina B1

Apesar de ser também encontrada em outros tipos de grãos, ela é particularmente comum em milho e seus derivados, que geralmente estão contaminados, em variadas concentrações.⁹ A extensão da contaminação varia em função de diversos fatores, como localização geográfica, práticas de armazenamento e vulnerabilidade das plantas ao longo das etapas de crescimento, armazenamento e processamento. Além disso, são de grande relevância temperatura, umidade e as chuvas durante o período de colheita e pré-colheita. Maiores índices de contaminação são reportados em dias de clima seco e quente, seguidos por períodos de elevada umidade.²⁰

Quanto aos limites aceitáveis, a legislação brasileira vem se adaptando ao que é aplicado em outros países. Atualmente, para alimentos derivados os limites vão de 2000 a

2500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, e 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ em grãos de milho para posterior processamento.⁸ Para descontaminação do milho um método que pode ser utilizado é a hidrólise alcalina, com relevante eficiência.²⁰

4.5. Patulina

A patulina é uma micotoxina produzida por vários gêneros de fungos (*Penicillium*, *Aspergillus* e *Bissochlamys*). Isolada em 1940, foi inicialmente classificada como antibiótico antifúngico de largo espectro. Mais tarde, foi verificado que este composto tinha também a capacidade de inibir mais de 75 tipos de diferentes espécies de bactérias, entre elas bactérias Gram-positivas e negativas. Foram buscadas novas aplicações para o composto, especulando-se quanto à sua utilidade no

tratamento da congestão nasal e de constipações. Pouco tempo depois surgiram evidências de que a sua toxicidade não afetava somente fungos e bactérias, mas que também revelava uma violenta toxicidade para animais e plantas.²³

Entre seus diversos efeitos destacam-se: nervosismo, convulsões, edema, distensão do trato gastrointestinal, hemorragia intestinal e degeneração das células epiteliais, além de efeitos crônicos como genotoxicidade, neurotoxicidade, imunotoxicidade, imunossupressão, teratogênese. Pode ocorrer também a ruptura de membranas plasmáticas, a inibição da síntese de proteínas e a inibição da síntese de DNA e de RNA.⁴

Com nome IUPAC 4-hidroxi-4H-furo[3,2c]piran-2[6H]-ona, sua fórmula empírica é $C_7H_6O_4$, sua massa molecular é de $154,12 \text{ g mol}^{-1}$ e sua estrutura molecular está mostrada na Figura 5. A patulina apresenta grande solubilidade em água e nos solventes orgânicos mais comuns. É estável em ácidos diluídos e é resistente à temperatura de 125°C numa faixa de pH entre 3,5 e 5,5.⁴

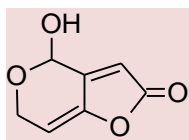


Figura 5. Estrutura molecular da patulina

Ela é particularmente comum nas maçãs, surgindo nas mossas e demais sinais de deterioração como resultado de metabólitos secundários dos fungos supracitados, sendo também alvo de preocupação nos produtos derivados desta fruta, como os sucos. Também pode ser encontrada em sucos de uva, cevada, trigo e milho, peras, bananas, abacaxis, uvas, pêssegos e damascos.²⁰

Não há ainda dados conclusivos sobre sua toxicidade em seres humanos, mas algumas legislações apontam os limites aceitáveis para esta e outras destas substâncias. O valor máximo aceitável no Brasil foi definido em $50 \mu\text{g/kg}$ de produto, conforme a

regulamentação vigente, e corroborando no que está definido em países como Suíça, Bélgica, Rússia e Noruega.⁸ Quanto ao limite de ingestão diária o "U.S. Department of Health & Human Services" define como sendo igual a $0,4 \mu\text{g/kg}$, valor adotado em diversos outros países.¹⁶

Por ser uma substância altamente termoestável, os processos a que são submetidas as matérias primas para confecção do produto final não são capazes de exterminá-la; ocorre, em geral, apenas uma redução de seu teor. Processos fermentativos, por exemplo, reduzem em apenas 20% o nível de patulina existente. A quantidade desta micotoxina no produto, portanto, é um indicativo da qualidade da matéria prima a partir do qual foi produzido.²⁴

4.6. Alcaloides de ergot

Os alcaloides de ergot são comumente produzidos por fungos do gênero *Claviceps*, mas são também metabólitos secundários de algumas cepas de *Penicillium*, *Aspergillus* e *Rhizopus*.²⁵

Surtos de ergotismo já são reportados desde a Idade Média, quando milhares de pessoas morreram ou foram mutiladas, vítimas dos alcaloides de ergot. Esta micotoxicose ficou também conhecida como *ignis sacer* (fogo sagrado) ou fogo de Santo Antônio, porque na época acreditava-se que uma peregrinação ao santuário de Santo Antônio poderia trazer alívio da intensa sensação de queimação experimentada. Em um surto mais recente, na Etiópia, entre 1977 e 1978, 140 pessoas foram contaminadas com o tipo gangrenoso do ergotismo, com mortalidade de 34%.²⁶

O fungo responsável pela contaminação influencia diretamente no tipo de alcaloide que estará presente, bem como no quadro clínico resultante. *Claviceps purpurea* produz os alcaloides ergotamina (Figura 6) e ergocristina (Figura 7), que dão origem à forma gangrenosa do ergotismo devido à sua

atividade vasoconstritora. Os sintomas iniciais são edema das pernas, com dores severas, e parestesias, seguidos por gangrena nos tendões. A outra forma, a convulsiva, está relacionada à intoxicação com alcaloides clavina, produzidos por fungos *Claviceps fusiformis*. É caracterizada por sintomas gastrointestinais (náuseas, vômitos e tonturas), seguidos por efeitos sobre o sistema nervoso central (sonolência, espasmos, convulsões, cegueira e paralisia).²⁶

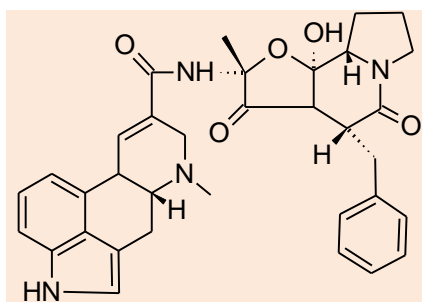


Figura 6. Estrutura molecular da ergotamina

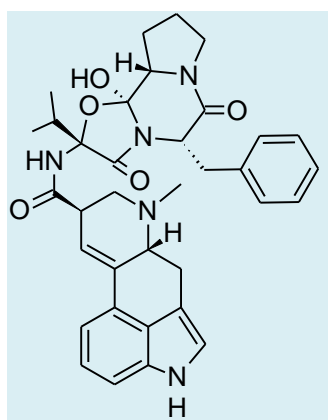


Figura 7. Estrutura molecular da ergocristina.

Os alcaloides de ergot podem ser classificados em quatro grupos principais, com base nas substituições em C-8:²⁶

- Alcaloides clavina e 6,7 secoergolene;
- Derivados simples do ácido lisérgico;
- Alcaloides ergopeptina;
- Alcaloides ergopeptam.

Estas micotoxinas quando puras formam cristais incolores, que são solúveis em solventes orgânicos, como acetonitrila,

metanol ou misturas orgânicas / tampão. Algumas delas são razoavelmente solúveis em água. Os alcaloides de ergot apresentam uma grande variedade de efeitos farmacológicos, e têm sido usados em aplicações médicas há centenas de anos. Alguns alcaloides e seus derivados são utilizados para inibição da prolactina, tratamento do mal de Parkinson, insuficiência vascular cerebral, insuficiência venosa, trombose, embolia, estimulação cerebral e de metabolismo periférico, enxaqueca e estimulação uterina.

A ocorrência de micotoxicoses causadas por alcaloides de ergot é bastante reduzida nos dias de hoje, devido à eficiência dos processos de limpeza e moagem de grãos na remoção destas substâncias.²⁶

A legislação brasileira ainda não prevê os limites aceitáveis de alcaloides de ergot nos alimentos e rações produzidos e comercializados no território nacional.

Diferentemente de outros tipos de micotoxinas mais estáveis, os alcaloides de ergot são sensíveis aos processos de cozimento, o que reduz drasticamente as chances de contaminação e ocorrência de surtos.

4.7. Tricotecenos

Os principais fungos produtores dos tricotecenos são os do gênero *Fusarium*, embora outros também possam dar origem a estes compostos. Há em torno de 150 tricotecenos já isolados, mas apenas um pequeno número deles é considerado ameaça à saúde, por contaminarem alimentos e rações. Entre eles, podemos citar desoxinivalenol, nivalenol, T-2 e HT-2, toxinas nas quais nos concentraremos neste trabalho.²⁸

O primeiro caso de micotoxicose relacionado à presença de tricotecenos foi a aleucia tóxica alimentar, surgida em 1932, na União Soviética, onde 91 pessoas morreram em decorrência do consumo de alimentos

contaminados com a micotoxina T-2. Mais tarde, em 1987, um incidente envolvendo os tricotecenos foi reportado no Vale Kashmir, na Índia, com contaminação humana em larga escala, descoberta a partir da investigação de distúrbios gastrointestinais em uma parte considerável da população daquela localidade.²⁹ Do ponto de vista bélico, relatos indicam que esta micotoxina pode ter sido utilizada no sudoeste da Ásia em 1975, quando a União Soviética teria fornecido esta substância como agente químico de guerra para seus aliados no Vietnã e Laos utilizarem contra as forças de resistência. Apesar de não confirmada a veracidade do emprego de tricotecenos, esse evento ficou conhecido como a "chuva amarela".³⁰

Entre os sintomas associados às micotoxicoses provocadas pelos tricotecenos, os mais comuns são diminuição da resposta imunológica, hematotoxicidade, náuseas e vômito. Além disso, inibem a síntese de proteínas, RNA e DNA, mas diferentemente de outras micotoxinas não possuem efeitos mutagênicos ou carcinogênicos comprovados. Como atravessam a membrana plasmática, interagem com um grande número de alvos, incluindo ribossomos e mitocôndrias.²⁸

Tricotecenos são uma família de sesquiterpenoides bastante similares entre si, produzidos por vários fungos patogênicos. Eles têm um 12,13-epoxitricotecenp tetracíclico em comum, e podem ser divididos em quatro categorias:²⁸

Tipo A: caracteriza-se por um grupo funcional que não seja uma carbonila em C-8

Tipo B caracterizado por uma função carbonila na posição C-8

Tipo C: caracteriza-se por um segundo grupo epóxido em C-7,8 ou C-9,10

Tipo D: caracterizada por um sistema de anel macrocíclico entre C-4 e C-15 com duas ligações éster.

Discorreremos neste texto brevemente sobre dois do tipo A, T-2 e HT-2, e dois do tipo B, nivalenol e desoxinivalenol.

a) Desoxinivalenol: Sua fórmula é $C_{15}H_{20}O_6$, com peso molecular 296.32, e nome IUPAC "(3 α ,7 α)-3,7,15-trihydroxy-12,13-epoxytrichothec-9-en-8-one". Sua estrutura está mostrada na Figura 8.³¹

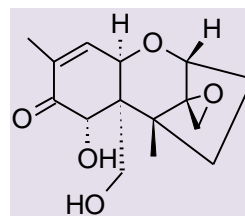


Figura 8. Estrutura molecular do desoxinivalenol

b) Nivalenol: Sua fórmula é $C_{15}H_{20}O_7$, com peso molecular 312.32, e nome IUPAC "(3 α ,4 β ,7 α)-3,4,7,15-Tetrahydroxy-12,13-epoxytrichothec-9-en-8-one". Sua estrutura está mostrada na Figura 9.³¹

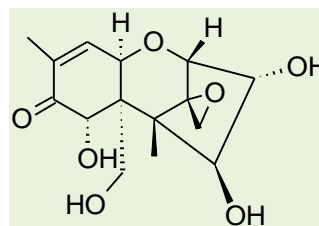


Figura 9. Estrutura molecular do nivalenol

c) T-2: Sua fórmula é $C_{24}H_{34}O_9$, com peso molecular 466,58, e nome IUPAC "(2 α ,3 α ,4 β ,8 α)-4,15-bis(acetyloxy)-3-hydroxy-12,13-epoxytrichothec-9-en-8-yl 3-methylbutanoate". Sua estrutura está mostrada na Figura 10.²⁸

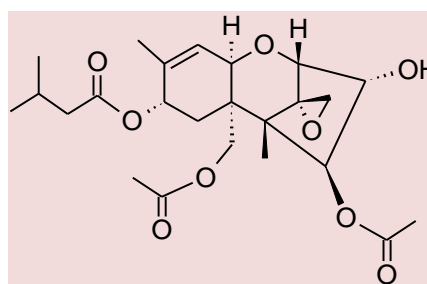


Figura 10. Estrutura molecular da micotoxina T-2

d) HT-2: Sua fórmula é $C_{22}H_{32}O_8$, com peso molecular 424.48, e nome IUPAC "15-Acetoxy-3 α ,4 β -dihydroxy-8 α -(3-methylbutyryloxy)-12,13-epoxytrichothec-9-ene". Sua estrutura está mostrada na Figura 11.²⁸

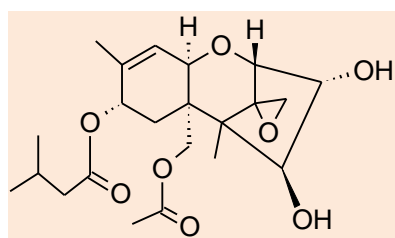


Figura 11. Estrutura molecular da micotoxina HT-2

Os tricotecenos são sólidos incolores normalmente cristalinos. Os do tipo A são solúveis em solventes moderadamente polares, como clorofórmio, éter dietílico, acetato de etila e acetona, enquanto os do Tipo B requerem solventes de polaridade mais elevadas, como solução aquosa de metanol ou acetonitrila aquosa.³²

São em geral compostos muito estáveis, tanto durante o armazenamento e moagem quanto durante o processamento e cozimento dos alimentos, não se degradando mesmo em altas temperaturas. Em experimentos realizados com animais, os tricotecenos são 40 vezes mais tóxicos quando inalados do que quando ingeridos.²⁸

São geralmente encontrados em várias culturas de cereais (trigo, milho, cevada, aveia, centeio etc) e grãos processados (malte, cerveja e pão). Como um mesmo tipo de fungo pode produzir mais de uma micotoxina, e mais de um tipo de fungo pode estar presente em um alimento, é comum encontrar diferentes tipos de contaminantes simultaneamente. T-2 e HT-2 são um exemplo desta característica, sendo comum encontrá-las juntas.

A legislação brasileira só prevê os limites aceitáveis para o desoxivalenol, conforme a Tabela 3. A partir de 2016 ocorrerá a redução de alguns limites, de acordo com a Tabela 4.⁸

Assim como as outras micotoxinas, abordadas neste trabalho, os tricotecenos são dificilmente degradados, sugerindo o máximo de cuidado na prevenção de sua ocorrência. Podem ser degradados sob condições fortemente alcalinas ou ácidas aliadas a um aquecimento a 482 °C por 10 minutos ou 260 °C por 30 minutos⁴. Algumas tentativas já foram realizadas com materiais adsorventes, que se ligariam às micotoxinas no trato gastrointestinal e reduziriam sua absorção e toxicidade sistêmica, mas sua eficácia foi baixa com os tricotecenos. Uma outra hipótese que vem sendo estudada é o uso de aditivos microbianos, um método que utiliza micro-organismos capazes de degradar as micotoxinas antes da sua reabsorção no trato gastrointestinal, com resultados interessantes mas questionáveis em seu caráter prático e econômico.²⁸

Tabela 3. Limites máximos aceitáveis para desoxivalenol – aplicação desde janeiro de 2014⁸

Alimento	LMT ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Arroz beneficiado e derivados	750
Alimentos a base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	200
Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada	1500
Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	1250
Trigo e milho em grãos para posterior processamento	3000

Tabela 4. Valores máximos aceitáveis para desoxinivalenol - aplicação em janeiro de 2016

Alimento	LMT ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada	1000
Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada.	750

5. Modo de ação

As micotoxinas produzem seus efeitos deletérios principalmente quando absorvidas por via oral, mas podem também ser inaladas ou absorvidas pela pele. Podem afetar vários órgãos e sistemas, principalmente o fígado, rins e sistema nervoso, endócrino e imunitário.³³

Compreender os mecanismos de ação no organismo hospedeiro a nível celular e bioquímico é um objetivo importante para tratar ou inibir os efeitos das micotoxinas, controlando doenças e reduzindo o número de mortes atribuídas a elas. No entanto, a complexidade das interações entre as intoxicações e os fatores intrínsecos do organismo afetado, como estado nutricional e imunidade, dificulta sobremaneira esta compreensão. Além disso, o elevado número de possíveis alvos bioquímicos, fruto da grande variedade de micotoxinas, distancia ainda mais a ciência de uma compreensão completa de seu modo de ação.³³

Estudos *in vitro* são comumente utilizados no estudo do mecanismo de ação destas substâncias, mas a extrapolação destes para estudos *in vivo* ou associação com doenças causadas pela ingestão de micotoxinas é dificultada devido a alguns fatores:³³

- Incapacidade de diferenciar efeitos secundários da lesão bioquímica primária;
- Falha em relacionar a concentração intracelular *in vitro* com a concentração de

toxina nos tecidos capaz de causar doenças *in vivo*;

- um modelo *in vitro* que é deficiente na bioquímica alvo ou sem resposta devido a outras inadequações do sistema modelo, e
- Dificuldade em modelar adequadamente a complexidade da exposição *in vivo* com relação a possíveis interações com outras toxinas, drogas, meio ambiente, e / ou fatores nutricionais.

Apesar dos empecilhos inerentes ao processo, uma maior compreensão destes mecanismos permite identificar corretamente o alvo bioquímico inicial da micotoxina, além de diferenciar efeitos agudos resultantes de contaminação com altas dosagens dos efeitos crônicos, mais comuns, que geram consequências a médio e longo prazo. Outro fator importante é prever potenciais interações entre estas substâncias e outros agentes bioativos, como outros tipos de toxinas e medicamentos em geral. Há que se considerar, ainda, a interação entre os diferentes tipos de micotoxinas, que não raramente coexistem em um mesmo produto contaminado. Intuitivamente poderíamos esperar que as possuidoras de mecanismos de ação similares apresentassem efeitos aditivos, mas isto nem sempre ocorre. Por exemplo, o ácido ciclopiazônico impede a peroxidação lipídica induzida pela patulina.³³

A Tabela 5 apresenta alguns exemplos de como as micotoxinas afetam diretamente células animais.³³

Tabela 5. Mecanismos de ação

Micotoxina	Interação
Aflatoxina	Ativação metabólica → modificação do DNA → desregulação celular → morte celular / Transformação (ativação metabólica → interrupção da síntese de macromoléculas → desregulação → morte celular [apoptótica])
Ocratoxina	Alteração no metabolismo da fenilalanina → redução do fosfoenolpiruvato carboxiquinase → reduzida gliconeogênese → morte celular (ativação metabólica → inibição da síntese de proteína / DNA → apoptose)
Zearalenona	Receptor de estrogênio citosólico → resposta estrogênica → alteração do controle hormonal
Fumonisinás	Esfingosina N-aciltransferase → interrupção do metabolismo lipídico → desregulação das células → morte celular / apoptose (interrompida a atividade da delta-6-desaturase → interrompidos os metabolismos de ácidos graxos e ácido araquidônico → morte celular)
Patulina	Depleção de sulfidrilas não proteicas → alteração da permeabilidade de íons e/ou alteração da comunicação intercelular → estresse oxidativo → morte celular (inibição da biossíntese macromolecular → morte celular)
T-2	Inibição da síntese de proteínas → aumento de Ca^{2+} → ativação da endonuclease → apoptose (estrutura da membrana alterada → desativação da função da membrana → desregulação da célula → morte celular)
Desoxinivalenol	Inibição da síntese de proteínas → perturbação da regulação de citocinas → alteração da proliferação de células → morte celular / apoptose

6. Impacto na economia

Pelo aspecto econômico, os prejuízos são bastante significativos. Desde produtores até consumidores, passando pelos comerciantes e demais intermediários, anualmente grandes perdas ocorrem pela simples presença de fungos nos produtos, sejam eles toxigênicos ou não. Juntamente com os insetos, são os principais causadores de deterioração e perdas constatadas durante o armazenamento, o que resulta em redução dos estoques e aumento dos preços. Não é possível definir precisamente estes prejuízos, mas estimativas indicam que somente nos Estados Unidos o valor pode passar de 900 milhões de dólares por ano, no que se refere

aos produtos danificados. No entanto, este não é o único impacto causado pelas micotoxinas. Os gastos com mitigação superam os 450 milhões de dólares por ano, sem considerar outras fontes de perdas econômicas como despesas com pesquisa, processos judiciais, testes e controle de qualidade.³³

Finalmente, há também os ainda não bem definidos custos com saúde humana. Os estudos acerca dos efeitos deletérios destas substâncias na saúde humana ainda são insuficientes para conhecer sua abrangência, severidade e morbidade. Desta forma, não há como estimar a magnitude do impacto econômico ocorrido na saúde pública.

7. Micotoxinas como agentes de guerra

As micotoxinas, quando consideradas como agentes de guerra, não se enquadram perfeitamente em agentes biológicos ou químicos. Enquanto aqueles possuem a capacidade de se reproduzirem independentemente, estes são fabricados pelo homem. Independentemente de sua classificação, contudo, é evidente o potencial destas substâncias para utilização em atentados de qualquer porte ou para emprego em situações de conflito diversas. Historicamente, conforme citado no início deste trabalho, há fortes indícios de que estas substâncias já foram utilizadas para causar baixas, juntamente com outros tipos de toxinas.³⁴

Para evidenciar o risco oferecido por este tipo de agente de guerra, podemos avaliar, por exemplo, os tricotecenos, citados no evento que ficou conhecido como “chuva amarela”. Como nas demais micotoxinas, a severidade da contaminação varia de acordo com a rota de absorção. Apesar de não poderem ser transmitidos de pessoa para pessoa, os tricotecenos podem ser inalados, ingeridos ou absorvidos pela pele. Várias são, portanto, as possíveis maneiras de dispersão; podem ser dispersos no ar, misturados com comidas ou bebidas ou serem carregados em tiros de artilharia, morteiros e bombas aéreas. Seus primeiros efeitos incluem náuseas, vômito, sensação de queimação na pele, letargia, fraqueza, vertigem e perda de coordenação. Diarreia surge minutos após a exposição. De 3 a 12 horas após, a vítima sofre de dispneia, tosse, dor na boca, sangramento nas gengivas e nariz, dor no abdômen e peito. As áreas cutâneas expostas ficam vermelhas, inchadas, dolorosas e pruriginosas. Podem surgir vesículas e bolhas, equimoses e áreas de necrose, culminando em óbito.³⁴

Este conjunto de sintomas aliado à facilidade de dispersão e de produção em larga escala faz dos tricotecenos potenciais agentes de guerra, assim como outras

micotoxinas com propriedades semelhantes.

8. Métodos de detecção e determinação

Os procedimentos para verificação da presença de micotoxinas em matrizes são divididos em três passos básicos. No primeiro deles, a amostragem, a principal dificuldade encontrada é a obtenção de uma amostra representativa, pois a contaminação pode não estar uniformemente distribuída. No segundo passo ocorre a redução do tamanho da partícula, contribuindo para a homogeneidade da amostra. Finalmente, é realizada a extração e determinação.

Os métodos mais comumente utilizados na detecção das micotoxinas são os cromatográficos, com destaque para a cromatografia em camada fina (CCF), a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia gasosa (CG).³⁵

Entre estes três tipos, a CCF é frequentemente utilizada para análise do perfil dos metabólitos, com as vantagens de seu baixo custo e rapidez. Apresenta, no entanto, limite de detecção relativamente elevado, pouca precisão e quantificação limitada.³⁵

A cromatografia líquida de alto desempenho, utilizando detecção por ultravioleta ou fluorescência (de acordo com as características físicas e químicas dos analitos de interesse) possibilita limites de detecção bem mais baixos e uma quantificação mais exata, sendo a técnica mais comumente utilizada para análise de micotoxinas.³⁵

Finalmente, a cromatografia gasosa é utilizada principalmente para análise de tricotecenos do tipo A, nos quais a cromatografia líquida não encontra boa eficiência de separação.³⁵

No que se refere à determinação destas substâncias os métodos se subdividem nos de rastreio e nos confirmatórios. Nos de rastreio

podemos citar como exemplo os kits de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assays), que podem ser encontrados para algumas micotoxinas. Estes métodos são rápidos, mas pouco precisos na quantificação, ao contrário dos confirmatórios, que normalmente abrangem técnicas cromatográficas.³⁵

9. Métodos de descontaminação e desintoxicação

Mesmo com o desenvolvimento contínuo de novos estudos e aprimoramento das técnicas de plantio, cultivo, colheita, transporte e armazenamento, não há como garantir a não proliferação de fungos, e, conseqüentemente, a não contaminação com micotoxinas. Além disso, muitos produtos destinados à alimentação humana estão entre os mais afetados por estas substâncias. Estes dois fatos evidenciam a necessidade de métodos eficazes de descontaminação e desintoxicação, que sejam idealmente capazes de:³³

- Retirar, desativar ou destruir a micotoxina;
- Não gerar resíduos tóxicos;
- Preservar o valor nutricional e aceitabilidade do produto;
- Não ocasionar mudanças significativas nas propriedades tecnológicas do produto; e
- Destruir os esporos dos fungos.

Os variados tipos de tratamentos utilizados atualmente podem ser subdivididos em algumas categorias. A primeira delas, a separação física, tem por objetivo retirar as partes contaminadas do todo, reduzindo assim a contaminação. Evidentemente, a pior deficiência deste método é ser incompleto, além de ser de difícil execução. A segunda categoria, com resultados mais promissores, inclui inativação térmica, irradiação (raios gama, ultravioleta e micro-ondas) e extração com solvente. Outra

linha de ação utiliza micro-organismos como agentes para desativar micotoxinas. Por exemplo, uma cepa de *Eubacterium* desativa tricotecenos pela biotransformação do grupo epóxido em uma molécula menos tóxica. Como quarta opção há os métodos químicos de descontaminação, como a ozonização, com eficácia comprovada contra aflatoxinas, patulina e zearalenona, entre outros. Finalmente, a quinta linha de raciocínio busca desenvolver ligantes que tornem as micotoxinas indisponíveis para o organismo hospedeiro.³³

10. Conclusões

Ameaças à vida e à sociedade são constantes e frequentes, de diversas formas, por diversos motivos. Se no aspecto militar as nações buscam manter seu poder de dissuasão frente às possíveis ambições estrangeiras, se no âmbito político as relações exteriores se esforçam em busca das melhores resoluções para os impasses, só para citar dois exemplos, o estudo pormenorizado dos diversos fatores que podem oferecer risco à população deve ser da mesma forma constante e resignado. O conhecimento acerca das micotoxinas, com sua imensa diversidade, ainda é parco. Com uma variedade enorme de moléculas, com tamanhos diversos, mecanismos de ação, alvos moleculares e propriedades químicas distintas, os métodos para lidar com essas substâncias ainda são poucos e nem sempre eficientes.

A preocupação mundial vem aumentando gradual e continuamente, o que se reflete diretamente na criação e enrijecimento das legislações reguladoras. No Brasil, a já citada publicação no Diário Oficial da União definiu limites para algumas micotoxinas, com aplicações graduais visando disponibilizar tempo para que os produtores se ajustem às condições estabelecidas. Estes ajustes refletem a tendência mundial de reduzir ao mínimo possível a ingestão destas

substâncias, à medida que novos estudos vão sendo desenvolvidos e evidenciando os efeitos deletérios sobre humanos e animais.

Em vista do evidente potencial como agente de guerra apresentado pelas micotoxinas, o primeiro aspecto a ser explorado é a detecção. Determinação, descontaminação e desintoxicação vêm como sequência lógica, sob a ciência da necessidade de viabilizar métodos desenvolvidos em laboratório para aplicação em larga escala.

Referências Bibliográficas

- ¹ Sítio da Food Ingredients Brasil (FiB). Disponível em: < <http://www.revista-fi.com/materias/90.pdf>>. Acesso em: 19 agosto 2012.
- ² Bhat, R. V.; Miller, J. D. Mycotoxins and food supply. *Food, Nutrition and Agriculture* **1991**, 1. [Link]
- ³ Freire, F. C. O.; Vieira, I. G. P.; Guedes, M. I. F.; Mendes, F. N. P., Embrapa Page. Disponível em: http://www.cnpat.embrapa.br/cd/jss/acervo/Dc_110.pdf. Acesso em: 20 novembro 2013.
- ⁴ Pires, S. R. R.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Nova de Lisboa, 2009.
- ⁵ Songsermsakul, P.; Razzazi-Fazeli, E. A review of recent trends in applications of liquid chromatography-mass spectrometry for determination of mycotoxins. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **2008**, 12, 1641. [CrossRef]
- ⁶ Shephard, G. S. Determination of mycotoxins in human foods. *Chemical Society Reviews* **2008**, 37, 2468. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷ Sítio da World Health Organization. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/publication/s/capacity/en/2.pdf>>. Acesso em: 22 novembro 2013.
- ⁸ BRASIL. Resolução - RDC Nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 18 de fevereiro de 2011. [Link]
- ⁹ Sítio do Veterinary and Agrochemical Research Centre. Disponível em: <http://coda-cerva.be/index.php?option=com_content&view=article&id=208&Itemid=298&lang=en>. Acesso em: 29 novembro 2013.
- ¹⁰ Cole, R. J.; Cox, R. M.; *Handbook of toxic fungal metabolites*, Academic Press: New York, 1981.
- ¹¹ Peraica, M.; Radic, B.; Lucic, A.; Pavlovic, M. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization* **1999**, 77, 754. [PubMed]
- ¹² Sítio da Food Safety Watch. Disponível em: <<http://www.foodsafetywatch.org/factsheets/aflatoxins/>>. Acesso em: 29 novembro 2013.
- ¹³ O'Brien, E.; Dietrich, DR. Ochratoxin A: the continuing enigma. *Critical Reviews in Toxicology* **2005**, 35, 33. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴ Sítio do Veterinary and agrochemical research centre. Disponível em: <http://coda-cerva.be/index.php?option=com_content&view=article&id=134&Itemid=293&lang=en>. Acesso em: 1 dezembro 2013.
- ¹⁵ Bayman, P.; Baker, J. L. Ochratoxins: A global perspective. *Mycopathologia* **2006**, 162, 215. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁶ Koe, W. J. Regulations in the EU on mycotoxins in foods. *Food Science* **2002**, 11, 146. [Link]
- ¹⁷ Sítio do Veterinary and Agrochemical Research Centre. Disponível em: <http://coda-cerva.be/index.php?option=com_content&view=article&id=136&Itemid=294&lang=en>. Acesso em: 1 dezembro 2013.
- ¹⁸ Golinski, P. Em Zearalenone and its Derivatives: Known Toxins in New Aspects; Golinski, P.; Waskiewicz, A.; Gromadzka, K., eds.; Springer: Heidelberg, 2010, cap. 8.

- ¹⁹ Takahashi-Ando, N.; Tokai, T.; hamamoto, H.; Yamagushi, I.; Kimura, M. Efficient decontamination of zearalenone, the mycotoxin of cereal pathogen, by transgenic yeasts through the expression of a synthetic lactonohydrolase gene. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2005**, *67*, 838. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁰ Kawashima, L. M. *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, 2004.
- ²¹ Aziz, N. H.; El-Far, F. M.; Shahin, A. A. M.; Roushy, S. M. Control of *fusarium* moulds and fumonisin B1 in seeds by gamma-irradiation. *Food Control* **2007**, *18*, 1337.
- ²² Sítio da ChemSpider Search and Share Chemistry. Disponível em: <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3313.html>>. Acesso em: 20 janeiro 2014.
- ²³ Worobo, R. W.; Moake, M. M.; Padilla-Zakour, O. I. Comprehensive review of patulin control methods in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **2005**, *1*, 8. [CrossRef]
- ²⁴ Stray, H. High pressure liquid chromatographic determination of patulin in apple juice. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* **1978**, *61*, 1359. [PubMed]
- ²⁵ Sítio da North Dakota State University. Disponível em: <<http://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/crops/pp551.pdf>>. Acesso em: 17 janeiro 2014.
- ²⁶ Alexander, J; Benford, D.; Boobis, A.; Ceccatelli, S. Scientific opinion on ergot alkaloids in food and feed. *European Food Safety Authority Journal* **2012**, *10*, 2798. [Link]
- ²⁷ Sítio da Pubchem Substance. Disponível em: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=49854759&loc=es_rss>. Acesso em: 21 janeiro 2014.
- ²⁸ Sudakin, D. L. Trichothecenes in the environment: relevance to human health. *Toxicology Letters* **2003**, *143*, 97. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁹ Bhat, R. V.; Beedu, S. R.; Ramakrishna, Y.; Munshi, K. L. Outbreak of trichothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould-damaged wheat products in Kashmir Valley, India. *The Lancet* **1989**, *1*, 35. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁰ Tucker, J. B. The “yellow rain” controversy: lessons for arms control compliance. *The Nonproliferation Review* **2001**, *8*, 25. [CrossRef]
- ³¹ Prodi, A.; Tonti, S.; Nipoti, P.; Pancaldi, D.; Pisi, A. Identification of deoxynivalenol and nivalenol producing chemotypes of *fusarium graminearum* isolates from durum wheat in a restricted area of northern Italy. *Journal of Plant Pathology* **2009**, *91*, 727. [Link]
- ³² Sítio do veterinary and agrochemical research centre. Disponível em: <http://codacerva.be/index.php?option=com_content&view=article&id=135&Itemid=295&lang=en>. Acesso em: 21 janeiro 2014.
- ³³ Council for agricultural science and technology. *Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems*, Iowa, 2003.
- ³⁴ Zhang, X.; Kuca, K.; Dohnal, V.; Dohnalová, L.; Wu, Q.; Wu, C. Military potential of biological toxins. *Journal of Applied Biomedicine* **2014**, *12*, 63. [CrossRef]
- ³⁵ Serra, R. M. A. *Tese de Doutorado*, Universidade do Minho, 2005.