

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

TRIGO: DO GRÃO À FARINHA
(Uma revisão sobre deoxinivalenol)

Paloma Geremia Nievinski

Porto Alegre

2009/2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

TRIGO: DO GRÃO À FARINHA
(Uma revisão sobre deoxinivalenol)

Paloma Geremia Nievinski

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

Orientadora: Isa Beatriz Noll

Porto Alegre
2009/2

TRIGO: DO GRÃO À FARINHA
(Uma revisão sobre deoxinivalenol)

Paloma Geremia Nievinski

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

.....
Isa Beatriz Noll (Orientadora)
Doutora em Ciência de Alimentos
UNICAMP

.....
Michele Hoeltz
Doutora Microb. Agríc. e do Amb.
UFRGS

.....
Nara Suzete Dornsbach Nordin
Mestre Microb. Agríc. e do Amb.
UFRGS

Agradecimentos

Agradeço a minha família por me tornar quem eu sou hoje: aos meus pais por sempre priorizarem a minha educação e aos meus dois irmãos pelas conversas e conselhos. Ao meu namorado, Voltaire, agradeço pelos momentos felizes e pelas intermináveis acessórias. Aos meus professores, em especial a minha orientadora Prof. Isa, pelo suporte e incentivo necessários para a execução deste trabalho. Aos meus amigos por tornarem a minha vida mais alegre: àqueles que estão muitas vezes longe, mas sempre presente no pensamento e àqueles que sempre que possível nos encontramos. Em especial aos amigos André, Nádía e Rafa que nos últimos anos se tornaram parte indispensável da minha vida: obrigada por todas as risadas, discussões, divagações sobre o futuro, conselhos, e todos os outros momentos que passamos juntos, vocês tornaram a minha vida bem mais feliz!

De forma geral agradeço a todas as pessoas que estiveram no meu caminho durante esses anos de faculdade.

Epígrafe

“Posso ter defeitos, viver ansioso e ficar irritado algumas vezes, mas não esqueço de que a minha vida é a maior empresa do mundo. E que posso evitar que ela vá à falência.

Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver, apesar de todos os desafios, incompreensões e períodos de crise.

Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e se tornar um autor da própria história.

É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar um oásis no recôndito da sua alma.

É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida.

Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos. É saber falar de si mesmo. É ter coragem para ouvir um “não”.

É ter segurança para receber uma crítica, mesmo que injusta...

Pedras no caminho? Guardo todas, um dia vou construir um castelo.”

Fernando Pessoa

Sumário

Resumo.....	vii
Lista de figuras.....	viii
Lista de tabelas.....	ix
1. Introdução	1
2. Revisão bibliográfica	3
2.1 O trigo.....	3
2.2 O mercado do trigo.....	5
2.3 Contaminação do trigo por <i>Fusarium</i>	6
2.4 Caracterização do DON	8
2.5 Ocorrência de DON.....	11
2.5.1 Ocorrência de DON em grãos de trigo	11
2.5.2 Ocorrência de DON em produtos feitos de trigo.....	14
2.6 Redução de DON através de diferentes processamentos.....	15
2.7 DON na legislação: no Brasil e no resto do mundo	18
2.8 Métodos de determinação do deoxinivalenol	20
3. Materiais e métodos	22
4. Resultados e discussões.....	24
5. Conclusões.....	28
6. Referências bibliográficas	29

Resumo

O trigo representa a segunda maior cultura de grãos em produção no mundo. No Brasil são consumidos em média cerca de 10 milhões de toneladas de trigo por ano e o estado do Rio Grande do Sul é responsável pela segunda maior produção. Tendo em vista a importância deste grão e a sua contaminação com DON, foi realizada uma revisão bibliográfica sobre esta micotoxina produzida por fungos patógenos do gênero *Fusarium* associados à ocorrência de fusariose. Este estudo aborda a caracterização do DON, casos de contaminação de trigo e seus subprodutos, processos que podem reduzir a concentração de DON e as metodologias utilizadas na sua quantificação. Os testes apresentados foram feitos em amostras de trigo nacional e importado e suas farinhas, onde os resultados foram comparados para mensurar o grau de redução da contaminação por DON decorrente do processo de moagem. Não foi possível traçar um comportamento padrão de redução de DON nas amostras analisadas. Porém o resultado dos testes mostrou que houve uma redução média de 23% e que o trigo nacional apresentou níveis médios de contaminação por DON bem mais elevados do que o importado (1.025,900 e 419,033 µg/kg).

Palavras-chave: DON, *Fusarium*, contaminação, trigo.

Lista de figuras

Figura 1. Partes do grão de trigo.....	3
Figura 2. Fluxograma geral do processo de obtenção da farinha de trigo.....	4
Figura 3. Grãos sadios e grãos com fusariose.....	6
Figura 4. Alguns tipos de tricotecenos.....	9
Figura 5. Estrutura química do deoxinivalenol.....	9
Figura 6. Concentração de DON no trigo e na farinha correspondente.....	24
Figura 7. Percentual de redução entre o trigo e a farinha.....	25

Lista de tabelas

Tabela 1. Concentrações máximas permitidas de deoxinivalenol (CE).....	19
Tabela 2. Países que contemplam DON (FAO).....	19
Tabela 3. Países que contemplam DON (FAO e <i>Codex Alimentarius</i>).....	20
Tabela 4. Classes de produtos (FAO e <i>Codex Alimentarius</i>).....	20
Tabela 5. Resultados das análises de DON nos trigos e suas farinhas.....	24

1. Introdução

O trigo representa a segunda maior cultura de grãos em produção no mundo, sendo superado apenas pelo milho, em 1,050% (AGROCLUBES, 2007; COLLARES, 2008). No Brasil são consumidos em média cerca de 10 milhões de toneladas de trigo por ano, de acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2009). Dentro dessa perspectiva, o estado do Rio Grande do Sul é responsável pela segunda maior produção nacional do grão (ROCHA, 2007).

O trigo (*Triticum* spp.) é uma gramínea presente em todo o mundo. Globalmente, é a segunda-maior cultura de cereais, sendo o milho a primeira, e o arroz a terceira. O grão de trigo é um alimento básico usado para produzir farinha para alimentação humana e também é utilizado na alimentação de animais. Por serem amplamente consumidos, estes grãos precisam de especial atenção quando se trata da sua qualidade sanitária. Como a contaminação de cereais por micotoxinas representa um risco significativo à saúde dos consumidores, este assunto tem recebido cada vez mais atenção das autoridades de segurança alimentar e dos legisladores em todo o mundo (ALDRED e MAGAN, 2004).

Os fungos patógenos do gênero *Fusarium* são comumente encontrados no trigo e estão frequentemente associados à fusariose (CALORI-DOMINGUES et al., 2007). Além dos danos diretos à cultura causados pela doença, os grãos infectados podem apresentar contaminação por micotoxinas, sendo tóxicas tanto para o homem quanto para os animais. Entre as micotoxinas destaca-se o deoxinivalenol (DON ou vomitoxina). Em animais, o DON causa recusa de alimento e vômitos, principalmente em suínos. Na Ásia, foram relatados vários surtos de doenças agudas em humanos com sintomas de náuseas, vômitos, vertigens, problemas gastrointestinais e diarreia. Estes surtos foram correlacionados ao consumo de grãos contaminados por *Fusarium* e, mais recentemente, com a presença de DON (CREPPY, 2002).

O presente trabalho consiste em uma revisão bibliográfica que apresenta as mais recentes informações relacionadas à presença de DON em produtos à base de trigo; analisa a frequência da contaminação deste grão por fungos do gênero

Fusarium e a produção da micotoxina DON pelos mesmos fungos. Também contempla processos industriais capazes de reduzir esta contaminação, tornando os produtos à base de trigo adequados para a alimentação humana e animal e trás alguns dos métodos de análise mais utilizados na detecção desta toxina.

2. Revisão bibliográfica

2.1 O trigo

Segundo a legislação brasileira, entende-se por trigo os grãos provenientes das espécies *Triticum aestivum* L. e *Triticum durum* L.. Comercialmente este grão é classificado em cinco tipos: trigo brando, trigo pão, trigo melhorador, trigo para outros usos e trigo durum, definidos em função das determinações analíticas de Alveografia e Número de Queda (Falling Number). O primeiro teste analisa as propriedades de tenacidade, extensibilidade e o trabalho mecânico, necessários para expandir a massa enquanto que o segundo realiza a medida indireta da concentração da enzima alfa-amilase (BRASIL, 2001).

Estes grãos têm forma oval e possuem comprimento entre 4 e 7 mm. Sua estrutura está dividida em três regiões: gérmen, pericarpo e semente. O gérmen é o embrião de uma nova planta, rico em açúcares e lipídeos correspondendo a 3% do grão. O pericarpo é a casca ou invólucro protetor da semente, é rico em celulose e corresponde a 18% do grão. E a semente é constituída pela cobertura e endosperma rico em amido e proteínas, ou seja, região da qual é extraída a farinha de trigo (EMBRAPA, 2009).

A figura 1 mostra o grão de trigo e suas partes.

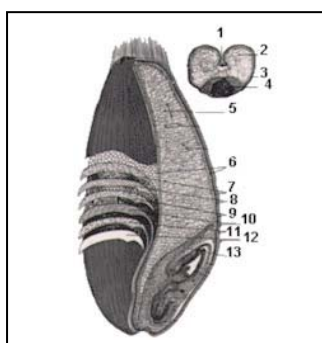


Figura 1. Partes do grão de trigo: 1 crease, 2 endosperma, 3 farelo, 4 germe, 5 endosperma, 6 aleurona, 7 hialina, 8 testa, 9 células tubulares, 10 células cruzadas, 11 hipoderme, 12 epiderme, 13 germe (ABITRIGO, 2005).

O principal produto obtido do beneficiamento do trigo é a farinha, sendo definida como o produto obtido pela moagem, exclusivamente, do grão *Triticum vulgares*. Deve ser oriunda do endosperma de trigo limpo e sadio, seu glúten deve possuir boas características viscoelásticas (teor e qualidade adequados), ter baixo teor de umidade e cinzas e atividade enzimática adequada (BRASIL, 1978).

A figura 2 mostra resumidamente as etapas do processo de obtenção da farinha de trigo.

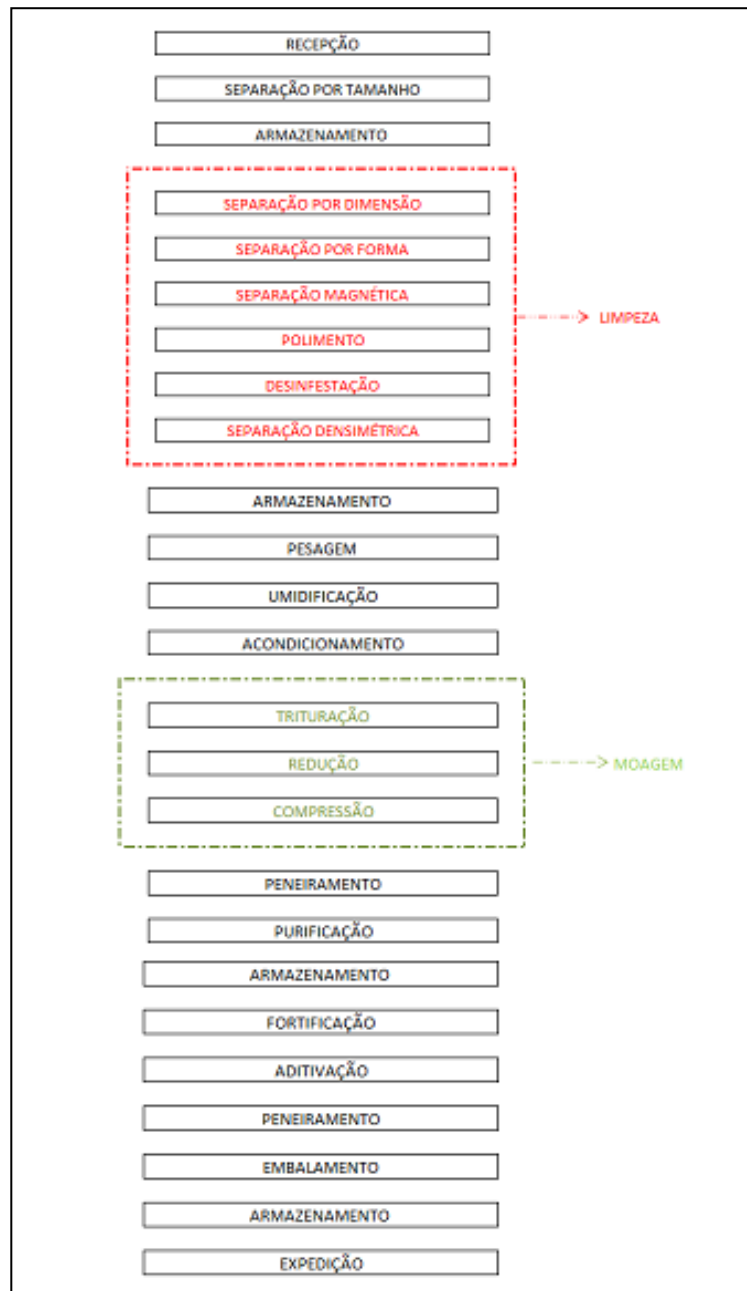


Figura 2. Fluxograma geral do processo de obtenção da farinha de trigo.

2.2 O mercado do trigo

O trigo representa a segunda maior cultura de grãos em produção no mundo, sendo superado apenas pelo milho, em 1,050%. A China é o maior produtor mundial com cerca de 17,600% do total, seguida pela Índia, EUA, Rússia, Canadá, Austrália, Paquistão, Turquia, Argentina e Ucrânia sendo que nesses países se concentra 48,800% da produção mundial do grão (AGROCLUBES, 2007; COLLARES, 2008).

A safra mundial de trigo para o período 2008/09 foi de 684,430 milhões de toneladas, o que representa um aumento de produção de 12% sobre o volume estimado para o período anterior (SILVA, 2009).

De acordo com a EMBRAPA, o Brasil consome, em média, 10 milhões de toneladas de trigo por ano. Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul são os principais produtores do grão no Brasil e respondem por 90% do trigo brasileiro produzido. O estado do Rio Grande do Sul é o segundo maior produtor nacional (ROCHA, 2007).

Os principais fornecedores responsáveis por suprir o restante da demanda de trigo do Brasil são a Argentina (84%), EUA (7%), Polônia (6%), Canadá (2%) e outros países (1%) (CONAB, 2005; COLLARES, 2008).

No âmbito comercial o trigo tem papel de destaque nacionalmente, sendo que o segmento de Panificação e Confeitaria responde por 2% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional (gerando um faturamento anual de R\$ 24 bilhões), empregando diretamente 580 mil pessoas. A população brasileira consome anualmente 27 Kg de pão/capita, quantidade que representa metade da porção recomendada por organismos mundiais de alimentação como a Organização Mundial da Saúde (OMS), cuja recomendação é de 60 kg/capita/ano. Em relação a outros países, o consumo também é baixo, já que na Argentina, são consumidos 73 Kg/capita/ano e, no Chile, 93 Kg/capita/ano. Existem também grandes diferenças regionais no consumo de pão no Brasil; enquanto as regiões Sul e Leste consomem cerca de 40 kg/capita no Nordeste este valor é de apenas 10 kg/capita (CASTRO, 2007).

As grandes regiões produtoras de trigo do mundo se concentram nas zonas de clima temperado. O excesso de chuvas, aliado à temperaturas elevadas, favorece moléstias e pragas (AGROCLUBES, 2007; COLLARES, 2008).

Uma das doenças mais comuns em grãos de trigo é a fusariose, ocasionada pela presença de fungos do gênero *Fusarium*. Esta doença está frequentemente associada à contaminação da planta por deoxinivalenol, uma micotoxina capaz de causar danos à saúde humana e animal.

2.3 Contaminação do trigo por *Fusarium*

A contaminação dos alimentos, tanto para alimentação humana quanto para animais, por fungos e micotoxinas é considerada um dos principais fatores relacionados à segurança dos consumidores (GREMMELS, 2005; SCUDAMORE, 2005; VALCHEVA e VALCHEV, 2007).

Os fungos patógenos do gênero *Fusarium*, com maior frequência *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* e *Fusarium avenaceum* são comumente encontrados no trigo (CALORI-DOMINGUES et al., 2007).

A presença destes fungos está relacionada com a frequente ocorrência de uma doença em trigos chamada fusariose, também conhecida como giberela ou *Fusarium Head Blight* (FHB), que se desenvolve nos grãos devido às condições climáticas, às práticas de cultivo e à suscetibilidade dos cultivares. (CALORI-DOMINGUES et al., 2007).

A fusariose é, de fato, uma complexa doença o que significa que pode ser causada por espécies individuais ou por uma combinação de espécies relacionadas (ALDRED e MAGAN, 2004).

A característica visível desta doença nos grãos é a presença de bolor, que normalmente se desenvolve durante os períodos de clima frio e úmido, resultando no crescimento de fungos brancos ou avermelhados, conforme a figura 3 (KNOW MYCOTOXINS, 2008).



Figura 3. Grãos saudáveis e grãos com fusariose.

A fusariose está presente em toda a América do Sul e também, de forma generalizada, em todo o mundo, principalmente em áreas úmidas e temperadas. Esta doença é observada durante o espigamento da planta, sendo a fase mais crítica a da floração, podendo se estender até o início da maturação do grão. Algumas glumas da espiga ou mesmo toda a espiga podem ser infectadas e facilmente identificadas no campo principalmente quando há formação de uma massa rosada de esporos (CLEAR e PATRICK, 1990; MEHTA, 1993; REIS, 1994; CALORI-DOMINGUES et al., 2007).

Na Argentina, o principal patógeno associado à fusariose é o *F. graminearum* Schwabe que tem sido detectado neste país desde 1928 (RAMIREZ, CHULZE e MAGAN, 2006).

É importante considerar os níveis de contaminação do trigo argentino uma vez que o Brasil importa esta matéria prima chegando a representar quase 85% dos grãos processados e consumidos no nosso país. (CONAB, 2005; COLLARES, 2008).

A fusariose tem a capacidade de destruir uma cultura de elevado potencial de rendimento dentro de algumas semanas de colheita, causando perdas econômicas devido à reduzida qualidade das sementes (PINTO, 2008).

No Norte da Europa, a doença é normalmente ocasionada pelo *F. culmorum* e no sul da Europa, pelo *F. graminearum*, mas esta espécie já está se espalhando para o norte. Outras espécies relacionadas são *F. avenaceum* e *Fusarium poae*. O problema da fusariose parece ter sido agravado pelo crescente cultivo de trigo pão na Europa (MAGAN et al., 2002; ALDRED e MAGAN, 2004).

Estes mesmos autores produziram perfis de resposta bidimensionais para o crescimento e para a produção da toxina por *F. culmorum* em relação à atividade de água (Aw) e à temperatura. Nesse estudo, os pesquisadores ainda encontraram que as condições sob as quais a toxina foi produzida eram muito mais restritivas do que as condições que permitiam o crescimento do fungo. Onde a produção de deoxivalenol (DON) ocorreu em um intervalo relativamente estreito de Aw (0,995 a 0,950) enquanto que o crescimento do fungo persistiu quando a Aw foi de 0,900. No entanto, a condição ideal para a produção de DON, foi com Aw de 0,995 e a 25 °C e estava dentro da faixa de crescimento ótimo. Este nível de Aw corresponde ao teor de água de aproximadamente 30% e está dentro da normalidade para colheita de

grãos em um ano úmido. A produção de toxina foi superior a 25 °C quando comparada a 15 °C.

No Brasil, a fusariose tornou-se nos últimos anos a principal doença nas regiões tritícolas, principalmente na região Sul do País (DEL PONTE et al. 2004).

Segundo Creppy (2002) há uma relação direta entre a incidência de fusariose e a contaminação de trigo com a micotoxina DON, que tem sido implicada em incidentes de micotoxicoses em seres humanos e animais.

2.4 Caracterização do DON

O deoxinivalenol (DON) é uma micotoxina do grupo dos tricotecenos e também é conhecido como vomitoxina, isso pelo fato de a principal resposta fisiológica aos tricotecenos ser a perda de apetite (toxina da recusa de alimento) (KNOW MYCOTOXINS, 2008). DON teve sua estrutura caracterizada em 1972, quase simultaneamente no Japão e nos EUA (TUTELYAN, 2004).

As micotoxinas são substâncias tóxicas produzidas pelo metabolismo secundário de algumas espécies de fungos filamentosos. As cinco principais micotoxinas que estão amplamente distribuídas em alimentos são as aflatoxinas, ocratoxinas, toxina T-2, deoxinivalenol e fumonisinas (TÜRKER e GÜMÜS, 2009).

Os tricotecenos são tipicamente micotoxinas do campo. São produzidos na lavoura e entram na ração através de matérias-primas contaminadas. Eles são comprovadamente irritantes teciduais sendo que as principais observações associadas à sua ingestão são lesões na cavidade oral, dermatite e irritação intestinal.

As características estruturais mais importantes quanto à atividade biológica dos tricotecenos estão no anel epóxi nos C-12 e C-13, na presença de grupamentos hidroxila ou acetila e na estrutura e na posição das cadeias laterais (KNOW MYCOTOXINS, 2008).

Os tricotecenos podem ser divididos em 4 tipos (A, B, C ou D) de acordo com as características dos seus grupos funcionais, como mostra a figura 4 (SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD, 2002; TÜRKER; GÜMÜS, 2009).

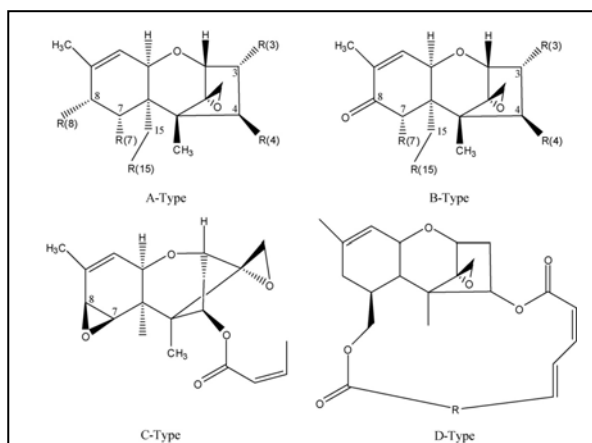


Figura 4. Alguns tipos de tricotecenos. (ERIKSEN e ALEXANDER, 1998; TÜRKER e GÜMÜS, 2009).

O deoxinivalenol (3 α 7 α 15-triidroxi-12, 13-epoxitricotec-9-en-8-ona) é a micotoxina mais frequentemente detectada dentro da categoria dos tricotecenos do tipo B, que possuem uma função carbonil no C-8 que foi totalmente caracterizada como um tetracíclico, epoxi-sesquiterpeno com sete centros estéreo, tendo sua estrutura química representada na figura 5 (ERIKSEN e ALEXANDER, 1998; TÜRKER e GÜMÜS, 2009).

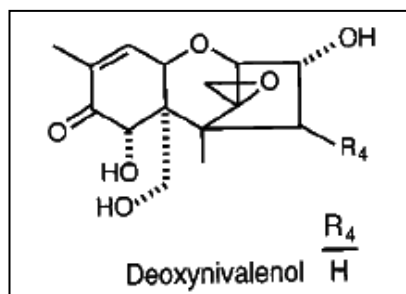


Figura 5. Estrutura química do deoxinivalenol (DESJARDINS et al., 2000).

DON possui dois grupos OH alcoólicos secundários e um principal, além da presença de dois grupos funcionais quimicamente reativos, ou seja, uma cetona conjugada e um anel epóxi. Pelo menos uma, mas talvez estas duas funcionalidades podem estar associadas com a atividade tóxica do deoxinivalenol (NAGY et al., 2005).

Sendo um tricoteceno do tipo B, esta toxina é solúvel tanto em água quanto em solventes polares como o metanol aquoso, acetonitrila aquosa e acetato de etila. O grupo 12,13-epoxi é extremamente estável ao ataque nucleofílico e a toxina é

estável a temperatura de 120 °C e não é decomposta em condições levemente ácidas (JARVIS et al., 1990; NAGY et al., 2005; TÜRKER e GÜMÜS, 2009).

Todos os tricotecenos contêm o grupo epoxi nas posições C12, C13, e estes são os responsáveis pela sua atividade toxicológica. A produção destas micotoxinas se dá especialmente por espécies de fungos do gênero *Fusarium* (*F. graminearum*, *Fusarium sporotrichioides*, *F. poae* e *Fusarium equiseti*) (MOAZAMI, 2009).

A ingestão de micotoxinas pode levar animais e o homem a quadros de intoxicação aguda ou crônica. A condição patológica resultante desta ingestão é chamada de micotoxicose (SHARMA e SALUMKHE, 1991; ROTTER e PRELUSKY, 1996).

Apesar de ser um dos tricotecenos menos tóxicos, DON é um dos mais frequentemente detectados em todo o mundo e sua ocorrência é considerada um indicador da possível presença de outros tricotecenos mais tóxicos. Mesmo com um baixo nível de contaminação, o consumo de alimentos contaminados tem sido associado a uma variedade de efeitos adversos para a saúde dos animais, incluindo a recusa de alimento, ganho de peso reduzido, diarreia e vômitos; em níveis mais elevados pode induzir o vômito, causando retardo de crescimento (KRSKA, WELZIG e BOUDRA, 2007; KUIPER-GOODMAN, 2002; LOMBAERT, 2002; SCHOLLENBERGER et al., 2002; MOAZAMI, 2009).

Em rações, níveis de contaminação superiores a 1 ppm podem levar a uma redução no consumo de ração e conseqüentemente, a uma diminuição na taxa de ganho de peso. Concentrações acima de 5 ppm levam à recusa do alimento e acima de 10 ppm podem ocasionar vômitos e perda de peso. Quando a ração contaminada é substituída por outra livre de micotoxinas, os animais costumam voltar a comer sem apresentarem nenhum outro sinal aparente (KNOW MYCOTOXINS, 2008).

Quando há elevada contaminação dos alimentos, as micotoxinas podem causar intoxicação aguda, mas o mais relevante é que mesmo em quantidades muito baixas, devido à sua ação cumulativa, essa micotoxina é imunossupressora e imunotóxica (DESJARDINS et al., 2000).

O deoxinivalenol também inibe a síntese de DNA, RNA e de proteínas e pode causar nos mamíferos síndromes hemáticas e anoréxicas, bem como efeitos neurotóxicos e imunotóxicos (VISCANTI et al., 2004).

2.5 Ocorrência de DON

As micotoxinas, entre elas o DON, são contaminantes naturais, difíceis de prever, evitar e diminuir, assim, é importante estabelecer a real contribuição de cada alimento contaminado, com o objetivo de avaliar a exposição a micotoxinas (PACIN et al., 2009).

Globalmente DON tem sido detectado como contaminante de cereais, com ocorrência em trigo, em diferentes anos no Canadá, EUA, Japão, na maioria dos países europeus e em países da América do Sul e da África (TUTELYAN, 2004).

A ocorrência de DON em cereais e seus derivados, a influência do processamento, as diferentes possibilidades de descontaminação e seus produtos têm uma relevância social e econômica muito estreitamente relacionadas com os regulamentos que visam proteger a saúde dos consumidores (VISCANTI et al., 2004).

As micotoxinas são de ocorrência universal, porém predominam em climas tropicais e subtropicais, onde o desenvolvimento fúngico é favorecido pela umidade e pela temperatura. Os grãos quando inadequadamente armazenados, com umidade alta, temperatura elevada, oferecem condições ideais para o desenvolvimento fúngico e para a produção de micotoxinas (MALLMANN et al., 2007).

Embora o DON seja, entre os tricotecenos, o de menor toxicidade ainda assim deve ser tratado como um importante assunto de segurança alimentar por ser um contaminante muito comum em grãos (ROTTER e PRELUSKY, 1996).

2.5.1 Ocorrência de DON em grãos de trigo

A contaminação por DON ocorre predominantemente em grãos, como trigo, cevada, aveia, centeio e milho, e menos frequentemente em arroz, sorgo e triticale. (TÜRKER e GÜMÜS, 2009)

Geralmente, os grãos armazenados com um teor de umidade igual ou menor a 0,700 de Aw (<14,500% de umidade em peso) não estão sujeitos a deterioração

por fungos e a produção de micotoxinas. O perigo das micotoxinas é, portanto, associado a um risco significativo na produção de grãos em situação de pós-colheita. A secagem do material recém colhido até Aw de 0,700 e a manutenção nesta condição evita a contaminação dos grãos. O trigo sofre a primeira transformação na moagem para a produção de farinha. Esta farinha produzida também está suscetível às micotoxinas. Portanto, a produção, armazenamento e transporte de farinha requerem essencialmente o mesmo tipo de gestão que os cereais (ALDRED e MAGAN, 2004).

As espécies de fungos mais encontradas na contaminação dos grãos por DON são o *F. graminearum* (*Gibberella zeae*) e o *F. culmorum*. (NAGY et al., 2005; CREPPY, 2002; TÜRKER e GÜMÜS, 2009)

Hope et al. (2005) Ramirez, Chulze e Magan (2006) compararam o crescimento e a produção de DON pelas linhagens *F. graminearum* e *F. culmorum* do Reino Unido e descobriram que a principal diferença entre elas foi o efeito da temperatura sobre a produção de DON. Este estudo também sugere que o *F. graminearum* não cresce em Aw menor que 0,900.

No estudo de Ramirez, Chulze e Magan (2006) variou-se a Aw (0,900 a 0,995), a temperatura (5, 15, 25 e 30 °C) e o tempo de incubação (7 a 49 dias) e foram avaliados os efeitos no crescimento e na produção de DON por 2 linhagens de *F. graminearum* (RC 17-2 e RC 22-2) isoladas de trigo argentino. A faixa de Aw e de temperatura simulam o amadurecimento do grão na colheita de uma safra úmida. O crescimento ótimo aconteceu a 25 °C em trigos com os maiores valores de Aw. A máxima produção de DON foi obtida para ambas as linhagens quando a Aw foi de 0,995, a 30 °C e em 42 dias de incubação (135,462 e 98,446 µg/g, respectivamente para cada linhagem). Ambas as linhagens tiveram problemas de crescimento a 5 °C em todas as Aw testadas. Também não foi detectado crescimento em Aw de 0,900 a 30 °C, durante o tempo de incubação (49 dias).

O mesmo estudo mostrou que a presença de outros fungos pode influenciar o crescimento e a produção dos tricotecenos em grãos de trigo e que as condições ótimas de crescimento e de máxima produção de toxina não são as mesmas.

Vesonder et al. (1982) demonstraram que as linhagens de *F. graminearum* e *Fusarium roseum* (*F. culmorum*) tiveram produção ótima de DON entre 29 e 30 °C e 25 e 26 °C, respectivamente, com Aw de 0,990 depois de 40 dias. Cada linhagem

produziu pouca quantidade de DON entre 15 a 20 °C. A temperatura mínima para a produção de DON foi de superior a 11 °C.

Calori-Domingues et al. (2007), analisaram a contaminação de DON em 100 amostras de trigo, 50 amostras de trigo nacional (32 amostras (64%) provenientes do Paraná, 14 (28%) de São Paulo, e 4 (8%) do Rio Grande do Sul) e 50 amostras de trigo importado (25 amostras (50%) provenientes da Argentina e 25 (50%) do Paraguai). No trigo nacional apenas 6% das amostras não apresentaram contaminação com DON e 34% apresentaram níveis abaixo do limite de quantificação (90 µg/kg). 50% dos níveis variaram entre 90 e 500 µg/kg; 6% entre 500 e 1.000 µg/kg e 4% estavam acima de 1.000 µg/kg (3.327 e 4.573 µg/kg). Em relação ao trigo importado, 12% das amostras apresentaram níveis não detectados (N.D.), 46% tinham níveis abaixo do limite de quantificação e 42% tinham níveis de 90 a 349 µg/kg. Os 12% do trigo importado com nível de contaminação N.D. eram provenientes do Paraguai. Dos 42% contaminados com níveis \geq 90 µg/kg 76% eram provenientes da Argentina e 24% do Paraguai.

De acordo com a procedência das amostras, pode-se verificar que o trigo nacional apresentou maior contaminação com DON do que o trigo importado ($p \leq 0,050$). Nas amostras de trigo importado, o maior nível de contaminação detectado foi de 349 µg/kg, enquanto no trigo nacional observou-se uma contaminação máxima de 4.573 µg/kg.

Furlong et al. (1995a) e Furlong et al. (1995b) avaliaram 38 amostras de grãos de trigo provenientes de São Paulo e de armazéns do Rio Grande do Sul e constataram que 23% estavam contaminadas com toxinas produzidas por espécies de *Fusarium*, onde DON predominou, ocorrendo em 55% das amostras analisadas em níveis que variaram de 400 a 590 mg/kg.

No Rio Grande do Sul das 12 amostras de trigo analisadas, 8% estavam contaminadas com DON (400 µg/kg) e das 20 amostras produzidas no Estado de São Paulo 20% continham DON e os níveis observados variaram de 470 a 590 µg/kg (FURLONG et al., 1995a).

Sabino et al. (1989) pesquisaram a ocorrência de DON em grãos de trigo, produtos de trigo e grãos de milho provenientes de diversas regiões do Brasil, e verificaram que das 120 amostras de produtos de trigo apenas duas amostras de farelo de trigo continham DON (183 mg/kg).

Geraldo, Tessmann, e Kemmelmeier (2006) avaliaram a produção *in vitro* de micotoxinas em 24 diferentes isolados de *F. graminearum* coletados de grãos de trigo, triticale e cevada afetados pela fusariose na região Sul do Brasil e verificaram que 33% dos isolados produziram DON.

Rizzo et al. (1994) avaliando a presença de toxinas em trigo da sub-região tritícola no Norte da Argentina detectaram entre as amostras DON em níveis que variaram de 2.000 a 28.000 µg/kg. O trigo argentino da safra de 1993 proveniente de 2 regiões de maior produção foi analisado por González et al. (1993) que constataram que 60 e 100% do trigo em cada região estavam contaminados com DON com média de 2.700 µg/kg e 4.300 µg/kg dependendo da região. Trigo durum (*Triticum durum*) argentino foi avaliado durante 2 anos consecutivos, quanto à contaminação com DON, por Lori et al. (2003), que constataram que 55 a 78% das amostras estavam contaminadas e 10 a 32% destas, com níveis acima de 2.000 µg/kg dependendo do ano.

Azcarate; Vaamonde e Fernandez-Pinto (2007) indicaram que do total de 20 amostras de trigo argentino avaliadas, 100% apresentaram contaminação com DON em níveis que variaram de 58 a 1970 µg/kg.

Pinto (2008) relata que das 19 amostras de trigo analisadas, 68% estavam contaminadas com DON na faixa de 0,300 a 70 mg/kg e 11% na faixa de 7,500 e 6,700 mg/kg.

2.5.2 Ocorrência de DON em produtos feitos de trigo

Estudo de Oliveira et al. (2002) foi realizado sobre a incidência de DON em produtos de panificação, farinha e farelo de trigo comercializados em cidades do Estado de Minas Gerais no período de 1998 a 2000, mostrou que o DON foi detectado em 68% das 47 amostras analisadas, em uma faixa de concentração de 40 a 1.205 µg/kg sendo que o limite de detecção da metodologia empregada foi de 20 µg/kg.

Baraj e Furlong (2003) avaliaram 112 amostras de farinha de trigo comercializadas na cidade de Rio Grande no Rio Grande do Sul e verificaram que

1,800% (apenas 2 amostras) estavam contaminadas com DON em níveis de 128 e 323 µg/kg.

Trabalhos anteriores demonstraram que o *F. graminearum* foi a principal espécie encontrada e o deoxinivalenol foi a principal toxina contaminante detectada no trigo e derivados de trigo na Argentina (GONZÁLEZ et al., 1993; PIÑEIRO, DAWSON e COSTARRICA, 1996; QUIROGA et al., 1995; RAMIREZ et al., 2006; PINTO, 2008).

Araujo (2003) quantificou a ocorrência de DON em 78 amostras de farinha de trigo de todo Brasil. Os resultados mostram que 34,610% das amostras apresentaram contaminação por DON, com nível médio e máximo de 283,940 µg/kg e 794,000 µg/kg, respectivamente.

Outros casos de ocorrência de DON em produtos à base de trigo serão apresentados no próximo sub-item onde serão contemplados alguns métodos eficazes na redução desta micotoxina nesses produtos.

2.6 Redução de DON através de diferentes processamentos

Os processos para a fabricação de alimentos à base de trigo que apresentam resultados satisfatórios para a redução da contaminação inicial por DON são importantes porque, com base neste conhecimento, níveis mais elevados de contaminação das matérias-primas para a fabricação de produtos de panificação poderiam ser aceitos para diminuir a exposição humana a essa micotoxina (PACIN et al., 2009).

Uma das questões mais importantes para as entidades reguladoras que têm de lidar tanto com a proteção da produção agrícola quanto com a segurança da saúde dos consumidores, controlando os produtos alimentares no varejo é a de estabelecer limites máximos para os grãos de cereais *in natura*, para todos os produtos derivados de cereais e para os grãos de cereais para consumo humano direto. A Comunidade Européia é a favor do uso de processos de descontaminação física e procedimentos de triagem no que diz respeito à descontaminação de micotoxinas mas não permite a utilização de processos de descontaminação

química, nem a mistura de lotes com o objetivo de diminuir o nível de contaminação abaixo do nível máximo. (VISCONTI et al., 2004).

A necessidade de informações sobre os efeitos da transformação e seu impacto sobre os níveis de contaminação por DON para melhores estimativas da ingestão alimentar foi claramente expressa pelo *Joint Expert Committee on Food Additives* (JEFCA) (FAO/WHO, 2001).

O processamento de alimentos, que pode envolver a descontaminação física e/ou química, muitas vezes pode ser eficaz na destruição ou redistribuição das micotoxinas do *Fusarium* (SCOTT, 1998; VISCONTI e DE GIROLAMO, 2002; VISCONTI et al., 2004).

Diversos estudos têm procurado mensurar a redução da contaminação por micotoxinas em alimentos e rações, através de processos tradicionalmente utilizados. O processo de panificação tem sido indicado para reduzir a contaminação por DON em alguns relatos, enquanto outros sugerem que DON é altamente estável a este processo (PACIN et al., 2009).

Estes mesmos autores estimaram a redução dos níveis desta contaminação no pão francês e no pão de Viena, fabricados com farinhas contaminadas com DON. A redução média de contaminação entre a farinha e seus produtos foi para o pão francês de 33% e para o pão de Viena de 58,500%. Uma baixa contaminação com DON foi encontrada neste estudo e é importante saber que o processo de fabricação de pão poderia reduzir a contaminação inicial.

Os resultados do estudo de Neira et al. (1997) mostram uma redução média entre a massa de pão e produtos finais, de 44,300%, com taxas de redução máxima e mínima de 96,600% e 16,800%, respectivamente.

Samar et al. (2001), descobriram que a massa fermentada a 50°C teve redução máxima da contaminação de DON na farinha de 56% para o pão de Viena e 41% para o pão francês. Esta redução se deu não só pela decomposição térmica, mas também pelas perdas na fermentação.

Visconti et al. (2004) apresentou resultados de análises de DON em diferentes frações da moagem de trigo durum contaminado com níveis de 0,300 a 13,100 µg/g, e de espaguete feito com este trigo, antes e depois do cozimento. Este estudo conclui que um aumento importante na redução de DON ocorre durante as diferentes etapas de processo de moagem de trigo e o cozimento do espaguete, que

respondem por 23%, 63%, 67% e 80% no trigo limpo, sêmola, espaguete e espaguete cozido, respectivamente, em relação ao trigo sujo; uma repartição do DON entre o espaguete cozido seco e os níveis da água de cozimento ocorreu durante a cocção, com aumento da lixiviação do DON através do aumento da proporção água/espaguete durante o cozimento; a retenção de DON nos grãos utilizados na produção de macarrão cozido pronto para o consumo gira em torno de níveis inferiores a 25%.

Samar et al. (2007) avaliaram o efeito de diferentes temperaturas (169 °C, 205 °C e 243 °C) de fritura em farinhas naturalmente contaminadas (1.200 µg/kg) e artificialmente contaminadas com DON (260 µg/kg). A redução do DON foi maior nas amostras contaminadas artificialmente e parece depender da temperatura. A principal redução foi obtida na menor das temperaturas utilizadas (redução de 28% para o nível de 1.200 µg/kg e de 66% para o de 260 µg/kg, ambos a 169 °C). Os resultados observados permitiram concluir que o processo de fritura caseiro diminui em mais de 20% a contaminação natural de DON.

Esses mesmos autores mencionam a importância de se determinar como os processos são capazes de diminuir a contaminação por DON nesses alimentos. Estudos anteriores sobre o comportamento de DON durante a elaboração do pão na Argentina foram feitos e um efeito positivo foi encontrado quando se aumentou a temperatura da fermentação, a fim de reduzir a contaminação DON.

Aldred e Magan (2004) citam que a preparação do trigo para a moagem inclui a remoção de materiais defeituosos e estranhos, e que isso poderia, em princípio, atuar como medida de controle da contaminação por micotoxinas. Pesquisas atuais estão focadas na influência do processo de moagem nas micotoxinas. É possível que a remoção de certas partes do grão durante a moagem possa resultar na redução dos níveis da toxina em grãos contaminados.

Como é o caso de Kushiro (2008) que revisa pesquisas sobre os efeitos da moagem e cozimento no nível de DON. Ele leva em consideração que a taxa de ocorrência de DON em trigo é elevada, e que procedimentos eficazes para remover ou eliminar DON dos produtos alimentares são essenciais para minimizar os riscos para aqueles que consomem grandes quantidades de trigo.

Assim, este autor apresenta dados que confirmam que a limpeza antes da moagem reduz em certa medida a concentração de DON nos produtos finais. E

sendo DON distribuído por todo o miolo, com maior teor no exterior da pele, a moagem também é eficaz na redução dos níveis de DON em alimentos à base de trigo se o farelo e os finos forem removidos antes da cocção térmica. Sendo DON solúvel em água, cozinhar com maiores quantidades de água reduz o teor desta toxina em produtos como o espagete e macarrão. Durante o cozimento ou o aquecimento, DON é parcialmente degradado em subprodutos químicos.

2.7 DON na legislação: no Brasil e no resto do mundo

Observa-se um aumento na preocupação com a contaminação de alimentos por micotoxinas, incluindo-se o DON, tanto mundialmente quanto no Brasil. Assim, conhecer a extensão dessa contaminação poderá fornecer subsídios para os diversos segmentos envolvidos com a produção, utilização e importação de trigo, bem como fiscalização e pesquisa, sempre visando garantir ao consumidor final a possibilidade de ter produtos de melhor qualidade (CALORI-DOMINGUES et al., 2007).

Com relação à legislação sobre micotoxinas, no Brasil ainda não existe nenhuma que regulamente a presença de DON em alimentos destinados ao consumo humano ou animal. O que se verifica é que empresas produtoras de ração estabelecem níveis máximos aceitáveis de DON no farelo de trigo a ser utilizado (GIACOMINI e MENEGAZZO, 1988; CALORI-DOMINGUES et al., 2007).

No MERCOSUL a legislação comum para todos os membros é a GMC/RES. nº 56/94 e da mesma forma não faz referência ao DON (LAMIC, 2009).

Empresas exportadoras seguem as legislações dos países de destino dos seus produtos. Porém, apenas alguns países possuem regulamentação quanto ao nível aceitável de DON, quando ocorrem podem variar entre 500 e 2.000 µg/kg para alimentos destinados ao consumo humano (COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2003; CALORI-DOMINGUES et al., 2007).

No entanto, na legislação da União Européia, a consideração de micotoxinas está se tornando cada vez mais importante (ALDRED e MAGAN, 2004). Tanto que em 01 julho de 2006, foi estabelecido 1.250 µg/kg como o limite máximo permitido de DON para alguns cereais incluindo o trigo (COMMISSION REGULATION, 2005).

O JECFA em 2001 sugeriu a Dose Diária Recomendada para DON de 1 µg/kg de peso corpóreo (FAO/WHO, 2001). A seguir são apresentadas as quantidades de DON legisladas em alguns países do mundo.

Os níveis máximos de fusariotoxinas em produtos alimentícios aceitáveis na Comunidade Européia através do Regulamento da Comunidade Européia (CE) N° 856/2005 do Comitê Científico de Alimentação Humana, de 6 de junho de 2005, que altera o Regulamento (CE) N° 466/2001, no que diz respeito às toxinas de *Fusarium*, são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Concentrações máximas permitidas de deoxinivalenol pela CE.

Classe de Produto	Conc. DON
Trigo durum	1.750 µg/kg
Farinha de cereais	750 µg/kg
Pão, produtos de pastelaria, bolachas, refeições leves à base de cereais e cereais para refeições (lanches)	500 µg/kg
Massas alimentícias (secas)	750 µg/kg
Alimentos destinados a lactentes e crianças jovens e alimentos para bebês a base de cereais transformados	200 µg/kg

A legislação citada a seguir na tabela 2 foi compilada da publicação da FAO: *Worldwide Regulations for Mycotoxins 1995 - A Compendium FAO Food and Nutrition Paper*, N° 64, Roma, 1997 por LAMIC (2009) e cita apenas aqueles países que contemplam o deoxinivalenol.

Tabela 2. Países que contemplam DON, segundo a FAO.

País	Classe de Produto	Conc. DON
	Trigo mole	2.000 µg/kg
Canadá	Rações para gado e aves	5.000 ppb
	Rações para porcos, novilhas e animais em lactação	1.000 ppb
EUA	Alimentos prontos de trigo	1.000 µg/kg

Visconti et al., (2004) compilaram dados fornecidos pela FAO, (1997) e pelo *Codex Alimentarius*, (2003) e estes estão apresentados nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Países que contemplam DON, segundo a FAO e *Codex Alimentarius*.

País	Classe de Produto	Conc. DON
Holanda	Trigo durum para consumo como alimento	0,500 µg/g
Áustria	Trigo durum para consumo humano	0,750 µg/g
Holanda	Farinhas para produção de alimentos	0,750 µg/g
EUA	Produtos acabados de trigo	1,000 µg/g
China	Cereais e produtos à base de cereais no varejo ou para consumo	1,000 µg/g
Suiça	Cereais e produtos à base de cereais no varejo ou para consumo	1,000 µg/g

Tabela 4. Classes de produtos, segundo a FAO e *Codex Alimentarius*

Classe de Produto	Conc. DON
Produtos derivados de cereais (por exemplo: farinha, produtos de cereais)	500 µg/kg
Base de cereais para alimentação infantil	100 µg/kg
Trigo durum não transformado	2.000 µg/kg
Alimentos para lactantes	100 µg/kg
Farinha de trigo integral, farelo e massa (seco)	750 µg/kg

2.8 Métodos de determinação do deoxinivalenol

A presença de micotoxinas nos alimentos representa um grave problema de segurança sanitária. Os alimentos susceptíveis a estarem contaminados têm de ser objeto de controles regulares (MARQUES, M. F. C., 2007).

O desenvolvimento de um método para a determinação de deoxinivalenol e outros tricotecenos, nos últimos anos foi impulsionado pelas necessidades decorrentes da sua análise generalizada em alimentos e rações. Isto resultou no estabelecimento de níveis de orientação para a alimentação animal, na ingestão diária tolerável para os seres humanos e, mais importante, na perspectiva de baixos níveis de tolerância para essas toxinas em alimentos no futuro próximo. A fim de assegurar a determinação confiável do teor de toxinas nos níveis de tolerância, métodos analíticos de rotina devem ter limites de detecção menor que o nível de tolerância. Isso inclui análise de alto rendimento instrumental para o ambiente de laboratório, bem como testes visuais rápidos para análise em loco.

Os testes rápidos para análise de alimentos têm sido cada vez mais exigidos pela comunidade analítica, especialmente durante a última década. O termo rápido é geralmente atribuído a um método após comparação com o método de referência respectiva (SCHNEIDER et al., 2004).

O kit de ELISA para DON pode ser utilizado para *screening* em cereais, alimentos, sementes e forragem. Para a maioria de matrizes pode ser obtido limite de detecção abaixo de 50 ppb (MOAZAMI, 2009).

Vários métodos têm sido utilizados para análise de DON em cereais, sendo que os mais citados pelas referências utilizadas são:

- Cromatografia em camada delgada,
- Teste imunoenzimático de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*),
- Cromatografia gasosa com base na captura de elétrons,
- Cromatografia líquida de alta eficiência com luz ultravioleta.

Dentre esses, o método de ELISA tem sido desenvolvido para a verificação rápida ou a quantificação de tricotecenos em cereais, e tem sido utilizado para a detecção rápida de deoxinivalenol em especial. Este método envolve o uso de anticorpos específicos, que são derivados de uma série de procedimentos complexos, incluindo a síntese imunológica, a imunização dos animais, isolamento e caracterização de anticorpos. É um método seletivo, sensível, rápido e fácil de usar, e a limpeza, se houver, é mínima. Devido às várias propriedades dos tricotecenos, no entanto, a produção de anticorpos úteis contra estes compostos tem-se revelado difícil. Uma vasta gama de ELISA tem sido desenvolvida que envolve IgG policlonais e anticorpos IgY, e os anticorpos monoclonais têm sido direcionados para uso em ensaios competitivos diretos e indiretos. Normalmente, acetonitrila e água, metanol e água, metanol puro, ou água são usados como solvente de extração (INCHEM, 2009).

Entre os diversos métodos de análises possíveis para a determinação de DON em alimentos humanos e rações, o presente trabalho foca no método de ELISA uma vez que este foi o utilizado nas análises discutidas no próximo capítulo.

3. Materiais e métodos

As amostras analisadas foram trigos de diferentes procedências e suas respectivas farinhas; ambas obtidas em uma indústria beneficiadora de trigo, localizada no estado do Rio Grande do Sul.

Foram analisadas 18 amostras de trigo e 18 amostras de farinhas oriundas destes trigos. Nas duas classes de amostras, as de numeração entre 1 e 15 eram de procedência nacional e as entre 16 e 18 eram importadas (de países da América Latina).

Foram realizadas análises de DON nas amostras de trigo e em suas respectivas farinhas e os resultados posteriormente analisados quanto à redução na concentração de DON decorrente do processo de moagem.

Para efetuar a análise de DON, utilizou-se o kit quantitativo Veratox® para Vomitoxina para toxinas naturais, que consiste em um teste imunoabsorvente ligado à enzimas competitivas diretas. Através do uso de um leitor de micropoços, os testes fornecem resultados em ppm ou ppb.

Os resultados são comparáveis com os obtidos pelo método de referência GC e aprovado pelo GIPSA/USDA.

O teste de ELISA competitivo direto fornece concentrações exatas em partes por milhão (ppm). Amostras livres de DON e os controles concorrem com DON marcado com enzima (conjugado) para os locais de ligação aos anticorpos. Após uma etapa de lavagem, o substrato reage com o conjugado para produzir a cor azul. Um leitor de ELISA é utilizado para reproduzir as densidades ópticas. As densidades ópticas da curva padrão e as densidades ópticas das amostras são plotadas contra a curva para calcular a concentração exata de DON.

A metodologia consistiu em primeiramente, na extração da amostra, diluindo 10 g da amostra (farinha ou trigo moído) em 200 ml de água destilada, homogeneizando por aproximadamente 3 minutos. Esta solução foi filtrada em papel filtro nº1 e o filtrado transferido para placas de petri e identificadas.

A segunda etapa consistiu no procedimento propriamente dito, onde se adicionou 100 µl do reagente “conjugado” nos micropoços vermelhos, em seguida 100 µl dos padrões: 0, 25, 50, 100 e 250 nos primeiros micropoços e nos demais

100 µl de cada amostra. Então pipetou-se e soltou-se por três vezes para homogeneizar as amostras. Foram transferidos 100 µl das amostras dos micropoços vermelhos para os transparentes e deixados por 10 minutos em temperatura ambiente. Descartou-se a amostra dos micropoços e lavou-se com água destilada por 5 vezes com o auxílio de uma pisseta. Retirou-se o excesso de água com papel absorvente. Adicionou-se 100 µl de “substrato” para os micropoços lavados e secos e deixou-se por 10 minutos em temperatura ambiente. Foram adicionados 100 µl do reagente “stop” e foi feita a leitura no equipamento que acompanha o kit (NEOGEN, 2009; HEXIS CIENTÍFICA, 2009).

4. Resultados e discussões

As quantidades de DON encontradas nas amostras de trigos e farinhas estão representadas na figura 6 e tabela 5.

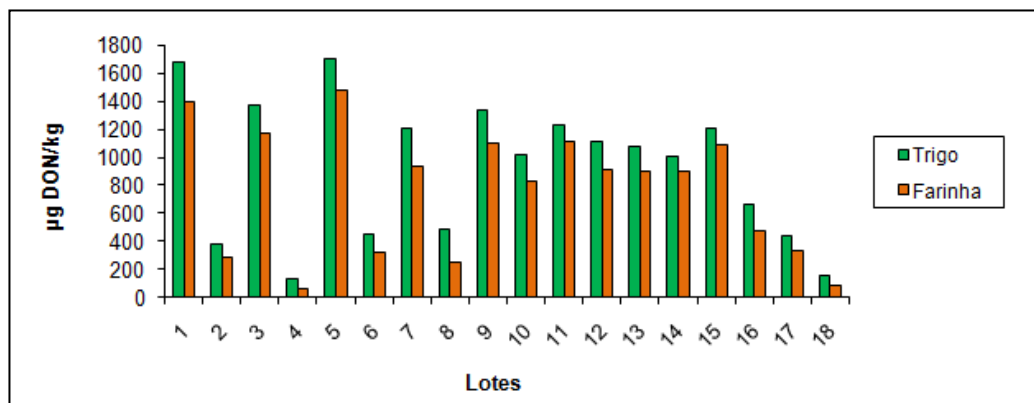


Figura 6. Concentração de DON no trigo e na farinha correspondente.

LOTE	TRIGO (µg/kg)	FARINHA (µg/kg)
1	1680,8	1401,2
2	380	284
3	1376,8	1168,4
4	127,2	64
5	1705,6	1479,2
6	447	324
7	1210,4	936,9
8	483,2	248
9	1340,4	1096,8
10	1015,5	828,8
11	1227,6	1115,4
12	1112,4	916,8
13	1073,2	896,3
14	1004,4	901,9
15	1204	1086
16	663,5	479,6
17	438	328,8
18	155,6	80,4

Tabela 5. Resultados das análises de DON nos trigos e suas farinhas.

A concentração média de DON no trigo brasileiro foi de 1.025,900 µg/kg, respectivamente, enquanto que no trigo importado foi de 419,033 µg/kg. É possível perceber através dos resultados das análises que a concentração média de DON encontrada no trigo brasileiro foi superior a do trigo importado (sendo 2 vezes maior que a concentração no trigo importado);

Já a concentração média de DON na farinha obtida de trigo brasileiro foi de 849,847µg/kg, enquanto que utilizando o trigo importado a farinha apresentou o valor de 296,267 µg/kg.

Observou-se uma redução média nos valores de DON de 23% com valor de mediana de 18% para o total de amostras. Os percentuais de redução entre os trigos e as farinhas estão representados na figura 7.

Analisando a redução de DON após o beneficiamento do trigo, obteve-se uma redução média de 23,307% no trigo nacional, e de 18,189 % no importado. Enquanto que no total das amostras esse valor foi de 23%. Pode-se perceber que, mesmo após o processo de moagem, a farinha proveniente do trigo brasileiro continua com maior concentração de DON quando comparada com a farinha de trigo importado.

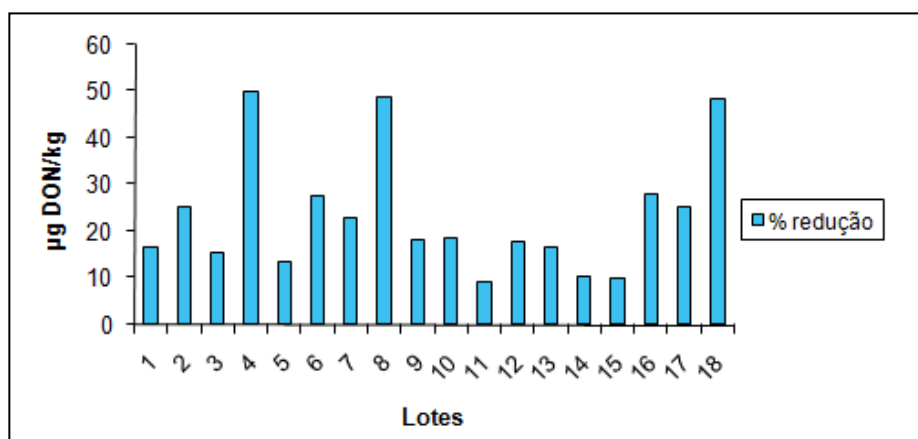


Figura 7. Percentual de redução entre o trigo e a farinha.

Comparando-se as contaminações nos trigos e os percentuais de redução através da moagem, percebe-se que em todas as amostras quanto maior a contaminação por DON menor é o grau da sua redução. Porém nenhuma das amostras atingiu os 63% demonstrados no trabalho de Visconti et al. (2004). O fato da redução da contaminação não se apresentar equivalente nos trigos que sofreram

o mesmo processamento leva a considerações a respeito do grau de penetração da micotoxina analisada no seu endosperma, isso porque a moagem retira de forma grosseira as camadas mais externas do trigo dando origem a um produto constituído por endosperma triturado. Logo, se o interior do grão já está expressivamente contaminado, a redução da contaminação será limitada.

Entre as amostras analisadas, não foi possível identificar padrões nos níveis de contaminação, porém constatou-se que quanto maior a contaminação menor a porcentagem de redução de DON entre as amostras analisadas. Isto pode ser resultado da falta de controle nas etapas pós-colheita, o que acarretaria diferentes níveis de contaminação dos grãos. Talvez com um melhor gerenciamento das boas práticas de colheita os valores de contaminação apresentariam um padrão e isso contribuiria para a avaliação de medidas para manter esses níveis em quantidades aceitáveis.

Os dados da literatura pesquisados trazem que Calori-Domingues et al. (2007), encontraram contaminação por DON em 94% das 50 amostras de trigo nacional analisadas, e em relação ao trigo importado foram 42% também em relação a 50 amostras. Já Furlong et al. (1995a) e Furlong et al. (1995b) avaliaram 38 amostras de grãos de trigo nacional e constataram DON em 55% das amostras.

González et al. (1993) constataram que 60 e 100% do trigo argentino das 2 regiões de maior produção estavam contaminados com DON. O mesmo acontecendo no presente trabalho, onde todas as amostras apresentaram contaminação por DON, tanto no trigo nacional quanto no importado. Já Lori et al. (2003) encontraram de 55 a 78% de amostras contaminadas. Enquanto que Azcarate; Vaamonde e Fernandez-Pinto (2007); Calori-Domingues et al. (2006) indicaram que todas as 20 amostras analisadas apresentavam contaminação com DON e Pinto (2008) relata que 68% das 19 amostras estavam contaminadas com DON.

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que todas as amostras de grãos estão dentro do limite de 1.750 µg de DON a cada kg de trigo conforme a legislação da Comunidade Européia, apresentada na tabela 1. Porém percebe-se que 11 lotes de farinha produzidas (61,111%) estão fora do parâmetro de 750 µg/kg, citado pela mesma legislação como parâmetro de farinha de trigo. É interessante

observar que todas as amostras importadas tiveram suas quantidades de DON reduzidas a teores dentro da legislação citada após o beneficiamento do trigo, uma vez que seus níveis iniciais eram bastante baixos. Porém, entre as amostras brasileiras apenas 27% (4 amostras) apresentaram níveis admissíveis na farinha pela legislação da Comunidade Européia.

Esses dados revelam algumas problemáticas no que tange as boas práticas agrícolas adotadas no Brasil, que em muitos locais ainda são deficientes. Se a matéria-prima não for de boa qualidade microbiológica, ou seja, apresentar grandes quantidade de fungos e micotoxinas, o beneficiamento que pode reduzir os níveis de toxinas, não garantirá que o produto final tenha boa qualidade e condições de ingressar em mercados consumidores exigentes.

Assim muitas considerações devem ser discutidas com bases nas análises feitas, como por exemplo, o fato do processamento não ser capaz de reduzir completamente a quantidade de DON na farinha a níveis toleráveis, e do fato da qualidade microbiológica do trigo brasileiro ser inferior em relação aos comercializados por outros países da América Latina.

5. Conclusões

DON é uma micotoxina geralmente encontrada em trigo e produtos industriais derivados dele. Porém o Brasil não apresenta legislação que regulamente a presença desta micotoxina em produtos destinados à alimentação humana ou animal, o que já acontece em outras partes do mundo.

Os resultados desse trabalho corroboram para alertar as autoridades brasileiras para o fato de o trigo e a farinha comercializados no país apresentarem níveis bastante elevados quando comparados aos máximos exigidos por legislações da Europa e América do Norte. Também sugere, com isso, haver problemáticas em boas práticas agrícolas por produtores brasileiros, já que grande parte das quantidades de DON encontradas nos produtos são decorrentes das práticas pós-colheita.

Os resultados mostrados nesta revisão bibliográfica e nas análises experimentais mostram a importância de se discutir a inserção dessa micotoxina nas legislações pertinentes.

6. Referências bibliográficas

ABITRIGO (Associação Brasileira da Indústria do Trigo). Título. Local: Editora, 2005. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br/trigo.asp>>. Acesso em: 2, ago. 2009.

AGROCLUBES, **Clube do Trigo: Ficha Técnica**. 2007. Disponível em: <http://www.agroclubes.com.br/ficha_tecnica/fichas.asp?ficha=209&codigo_produto=209>. Acesso em 15 out. 2008.

ALDRED, D.; MAGAN, N. Prevention strategies for trichothecenes. **Toxicology Letters**, [S. l.], v. 153, p.165-171, 2004.

ARAUJO, D. D. F. et al. Concentrações de deoxinivalenol em farinha de trigo. **Laboratório de Análises Micotoxicológicas – LAMIC**. Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2003.

AZCARATE, P. M.; VAAMONDE, G.; FERNANDEZ-PINTO, V. Toxinas de *Fusarium* e *Alternaria* em trigo cultivado em La provincia de La Pampa e sudeste de Buenos Aires, Argentina. In: SIMPÓSIO EM ARMAZENAGEM QUALITATIVA DE GRÃOS DO MERCOSUL "QUALIDADE TOTAL", 4.; MICOTOXICOLOGIA & MICOTOXICOLOGIA CONGRESSO LATINO – AMERICANO, 5., 2006, Florianópolis. **Resumos...** Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2006. p. 207-208.

BARAJ, E.; FURLONG, E. B. Procedimento para determinação simultânea dos tricotecenos desoxinivalenol e toxina T-2. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 62, n. 2, p. 95 - 104, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNNPA nº 12, de 1978. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78_farinhas.htm>. Acesso em: 15 nov. 2009.

BRASIL. Ministério da agricultura e do abastecimento. Instrução normativa SARC nº 7, de 15 de agosto de 2001. Disponível em: <http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/cereais_trigo.htm>. Acesso em: 2 ago. 2009.

CALORI-DOMINGUES, M. A. et al. Ocorrência de deoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, mar. 2007.

CASTRO, M. G. **Influência do uso da enzima hemicelulase e do emulsificante estearoil-2-lactil lactato de sódio (ssl) na produção de massa de pão francês congelado e estimativa da cinética da redução da viabilidade de células de levedura**. 2007. 60f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Engenharia de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

CLEAR, R. M.; PATRICK, S. K. *Fusarium* species isolated from wheat samples containing tombstones (scab) kernels from Ontario, Manitoba and Saskatchewan. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 70, n.4, p. 1057-1069, 1990.

COLLARES, A. G. **elaboração de massas congeladas para a produção de pão francês**. 2008. 93f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Engenharia de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

COMMISSION REGULATION (EC) n° 856/2005 of 6 June 2005. Amending Regulation (EC) no 466/2001 as regards Fusarium toxins. **Official Journal of the European Union**, L.143, p. 3-8 (7.6.2005). Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:143:0003:0008:EN:PDF>>. Acesso em: 17 nov. 2009

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Mercado de Trigo – Conjuntura e Cenário no Brasil e no Mundo**. CONAB, 2005. Disponível em: <http://conab.gov.br/conabweb/download/cas/especiais/texto_para_revista_paulo_m_ago_pdf>. Acesso em: 10 out. 2008.

COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY. **Mycotoxins**: risks in plant, animal, and human systems. Ames, 2003. 109 p. (Task Force Report, 139).

CREPPY, E.E.. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. **Toxicol. Lett.**, [S. l.], v. 127, n. , p.19-28, 2002.

DEL PONTE, E. M. et al. Giberela do trigo – aspectosepidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 587-606, 2004.

DESJARDINS, Anne E. et al. Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. **Journal Agricultural And Food Chemistry**, [S. l.], n. 48, p.1377-1383, 2000.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Trigo. Passo Fundo, 2009. Disponível em <<http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/trigo/index.htm>>. Acesso em: 15 nov. 2009.

ERIKSEN, G. S., ALEXANDER, J. (Eds.), Fusarium toxins in cereals — A risk assessment, nordic council of ministers, TemaNord, Copenhagen, pp.7–44, 1998.

FAO/WHO, 2001. Safety evaluation of certain mycotoxins in food, Fifty sixth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), FAO Food and Nutrition Paper 74, WHO Food Additives Series 47, WHO, Geneva, Switzerland, pp. 419–555, 2001.

FURLONG, B. E. et al. Mycotoxins and fungi in wheat harvested during 1990 in test plots in the state of São Paulo Brasil, **Mycopathologia**, Den Haag, v. 131, n. 3, p. 185-190, 1995a.

FURLONG, B. E. et al. Mycotoxins and fungi in wheat stored in elevators in the state of Rio Grande do Sul, Brasil. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 12, n. 5, p. 683-688, 1995b.

GERALDO, M. R.; TESSMANN, D. J.; KEMMELMEIER, C. Production of mycotoxins by *F. graminearum* isolated from small cereals (wheat, triticale and barley) affected with scab disease in souther Brazil, **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 1, p.58-63, 2006.

GIACOMINI, V.; MENEGAZZO, R. Níveis de vomitoxina (DON) em farelo de trigo na região sul do Brasil. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS, 9., 1988, Florianópolis. **Resumos...** Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1988. p. 122.

GONZÁLEZ, H. H. L. et al. Deoxynivalenol and contaminant mycoflora in freshly harvested Argentinian wheat in 1993, **Mycopathologia** Den Haag v. 135, n.2, p. 129-134, 1996.

HEXIS CIENTÍFICA. **Veratox® para VOMITOXINA (DON)**. 2009. Material fornecido pela empresa Hexis Científica, com sede em São Paulo (SP).

INCHEM. Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. 3.2 Analysis of cereals and derived products. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je05.htm#3.2>>. Acesso em: 18, nov., 2009.

JARVIS, B.b. et al. Conformational effects in trichothecenes: structures of 15-hydroxy C4 and C8 ketones. **J. Org. Chem.**, [S. l.], v. 55, p.3660-3662, 1990.

KNOW MYCOTOXINS. Tricotecenos (Toxina T-2, Diacetoxiscirpenol (DAS), Deoxinivalenol (DON), Toxina HT-2, etc.). In: _____. Nutricionista > Suínos, 2008. Disponível em: <<http://www.knowmycotoxins.com/pt/npig10.htm>>. Acesso em: 2 ago. 2009.

KRSKA, R., WELZIG, E., BOUDRA, H., Analysis of *Fusarium* toxins in feed, **Ani. Feed Sci. Tech.** [S. l.], v. 137, p. 241–264, 2007.

KUIPER-GOODMAN T., Recent developments in the risk assessment of deoxynivalenol. Toxicology, quality and impact on industry, second canadian workshop on *Fusarium* Head Blight, Ottawa, 2002.

KUSHIRO, Masayo. Effects of Milling and Cooking Processes on the Deoxynivalenol Content in Wheat. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 9, p.2127-2145, 2008.

LAMIC. **Legislação sobre Micotoxinas.** Disponível em: <<http://www.lamic.ufsm.br/legislacao.html>>. Acesso em: 24, out., 2009.

LOMBAERT, G. A., Mycotoxins and food safety, Kluwer academie/Plenum, New York, 2002.

LORI, G. A. et al. *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol contamination in the durum wheat area of Argentina. **Microbiological Research**, Jena, v. 158, n. 1, p. 29-35, 2003.

MAGAN, N. et al. Relationship between growth and mycotoxin production by *Fusarium* species, biocides and environment. **European Journal of Plant Pathology**. [S. l.], v. 108, p. 685–690, 2002.

MAGAN, N. et al. Post-harvest fungal ecology: impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. **European Journal of Plant Pathology**. [S. l.], v. 109, p. 723–730, 2003.

MALLMANN, C. A. et al. **Micotoxícoses**. In: Curso De Sanidade Avícola Fort Dodge, 14, 2007, Campinas.

MARQUES, M. F. C. **Validação Interna dos Métodos de Determinação de Deoxinivalenol e Zearalenona por HPLC com Purificação por Colunas de Imunoafinidade: Pesquisa de deoxinivalenol e zearalenona em milhos e alimentos compostos para animais**. 2007. Disponível em: <https://fenix.ist.utl.pt/publico/showDegreeTheses.do;jsessionid=2DFE639782847AB3326F2F825057C410.as11?method=showThesisDetails°reeID=null&thesisID=2605&contentContextPath_PATH=/cursos/lebl-pb/dissertacoes&request_checksum=d60b2ca51b44aebec7508b07fab16cbf8496e034>. Acesso em 27 out. 2009.

MEHTA, Y. R. **Manejo integrado de enfermedades del trigo**. Santa Cruz de la Sierra: Landivar S.R.L., 314p, 1993.

MOAZAMI, E.F., JINAP, S. Natural occurrence of deoxynivalenol (DON) in wheat based noodles consumed in Malaysia, *Microchemical Journal* (2009). Disponível em: <10.1016/j.microc.2009.04.003>. Acesso em: 8 set. 2009.

NAGY, C. M. et al. Hydrogen bondings in deoxynivalenol (DON) conformations—a density functional study. **Journal Of Molecular Structure**, [S. l.], v. 726, p.55-59, 2005.

NEIRA, M.S. et al. The effects of bakery processing on natural deoxynivalenol contamination. **International Journal of Food Microbiology**, 37, 21-25, 1997.

NEOGEN. Natural Toxins - **Veratox®**. 2009. Material fornecido pela empresa Hexis Científica, com sede em São Paulo (SP).

OLIVEIRA, M. S. et al. Incidência de aflatoxinas, desoxivalenol e zearalenona em produtos comercializados em cidades do Estado de Minas Gerais no período de 1998 - 2000. **Revista Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 61, n. 1, p. 1-6, 2002.

PACIN, A. et al. Effect of the bread making process on wheat flour contaminated by the deoxynivalenol and exposure estimate. **Food Control**, [S. l.], 2009. Disponível em: 10.1016/j.foodcont.2009.07.012

PIÑEIRO, M.; DAWSON, R.; COSTARRICA, M.L. Monitoring program for mycotoxin contamination in Uruguayan food and feeds. **Nat. Toxins**, 4, 242-245, 1996.

PINTO, V.E. Fernandez et al . Natural occurrence of nivalenol and mycotoxigenic potential of *Fusarium graminearum* strains in wheat affected by head blight in Argentina. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, n. 1, Mar. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822008000100031&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 29 out. 2009.

QUIROGA, N. et al. Natural occurrence of trichothecenes and zearalenone in Argentinean wheat. **Food Control**, 6, 201-204, 1995.

RAMIREZ, M.L. et al. Vegetative Compatibility and mycotoxin chemotypes among *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*) isolates from wheat in Argentina. **European Journal of Plant Pathology**, 115, 139-148, 2006.

RAMIREZ, M. L.; CHULZE, S.; MAGAN, N. Temperature and water activity effects on growth and temporal deoxynivalenol production by two Argentinean strains of *Fusarium graminearum* on irradiated wheat grain. **International Journal Of Food Microbiology**, [S. l.], v. 106, p.291-296, 2006.

REIS, E. M. **Manual de identificação e de quantificação de doenças do trigo**. Agroalpha, Passo Fundo, 59 p, 1994.

RIZZO, I. et al. Presencia de *Fusarium* y sus toxinas en la subregion triguera II norte de la Argentina. In: Congresso Latino Americano de Micotoxicologia. 1.; Encontro Nacional de Micotoxinas, 8., 1994, Rio de Janeiro. **Anais...** p. 757.

ROCHA, D. **Em 2006, Brasil produziu só 22% do trigo que consome**. Ambiente em Foco, Curitiba, jul. 2007. Disponível em: <<http://www.ambienteemfoco.com.br/?p=5205>>. Acesso em: 15 nov. 2009.

ROTTER, B. A.; PRELUSKY, D. B.. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). **Journal Of Toxicology And Environmental Health**, [S. l.], v. 48, p.1-34, 1996.

SABINO, M. et al. Determinação de deoxinivalenol em trigo e milho em grão por cromatografia em camada delgada. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 49, n. 2, p. 155-159, 1989.

SAMAR, M. M. et al. Effect of fermentation on naturally occurring deoxynivalenol (DON) in Argentinean bread processing technology. **Food Additives and Contaminants**, 18 (11), 1004-1010, 2001.

SAMAR, M. et al. Deoxynivalenol reduction during the frying process of turnover pie covers. **Food Control**, [S. l.], v. 18, p.1295-1299, 2007.

SCHNEIDER, Elisabeth et al. Rapid methods for deoxynivalenol and other trichothecenes. **Toxicology Letters**, [S. l.], v. 153, p.113-121, 2004.

SCHOLLENBERGER, M., et al., *Fusarium* toxins in wheat collected in an area in southwest Germany, **Int. J. Food Micro.** [S. I.], v. 72, p.85–89, 2002.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD. Opinion of the scientific committee on food on *Fusarium* toxins. Part 6. Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol (expressed on 26 February 2002), 2002.

SCOTT, P.M. Industrial and farm detoxification processes for mycotoxins. **Revue de Médecine Veterinaire** 149, 543–548, 1998.

SCUDAMORE, K. A., 2005. Management of micotoxins in nutritive chain. In: S.Denev (Editor), **Evaluating the impact of micotoxins in Europe** (Alltech, Proceeding of the European Mycotoxin Seminar, 22nd February 2005, Sofia, Bulgaria), pp. 118-138.

SILVA, J. R. Produção de trigo em 2009. Análises e Indicadores do Agronegócio, 2009. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftpiea/AIA/AIA-16-2009.pdf>. Acesso em: 9, Nov. 2009.

TÜRKER, L.; GÜMÜS, S. A theoretical study on vomitoxin and its tautomers. **Journal Of Hazardous Materials**, [S. I.], v. 163, p.285-294, 2009.

TUTELYAN, Victor A. Deoxynivalenol in cereals in Russia. **Toxicology Letters**, [S. I.], v. 153, p.173-179, 2004.

VALCHEVA, A.; VALCHEV, G.. The fusariotoxins zearalenon and deoxinivalenol as natural contaminants of some basic cereal components in the production of combined feed. **Bulgarian Journal Of Agricultural Science: National Centre for Agrarian Sciences**, [S. I.], v. 13, p.99-104, 2007.

VESONDER, R.F., et al., Production of vomitoxin on corn by *Fusarium graminearum* NRRL 5883 and *Fusarium roseum* NRRL 6101. **Applied and Environmental Microbiology**. [S. I.], v. 43, p.967– 970, 1982.

VISCONTI, A., DE GIROLAMO, A., 2002. *Fusarium* mycotoxins in cereals: storage, processing and decontamination. In: Sholten et al. (Eds.), Food Safety of Cereals: A Chain-Wide Approach to Reduce *Fusarium* mycotoxins. European Commission, Brussels, pp. 29–40.

VISCONTI, A. et al. Reduction of deoxynivalenol during durum wheat processing and spaghetti cooking. **Toxicology Letters**, [S. l.], v. 153, p.181-189, 2004.