

Investigação de fungos contaminantes em rações comerciais para consumo humano

DEON, Talyta Fabiane^{*}; NUNES, Estela de Oliveira^{**}

Resumo

A Ração Humana é um produto à base de cereais integrais ricos em proteínas, fibras e vitaminas, não encontrados com frequência nas dietas habituais, sendo adicionado durante as refeições para suprir a deficiência dos mesmos. A presença dos fungos toxigênicos e/ou micotoxinas em alimentos constitui um grande problema para órgãos de Saúde Pública por causarem doenças, sendo responsáveis por um número muito maior de mortes, quando comparados às toxinfecções alimentares de origem bacteriana. O presente estudo procurou avaliar a qualidade microbiológica de rações comerciais para humanos, quanto à presença de fungos contaminantes, buscando a identificação de fungos de espécies conhecidas como potencialmente produtoras de micotoxinas. Foram analisadas seis amostras de rações produzidas para consumo humano (o número de amostras foi baixo em função da presença de poucas marcas existentes no mercado), as quais foram adquiridas nas casas especializadas e supermercados da cidade de Videira SC. A presença de fungos contaminantes foi investigada através do método tradicional de quantificação de bolores e leveduras, com ênfase especial para o uso de meio seletivo AFPA e DRBC para identificação dos fungos. Nas amostras estudadas foi observado que a contagem para bolores e leveduras totais superou o limite estabelecido pela legislação. Ademais, algumas amostras apresentaram crescimento de *A. flavus*, indicando a possibilidade de ocorrência de aflatoxinas. Para tanto, há necessidade de maior controle das condições higiênicas sanitárias durante toda a cadeia produtiva de alimentos, de maneira a manter a qualidade do produto final, visando assim à saúde da população.

Palavras-chave: Ração humana. Fungos contaminantes. Micotoxinas. Controle de qualidade nos alimentos.

Investigation of fungal contamination in commercial rations for human consumption

Abstract

The Human feed is a product based in integral cereals, protein, fiber and vitamins, not frequently found in normal diets, supplemented with meals to supply the deficiency on diet. The presence of toxigenic fungi and /or mycotoxins in food is a major problem for public health agencies because they cause disease, being responsible for a very larger number of deaths compared to foodborne diseases of bacterial origin. This study aimed to evaluate the microbiological quality of commercial human feed, for the presence of fungal contaminants, screening fungal species known as potential mycotoxins producers. Were analyzed six samples of feed produced for human consumption (the number of sample was low due to the presence of few brands available on the market), which were acquired in special stores and supermarkets in the Videira city. The fungal contaminants

^{*}Curso de Especialização em Controle de Qualidade de Alimentos da Universidade do Oeste de Santa Catarina; talydeon@gmail.com.

^{**}Doutora em Engenharia Química, Professora da Universidade do Oeste de Santa Catarina; estela.nunes@unoesc.edu.br.

presence was investigated by the traditional method of quantification of molds and yeasts, with special focus on the use of selective media DRBC and AFPA for identification of fungi. In the samples studied was observed that the total count for yeasts and molds exceeded the established limit by law. In addition, some samples showed growth of A. flavus, indicating the possibility of aflatoxins occurrence. For both, there necessity of more control of sanitari conditions throughout the food production chain, so as to maintain the quality of the final product, thus aiming to population health.

Keywords: Human feed. Fungal contaminants. Mycotoxins. Food quality control.

1 INTRODUÇÃO

O uso das farinhas múltiplas ou mistura de alimentos não convencionais que enriquecem a alimentação habitual em minerais e vitaminas, começou, no Brasil, há alguns anos, na região de Santarém, no Pará. Concentrados alimentares, tal como a Ração Humana vem sendo cada vez mais divulgados pela mídia, isso porque apresentam alegações que vão desde o controle do colesterol até o auxílio ao emagrecimento (COZZOLINO, 2005).

A Ração Humana é um produto à base de cereais integrais ricos em proteínas, fibras e vitaminas, não encontrados com frequência nas dietas habituais, sendo adicionado durante as refeições para suprir a deficiência dos mesmos (MAIA, 2010b). Recebeu esse nome devido uma alusão às rações animais que também são obtidas através da mistura nutritiva de alimentos variados, ricos em nutrientes essenciais para a manutenção biológica dos sistemas. Porém, diferentemente da Ração Animal, a Ração Humana não pode substituir as refeições diárias essenciais, por ela não suprir totalmente as necessidades do organismo (LEONEL, 2009; MARTINELLI, 2010).

1.1 PRESENÇA DE FUNGOS CONTAMINANTES EM RAÇÕES E INCIDÊNCIA DE MICOTOXINAS

O crescimento de fungos é o principal problema em grãos em toda parte do mundo e pode levar a uma queda na qualidade dos produtos derivados, tanto quanto a efeitos adversos à saúde humana e animal. Esse fato é decorrente da contaminação de alimentos e rações animais por biocontaminantes tais como micotoxinas, que são produtos resultantes do metabolismo normal de alguns fungos (CAST, 1989; VAN EGMOND, 1995).

A presença dos fungos toxigênicos e/ou micotoxinas nos alimentos constitui um grande problema para órgãos de Saúde Pública por causarem doenças, sendo responsáveis por

um número muito maior de mortes, quando comparados às toxinfecções alimentares de origem bacteriana (PITT, 2000; BENETT; KLICH, 2003).

As micotoxinas são substâncias tóxicas produzidas principalmente como metabólitos secundários por fungos que crescem em sementes e alimentos no campo, ou no armazenamento (NUNES, 2008). Algumas espécies do Gênero *Aspergillus* e *Penicilium* são responsáveis pela produção de micotoxinas, tais como: aflatoxinas, patulina, citrinina, esterigmatocistina, penitrem A, a ocratoxina A (OTA), entre outras (SERRA, 2005).

As micotoxinas são freqüentemente encontradas em grãos e cereais, devido à facilidade de contaminação desses alimentos. Os fungos toxigênicos podem estar presentes nas várias etapas da produção dos alimentos até que chegam à nossa mesa: durante o cultivo, colheita, armazenamento, transporte e processamento. No entanto, nem todos os fungos que crescem nas plantas necessariamente produzirão micotoxinas, portanto a detecção do fungo não significa obrigatoriamente a presença destas. Entretanto, altas taxas de contaminação por estas micotoxinas têm sido relatadas mundialmente em grãos de cereais e rações animais (SPAHR et al., 1999; SERRA, 2005).

Diversos são os fatores biológicos que contribuem para a ocorrência de micotoxinas na cadeia alimentar, com ênfase a susceptibilidade dos vegetais à infecção fúngica, assim como fatores ambientais constituídos de temperatura, umidade e danos mecânicos durante colheita e estocagem (LACEY et al., 1985, BROWN et al., 1996). Somam-se ainda os problemas oriundos de avanço tecnológico, que visando a comercialização internacional, estocam os frutos nos períodos de entressafra sob condições que permitem o desenvolvimento de fungos psicrotróficos, representados por *Penicillium* spp. (HARISSON, et al., 1989). As principais espécies de fungos filamentos produtores de micotoxinas em alimentos são apresentadas a seguir na Tabela 1.

Tabela 1. Principais espécies responsáveis pela produção de micotoxinas

Micotoxina	Espécies produtoras
Aflatoxinas	<i>A. flavus</i> ; <i>A. parasiticus</i>
Ocratoxina A	<i>A. ochraceus</i> ; <i>A. alliaceus</i> ; <i>A. niger</i> ; <i>A. carbonarius</i> <i>P. verrucosum</i> ; <i>P. nordicum</i>
Tricotecenos	<i>Fusarium spp.</i>
Zearalenona	<i>F. graminearum</i> e outras <i>Fusarium spp.</i>
Fumonisinias	<i>F. moniliforme</i> (<i>F. verticillioides</i>); <i>F. proliferatum</i>
Citrinina	<i>P. citrinum</i> ; <i>P. expansum</i> ; <i>P. verrucosum</i> ; <i>A. alliaceus</i>
Ácido penicílico	<i>A. ochraceus</i> ; <i>P. aurantiogriseum</i> ; <i>P. viridicatum</i>
Patulina	<i>P. expansum</i> ; <i>P. griseofulvum</i> ; <i>A. clavatus</i>
Esterigmatocistina	<i>A. versicolor</i> ; <i>E. nidulans</i>
Ácido tenuazónico	<i>A. Alternata</i>
Penitrem A	<i>P. crustosum</i>
Alcalóides do ergot	<i>Claviceps spp.</i>
Ácido ciclopiazónico	<i>A. flavus</i> ; <i>A. tamarii</i> ; <i>P. commune</i>

Fonte: SERRA (2005).

1.1.2 Aflatoxinas

As aflatoxinas ocorrem naturalmente em alimentos e são produzidas por fungos encontrados especialmente em áreas com climas quentes e úmidos, os quais crescem na plantas antes da colheita ou sobre os alimentos, durante a armazenagem. Dentre as micotoxinas, as aflatoxinas são as que podem causar maiores danos aos seres humanos e animais, pela sua alta toxicidade e ampla ocorrência (EFSA, 2007a; EFSA, 2007b).

Vários tipos de aflatoxinas são produzidos na natureza, tal como a aflatoxina B1 (AFB1), aflatoxina B2 (AFB2), aflatoxina G1 (AFG1) e aflatoxina G2 (AFG2). A AFB1 é a mais comum em alimentos, apresentando maior potencial de genotóxico e carcinogênico. Os principais fungos produtores são *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, conhecidos como aflatoxigênicos desde o início da década de 60. A aflatoxina M1 (AFM1) é o metabolito principal da AFB1 em humanos e animais, que podem estar presentes no leite de animais que ingerem alimentos contaminados com a AFB1 (SYLOS; RODRIGUEZ-AMAYA, 1996; SABINO, 1998; CHO; HANG; KANG, 2000). Os mesmos são metabólitos heterocíclicos altamente oxigenados derivados da difurano cumarina. A partir de 1987 espécies raras de *Aspergillus nomius* também foram relatadas como produtoras destes metabólitos durante o seu crescimento em ração e alimentos (EATON; GROOPMAN, 1994; SABINO, 1996; SABINO, 1998).

A contaminação de ração e outros alimentos por micotoxinas pode variar de acordo com as condições ambientais (umidade do substrato e temperatura do ambiente), métodos de processamento, produção e armazenamento dos produtos. A temperatura é um dos principais

fatores envolvidos nesse processo e, em grãos, a faixa viável para a sua produção esta entre 11 e 37° C. Os fungos toxigênicos podem contaminar os cultivos em crescimento, em consequência de danos causados por insetos e outros agentes e produzir toxinas antes da colheita, durante essa e após seu armazenamento. Períodos de seca durante o cultivo do milho também são apontados como predisponentes de aflotoxinas (MALLMANN; SANTURO; WENTZ,1994; ZLOTOWSKI et al., 2004). Ademais, a presença da micotoxinas na ração pode resultar em efeitos tóxicos sinérgicos, aditivos ou antagônicos (ROSMANINHO et al., 2001).

1.1.3 Implicações à saúde humana

Micotoxinas são substâncias químicas resultantes da atividade metabólica de fungos, que podem intoxicar seres humanos e animais. Esta intoxicação pode proceder de forma direta e indireta. A forma direta ocorre quando o produto é diretamente utilizado na alimentação humana ou de animais. Enquanto a forma indireta resulta quanto subprodutos e derivados contaminados são empregados. As micotoxicoses são metabólicos secundários, que podem apresentar atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica, sintetizados no final da fase de crescimento exponencial de alguns fungos (FARIAS et al., 2000). Metabólicos fúngicos que quando ingeridas, inaladas ou absorvidas, causam redução de performance, doença ou a morte em homens ou animais, incluindo aves (PITT,1996).

Em saúde pública as aflatoxinas são identificadas como fatores envolvidos na etiologia do câncer hepático no homem, em consequência à ingestão de alimentos contaminados (ROSMANINHO et al., 2001). Estima-se que entre 5 a 10% da produção mundial de alimentos sofre deterioração provocada pelos fungos, causando sérios prejuízos à indústria alimentar e, se não corretamente controlados, estes alimentos contaminados poderão causar sérios problemas de saúde pública. (SANTOS; VENÂNCIO, LIMA, 1998).

1.2 LEGISLAÇÃO QUE REGULAMENTA A PRESENÇA DE FUNGOS TOXIGÊNICOS E/OU MICOTOXINAS

Legislações têm sido adotadas em diversos países com o intuito de proteger os consumidores contra os efeitos nocivos das micotoxinas em alimentos in natura e processados, e até mesmo em rações para animais de abate e de estimação. As legislações mais conhecidas são aquelas que regulamentam os níveis de aflatoxinas, não obstante

legislações para outras micotoxinas estejam sendo também implementadas rapidamente (FREIRE ET AL., 2007).

Todos os países que possuem legislação para micotoxinas apresentam, ao menos, limites que regulamentam a presença de AFB1 ou para a soma B1+B2+G1+G2. Entretanto, várias outras micotoxinas já estão também sob legislação. Dentre elas, destacam-se a AFM1, os tricotecenos desoxinivalenol, diacetoxiscirpenol, as toxinas T2 e HT2, as fumonisinas B1, B2 e B3, a OTA, a patulina, a esterigmatocistina, a zearalenona, dentre outras (FAO, 2004).

Na União Européia, os teores máximos de aflatoxinas são estabelecidas no Regulamento (CE) nº 1881/2006. A Directiva 2002/32/CE estabelece limites máximos para aflatoxinas B1 em matérias-primas. Os métodos oficiais de amostragem e análise para o controle de micotoxinas, incluindo aflatoxinas, são estabelecidas no Regulamento (CE) nº 401/2006. Isso garante que os mesmos critérios de amostragem destinados ao controle do teor de micotoxinas em alimentos são aplicadas aos mesmos produtos pelas autoridades competentes em todos os países europeus e que determinados critérios de desempenho, tais como recuperação e precisão, são cumpridos.

No Brasil, as aflatoxinas são as únicas micotoxinas cujos limites máximos em alimentos são previstos na legislação. A Resolução RDC nº 274 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece os limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite fluído, no leite em pó, no amendoim, na pasta de amendoim, no milho em grão, na farinha ou sêmola de milho para consumo humano, bem como os planos de amostragem e métodos de análise correspondentes (BRASIL, 2002). Para os demais produtos alimentícios destinados ao consumo humano, ainda prevalece a legislação de 1974, do Ministério da Saúde, Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos Resolução nº 34/76, publicada no Diário Oficial da União, em 19 de janeiro de 1977, no qual o limite de AFB1 e AFG1 é de 30 µg/kg (30 ppb) (BRASIL, 1977).

O limite máximo tolerado para aflatoxinas totais em qualquer matéria prima a ser utilizada diretamente ou como ingrediente para rações destinadas ao consumo animal, no Brasil, é de 50 µg/kg. Em alimentos para consumo humano os limites máximos admissíveis de concentração de aflatoxinas são: leite fluído 0,5 µg/kg (AFM1); milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmola de milho, amendoim em casca e descascado, cru ou torrado, pastas ou manteiga de amendoim 20,0 µg/kg de AFB1+AFB2+AFG1+AFG2 (BRASIL, 2002).

A União Européia estabelece que para todos os cereais e produtos derivados de cereais, incluindo produtos derivados da sua transformação o limite máximo permitido para

AFB1 é 2,0 µg/kg e AFB1+AFB2+AFG1+AFG2 é 4,0 µg/kg. São exceções: alimentos transformados à base de cereais e alimentos para bebês destinados a lactentes e crianças jovens e alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos, onde o limite máximo permitido para AFB1 é 0,1 µg/kg.

Já nos Estados Unidos, segundo o *Codex Alimentarius*, o nível total de aflatoxinas permitido em alimentos para consumo humano ou em rações para vacas leiteiras é de 20 µg/kg (ppb). No leite para consumo humano o nível é de 0,5 ppb. Valores de até 300 ppb são permitidos, em algumas circunstâncias, para rações de animais não produtores de leite. O conhecimento da biodiversidade fúngica, a detecção da microbiota responsável pela deterioração de cada tipo de alimento e, especificamente associada um padrão de micotoxinas, além da análise das principais micotoxinas são fundamentais para que medidas sejam tomadas para o controle da contaminação e, portanto, prevenção de danos diretos ou indiretos à saúde dos pequenos animais.

1.3 CONTROLE DE QUALIDADE NA CADEIA PRODUTIVA

Qualquer produto comercial alimentício deve, por legislação, ser armazenado em condições adequadas que garantam a manutenção das características originais do produto. A qualidade passou a ser considerada a chave para o sucesso em qualquer ramo de atividade como forma de manter-se em níveis de competitividade.

Quando se fala em qualidade de alimentos, a segurança do produto é um fator determinante, pois qualquer problema pode comprometer a saúde do consumidor. O alimento é preocupação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), sendo necessária manter a fiscalização sobre os estabelecimentos que comercializam e fabricam alimentos. A conservação e higiene dos equipamentos, a origem e a qualidade das matérias-primas, o grau de conhecimento e o preparo dos manipuladores, os responsáveis técnicos, são imprescindíveis para garantir a segurança dos alimentos (PEREIRA, 2006; DIAS, 2009).

Bellaver (2004) cita que a qualidade das rações é vista sob diferentes pontos de vista, tal como: qualidade nutricional (relacionada à composição de proteínas e aminoácidos, ácidos graxos, minerais, vitaminas e a energia digestível dos componentes presentes), qualidade tecnológica (relacionada às características físicas dos ingredientes e rações, bem como aquelas relacionadas como o processo de fabricação) e qualidade do ponto de vista de segurança alimentar (envolve a ausência de substâncias e microrganismos nocivos à saúde dos

animais, ambiente e dos consumidores). Uma vez que as rações têm relação direta com a segurança alimentar, essa deve ser mantida e provada em caso de questões judiciais.

Segundo SINDIRAÇÕES (2002), produzir rações significa submeter os ingredientes a processos distintos e conhecidos. Para isso, é necessário operacionalizar os procedimentos de fabricação com controle de pontos críticos dos processos, visando obter o máximo potencial nutricional com modificações físicas e/ou químicas nos alimentos.

Em geral, o controle de qualidade inicia no momento da compra da matéria-prima, devendo esta permitir a elaboração de uma ração de alta qualidade, seja ela física, sanitária ou nutricional. No processo de compra e recebimento dos ingredientes devem ser observadas características como coloração, odor, umidade, temperatura, textura, uniformidade, presença de contaminantes, roedores e insetos (LÁZZARI, 1992).

Para o controle da presença de micotoxinas é importante que sejam adotados métodos de manejo, tais como, redução do período de armazenamento, manutenção dos teores de umidade e temperatura. Considerando estes aspectos, a melhor forma de impedir a produção de micotoxinas, bem como seus efeitos deletérios, está em controlar o crescimento de fungos, empregando medidas, tais como a redução da presença de insetos nas plantações e a umidade durante a armazenagem das matérias-primas e rações, além de diminuir as perdas nutricionais aos grãos. Nesse aspecto, ácidos orgânicos tem-se mostrado eficientes durante a armazenagem, pois agem diminuindo o pH do meio, tornando-o impróprio para o crescimento fúngico (ROSMANINHO et al., 2001; SOUZA et al., 2005).

Vale ressaltar a importância da garantia de qualidade tanto de rações como também dos ingredientes envolvidos na formulação. Atualmente o preparo de alimentos para humanos é basicamente realizado no intuito de proporcionar benefícios nutricionais, estéticos e de desempenho, melhorando assim a qualidade de vida das pessoas. Logo a utilização as Boas Práticas de Fabricação (BPF) aparece como ferramenta imprescindível para garantir a qualidade e segurança desses produtos. Como não há um estudo científico que ateste os efeitos positivos de misturas, tal como a ração humana, os especialistas ainda não chegaram a um consenso sobre o alimento. Ao mesmo tempo, são escassos ou praticamente inexistentes estudos sobre a possível existência de contaminação microbiológicos nas mesmas.

Considerando a importância da manutenção da qualidade durante o processamento de alimentos, o presente estudo procurou avaliar a qualidade microbiológica de rações comerciais para humanos, quanto à presença de fungos contaminantes, buscando a identificação de fungos de espécies conhecidas como potencialmente produtoras de micotoxinas, bem como realizar uma análise comparativa entre as Legislações Nacional e

Internacional vigentes que regulamentam a presença de micotoxinas, em especial a aflatoxina, em gêneros alimentícios.

2 METODOLOGIA

Foram analisadas seis amostras de rações produzidas para consumo humano (o número de amostras foi baixo em função da presença de poucas marcas existentes no mercado), as quais foram adquiridas nas casas especializadas e supermercados da cidade de Videira SC. As composições de cada amostra são apresentadas na Tabela 1:

Tabela 2. Composição das amostras investigadas

Amostras	Composição
Amostra 1 (A1)	Linhaça dourada, quinoa, amaranto, aveia, levedo de cerveja, farinha de maracujá, extrato de soja, gergelim, germen e fibra de trigo, inulina, guaraná, farinha de arroz, goma guar
Amostra 2 (A2)	Lecitina de soja, farelo de trigo, farelo de aveia, colágeno hidrolisado, gergelim com casca, linhaça dourada, guaraná em pó, levedo de cerveja, germen de trigo, açúcar mascavo, gelatina sem sabor, quinua, cacau em pó, farinha de castanha, proteína texturizada de soja, linhaça marrom.
Amostra 3 (A3)	Lectina de soja, linhaça marrom, linhaça dourada, germen de trigo, quinua, proteína texturizada de soja, levedo de cerveja, aveia
Amostra 4 (A4)	Mistura de A1+ A2
Amostra 5 (A5)	Mistura de A2 + A3
Amostra 6 (A6)	Mistura de A1 + A2 + A3

Fonte: A autora

A presença de fungos contaminantes foi investigada através do método tradicional de quantificação de bolores e leveduras (meio Ágar Sabouraud Dextrose) com ênfase especial para o uso de meio seletivo AFPA (para *A. flavus* e *A. parasiticus*) e DRBC (Agar Dicloran Base com Rosa Bengala) para identificação dos fungos, tendo como referência manuais e métodos especializados. As placas foram incubadas em estufa por um período de cinco dias, a temperatura de 25 °C, sendo monitoradas sob o estereomicroscópio a partir do segundo dia e sempre que possível a identificação dos gêneros foi efetuada a este nível com base na presença de estruturas de reprodução especializadas. A contagem total de bolores e leveduras foi expressa pela média dos plaqueamentos e os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g).

Para a identificação os seguintes manuais foram utilizados: KLICK (2002); SAMSON e PITT (2000); PITT & HOCKING (1997). Como parâmetro de controle foram utilizadas as

legislações: Brasileira (RDC nº 274/ANVISA e Resolução Nº 34/76/MS) e Européia (Directiva 2002/32/CE, Regulamento (CE) nº 1881/2006 e Regulamento (CE) nº 401/2006).

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram realizadas análises microbiológicas para detecção de provável contaminação por fungos nas rações humanas comercializadas no comercio da cidade de Videira/SC, sendo que as amostras utilizadas encontravam-se armazenadas em embalagens e a granel. As imagens abaixo apresentam o desenvolvimento fúngico após 5 dias de incubação, a 25 °C em meio PDA:



Figura 1. A5 em meio PDA

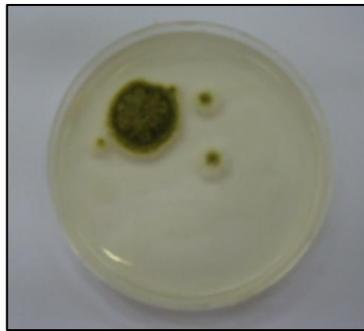


Figura 2. A4 em meio PDA



Figura 3. A1 em meio PDA

Os gêneros fúngicos identificados bem como a avaliação de bolores e leveduras presentes nas amostras (expressos em UFC/g) estão indicados na Tabela 2:

Tabela 3. Contaminação das amostras por bolores e leveduras

Amostra	Gênero	Meio PDA (UFC/g)	Meio AFPA*
A1 (Embalada)	<i>Penicillium sp.</i> , <i>Cladosporium sp.</i>	$5,6 \times 10^7$	ND
A2 (Embalada)	<i>Mucor sp.</i> , <i>Alternaria sp.</i>	$7,7 \times 10^5$	ND
A3 (Embalada)	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Cladosporium sp.</i>	$3,7 \times 10^6$	ND
A4 (A granel)	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Cladosporium sp.</i> , <i>Fusarium sp.</i>	$3,6 \times 10^4$	ND
A5 (A granel)	<i>A. seção nigri.</i> , <i>A. flavus</i>	$4,4 \times 10^4$	P
A6 (A granel)	<i>A. seção nigri.</i> , <i>A. flavus</i>	$6,8 \times 10^4$	P

*Verificação qualitativa

(ND: Não detectado –Negativo para AFPA; P: Positivo para crescimento em AFPA)

A contagem média de bolores e leveduras foi $3,78 \times 10^4$ UFC/g. Considerando que as normas de boas práticas de fabricação de alimentos (BPF) indicam boas condições higiênico sanitárias dos produtos a contagem de até 1×10^4 UFC/g (conforme preconizado pela RDC nº 12/2001, da ANVISA), pode-se afirmar que as amostras em estudo apresentaram uma elevada contaminação por bolores e leveduras. Ademais, para as amostras A5 e A6, cultivadas em meio AFPA (contagem qualitativa) foi observada a incidência de fungos do gênero *A. flavus*, conhecido como aflatoxigênico, entretanto, não foi observada a presença de *A. parasiticus*. De

acordo com Meronuck (1987), espécies de *Aspergillus* são consideradas iniciadoras de deterioração de sementes e grãos, podendo crescer com baixo teor de água. Estes fungos são potencialmente micotoxigênicos e sua presença em amostras de alimentos destinados ao consumo humano deve receber devida atenção.

Conforme Ramos et al. (2008), a presença de microrganismos em níveis elevados no alimento já processado indica a ocorrência de falhas durante o seu processo de fabricação como: tratamento térmico ineficiente, armazenamento inadequado, uso de matéria-prima com carga microbiana elevada entre outros.

4 CONCLUSÃO

A caracterização e identificação de fungos contaminantes em alimentos é essencial para o controle da contaminação por estes microorganismos e a possível produção de micotoxinas. Nas amostras estudadas foi observado que a contagem para bolores e leveduras totais superou o limite estabelecido pela legislação. Ademais, algumas amostras apresentaram crescimento de *A. flavus*, indicando a possibilidade de ocorrência de aflatoxinas.

Para tanto, há necessidade de maior controle das condições higiênico sanitárias durante toda a cadeia produtiva de alimentos, de maneira a manter a qualidade do produto final, visando assim à saúde da população.

5 REFERÊNCIAS

BELLAVER, C. A importância da gestão da qualidade de insumos para rações visando a segurança dos alimentos. **In:** Simpósio de Segurança dos Alimentos. 41^a Reunião Anual da SBZ, Campo Grande: MS, 19 a 22/07/2004.

BENNETT, J.W; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n. 3, p. 497 - 516, jul/2003.

BRASIL. **Resolução RDC nº 12**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União, 02/01/2001.

BRASIL. **Resolução RDC nº 274**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União, 16/10/2002.

BRASIL. **Resolução nº 34/76**, Ministério da Saúde. Diário Oficial da União, 19/01/1977.

BROWN, N. L. et al. Patulin in Apples: Influence of Deck Storage and Initial Processing, IUPAC, p. 189. Rome, may. 1996.

CAST (Council for Agricultural Science and Technology). **Mycotoxins**. Economic and Health Risks. CAST Task Report nº. 116, Ames: USA, 1989.

CHO, J.; HANG, K.; KANG, K. Control of aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by inhibitory action of antagonistic bacteria. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.10, n. 2, p. 154-160, 2000.

COZZOLINO, S. M. F (Ed). **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 1ª ed. São Paulo: Manole, 2005. 878 p.

DIAS, L. P.; VIEIRA, L. M.; MOURA, H. F. N.; PINTO, C. E. M.; NASIMENTO, V. L. V. Contagem de bolores e leveduras em panificadoras de um Bairro de Teresina – PI. **In: IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica**. Belém: PA, dez. 2009.

EATON, D.L.; GROOPMAN, J.D. (Ed.) **The Toxicology of Aflatoxins**: human health, veterinary, and agricultural significance. New York: Academic Press, 1994. 544 p.

EC (European Commission Regulation). **DIRECTIVE 2002/32/EC. On undesirable substances in animal feed**. Official Journal of the European Communities, p. 01-21, may. 2002.

EC (European Commission Regulation). Nº 401/2006. **Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs**. Official Journal of the European Union, p. 12-33, feb. 2006.

EC (European Commission Regulation). Nº 1881/2006. **Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs**. Official Journal of the European Union, p. 05-24, dec. 2006.

EFSA (European Food Safety Authority). **Aflatoxins in food**: EFSA assesses new proposed maximum levels for almonds, hazelnuts and pistachios and advises the European Commission. News History, mar. 2007a. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/>.

EFSA (European Food Safety Authority). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain [CONTAM] related to the potential increase of consumer health risk by a possible increase of the existing maximum levels for aflatoxins in almonds, hazelnuts and pistachios and derived products. **The EFSA Journal**, v. 446, p. 1-127, mar. 2007b.

FARIAS, A. X.; ROBBS, C. F.; BITTENCOUT, A. M.; ANDERSEN, P.M.; CORRÊA, T. B. S. Contaminação endógena por *Aspergillus spp.* em milho pós-colheita no Estado do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.3, p. 617-621, 2000.

FAO (Food and Agriculture Organization). **Worldwide regulations for micotoxins in food and in feed in 2003**. FAO Food and Nutrition Paper 81. Italy: Rome, 2004.

FREIRE, F. C. O.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N P. **Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal**. Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 110. Fortaleza, 2007. 48 p.

HARISSON, M.A. Presence and stability of patulin in apples products: A Review. *Journal of Food Safety*, Tumbull, v.9, 1989.

KLICH, M.A. Identification of common *Aspergillus* species, 1nd. Centraalbureau voor schimmecultures. The Netherlands, 2002. 111p.

LACEY, J. Factors affecting mycotoxin production. **In: Sixth International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins**. Pretoria, Republic of South Africa, jul. 1985.

LÁZARRI, F. A. Qualidade da matéria prima de rações. Umidade, fungos e micotoxinas. **In: VII Mini-Seminário do Colégio Brasileiro de Nutrição Animal**, Campinas, São Paulo, 1992.

MALMANN CA, SANTUARIO JM, WENTZ I. Aflatoxinas: Aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. **Ciência Rural**, v. 24, n.3, p. 635-643, 1994.

LEONEL, R. A vez da Ração Humana. **O Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, out. 2009. Disponível em: www.oestadorj.com.br/ Acesso em: 15 mar. 2012.

MARTINELLI, G. Ração Humana: vale à pena experimentar? **Revista Marie Claire**. São Paulo, jan./ 2010. Disponível em: www.revistamarieclaire.globo.com/ Acesso em: 16 mar. 2012.

MAIA, C. Nutricionistas alertam para os perigos da Ração Humana. Rio de Janeiro, fev. 2010a. Disponível em: www.g1.globo.com/jornalhoje. Acesso em: 24 fev. 2012.

MAIA, C. Pesquisadores analisam os tipos de ração humana. Rio de Janeiro, mar. 2010b. Disponível em: <http://g1.globo.com/jornalhoje>. Acesso: 13 mar. 2012.

MERONUCK, R. A., The significance of fungi in cereal grains. **Plant Disease**, v.71, n. 3, p.287-291, mar. 1987.

NUNES, E. O. **População de fungos filamentosos e sua relação com micotoxinas presentes na uva e no vinho de Santa Catarina**. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

PEREIRA, C. H. C. **Avaliação das Unidades de Alimentação e Nutrição da cidade de Franca visando à promoção de saúde**. 2006. 86 f. Dissertação (Mestrado em Promoção de Saúde) – Universidade de Franca, Franca, 2006.

PITT, J.I.; What are Mycotoxins? **Australian Mycotoxin Newsletter**, v. 7, n. 1, 1996.

PITT J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. Blackie Academic and Professional, London, 1997. 593 p.

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

RAMOS, N. P.; FERREIRA, D. N.; SILVA, V. P.; SILVEIRA, E. O.; BRITO, G. A. P.; CABRAL, T. M. A.; NASCIMENTO, G. J. Qualidade higiênico-sanitária de 10 amostras de polpa de açaí congelada fabricada por uma indústria do Município de João Pessoa – PB. **In: XI Encontro de Iniciação à Docência**. UFPB, João Pessoa, abr. 2008.

ROSMANINHO, J. F., OLIVEIRA, C. A. F., BITTENCOURT, A. B. F. Efeitos das micotoxicoses Crônicas na Produção Avícola. **Arquivos do Instituto de Biologia de São Paulo**, v.68, n.2, p. 107-114, jul./dez., 2001.

SABINO, M. **Micotoxinas**. In: OGA, S. (Ed.) **Fundamentos da Toxicologia**. 1ª . ed. São Paulo: Atheneu, 1996. 515 p.

SABINO, M. Micotoxinas. Apostila do Instituto Adolfo Lutz/Seção de Química Biológica, São Paulo, 1998.

SAMSON, R. A.; PITT, J. I. **Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification**. Harwood Academic Publishers, Singapore, 2000.

SANTOS, M. S., VENÂNCIO, A., LIMA, N. **Fungos Contaminantes na Indústria Alimentar**. Braga: Micoteca da Universidade do Minho, 1998. 128 p.

SERRA, R. **Micoflora das uvas portuguesas e seu potencial para a contaminação das uvas com micotoxinas, com destaque para a ocratoxina A**. 2005. 399 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) – Universidade do Minho, Portugal, 2005.

SERRA, R.; BRAGA, A.; VENÂNCIO, A. Mycotoxin producing and other fungi isolated from grapes for wine production, with particular emphasis on ochratoxin A. **Research in Microbiology**, v. 156, n. 4, p. 515-521, may. 2005.

SINDIRAÇÕES. **Manual de boas práticas de fabricação para estabelecimentos de produtos para alimentação animal**. Comunicação em Agronegócios e Meio Ambiente. São Paulo, 2002.

SOUZA, L. T.; PASCOAL, J. A.; TANENO, J. C.; PICCININ, A. A importância das aflatoxinas na avicultura. **Revista Eletrônica de Medicina Veterinária**, a. 3, n. 5, jul. 2005.

SPAHR, U; WALTHER, B; SIEBER, R; GAFNER, JL; GUIDON, D. V. Vorkommen von Mykotoxinen in Futtermitteln und carry over in die Milch: eine Übersicht. **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, v. 90, p. 575-609, 1999.

SYLOS, C.M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Estudo comparativo de métodos para determinação de aflatoxina M1. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 56, n. 1, p. 87-97, 1996.

VAN EGMOND, H.P. Mycotoxins: regulations, quality assurance and reference materials. **Food Additives and Contaminants**, v.12, n. 3, p. 321-330, may/jun. 1995.

ZLOTOWSKI, P.; CORRÊA, A. M. R.; ROZZA, D. B.; DRIEMEIER, D.; MALLMANN C. A.; MIGLIAVACCA, F. A. Surto de aflatoxina em suínos no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 207-210, oct./dec. 2004.