

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DA VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

DANIELA PARASKEVI BELEGRIS

**CONTAMINAÇÃO MICOAFLATOXIOLOGICA DE MILHO DE PIPOCA E CANJICA
DE MARCAS COMERCIALIZADAS NO RECIFE - PE**

Vitória de Santo Antão

2022

DANIELA PARASKEVI BELEGRIS

**CONTAMINAÇÃO MICOAFLATOXIOLÓGICA DE MILHO DE PIPOCA E CANJICA
DE MARCAS COMERCIALIZADAS NO RECIFE - PE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico da Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, sob orientação da Professora Dra Idjane Santana de Oliveira.

Vitória de Santo Antão

2022

Catálogo na Fonte
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB-4/2018

B428c Belegris, Daniela Paraskevi.
Contaminação micoflatoxiológica de milho de pipoca e canjica de
marcas comercializadas no Recife - PE /Daniela Paraskevi Belegris. -
Vitória de Santo Antão, 2022.
36 f.; il.: color.

Orientadora: Idjane Santana de Oliveira.
TCC (Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV,
Bacharelado em Nutrição, 2022.
Inclui referências.

1. Grão comestível. 2. Micotoxinas. 3. Contaminação de alimentos.
4. Fungos. I. Oliveira, Idjane Santana de (Orientadora). II. Título.

633.159 CDD (23. ed.)

BIBCAV/UFPE - 112/2022

DANIELA PARASKEVI BELEGRIS

**CONTAMINAÇÃO MICOAFLATOXICOLÓGICA DE MILHO DE PIPOCA E
CANJICA DE MARCAS COMERCIALIZADAS NO RECIFE - PE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico da Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Aprovado em: 30 de maio de 2022.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Idjane Santana de Oliveira (Orientadora)
UFPE/ CAV

Prof^a. Silvana Gonçalves Brito de Arruda (Examinadora Interna)
UFPE/ CAV

Prof^a. Lais Karla do Nascimento Andrade (Examinadora Externa)
EREM Senador João Cleofas de Oliveira

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus por ter permitido que eu tivesse saúde e determinação para não desanimar durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais, irmã e namorado, que me incentivaram nos momentos difíceis e que sempre estiveram ao meu lado enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

A professora Idjane Santana de Oliveira, por ter sido minha orientadora e ter desempenhado tal função com muita dedicação, compreensão e amizade.

Aos meus colegas de curso, por compartilharem comigo tantos momentos de descobertas e aprendizado e por todo o companheirismo e incentivo ao longo deste percurso.

Ao Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão e aos que o compõem, que foram essenciais no meu processo de formação profissional, pela dedicação, e por tudo o que aprendi ao longo dos anos do curso.

RESUMO

O milho é um alimento de importância nutricional, social e econômica em todo Brasil, especialmente na Região Nordeste pela presença de seus derivados (principalmente a farinha de milho em flocos ou fubá), juntamente com o milho de pipoca e canjica, a base da alimentação humana e de animais. Esse trabalho teve como objetivo geral avaliar a contaminação por fungos totais e fungos produtores de aflatoxinas em marcas comerciais de milho de pipoca, usando o método de plaqueamento direto de 10 grãos de cada amostra, em quintuplicata nos meios de cultura DG-18 (para avaliar contaminação por fungos totais) e AFPA (para avaliar apenas fungos *Aspergillus* produtores de aflatoxina). Das 7 amostras de milho de canjica e 9 amostras de milho de pipoca, nenhuma apresentou contaminação por fungo aflatoxigênico no meio AFPA. Entretanto, todas as amostras de milho de pipoca apresentaram contaminação pelo fungo *Fusarium* spp. Apenas a amostra 7 de milho de canjica (CA 7) não apresentou qualquer contaminação nem por fungos leveduriformes, nem filamentosos e nem fungos aflatoxigênicos. A taxa média de contaminação por fungos dos grãos de milho de canjica variou entre 0 a 84% e o milho de pipoca entre 18 a 66%. Os gêneros de fungos que apresentaram maior frequência de ocorrência tanto para milho de canjica quanto para milho de pipoca foi *Fusarium* sp. e *Eurotium* também em ambos os tipos de milho foi o 2º mais prevalente. Já os fungos *Alternaria* sp e *Aspergillus* Seção Flavi ocorreram contaminando apenas milho de pipoca. Os resultados mostram que a contaminação presente no milho de pipoca e canjica, principalmente pelo fungo *Fusarium*, produtor da micotoxina fumonisina, apresenta possibilidade de risco para saúde humana a partir do consumo desses grãos.

Palavras-chave: grão; micotoxina; contaminação; fungo.

ABSTRACT

Corn is a food of nutritional, social and economic importance throughout Brazil, especially in the Northeast Region, because it is corn and its derivatives (mainly corn flakes or cornmeal), together with popcorn and cornflour, the base of human and animal food. This study aimed to evaluate the contamination by total fungi and aflatoxin-producing fungi in commercial brands of popcorn, using the method of direct plating of 10 grains of each sample, in quintuplicate in DG-18 culture media (to evaluate total fungal contamination) and AFPA (to assess only aflatoxin-producing *Aspergillus* fungi). Of the 7 samples of cornflour and 9 samples of popcorn, none showed contamination by aflatoxigenic fungus in the AFPA medium. However, all popcorn samples showed contamination by the fungus *Fusarium* spp. Only sample 7 of cornflour (CA7) did not show any contamination by yeast, filamentous or aflatoxigenic fungi. The average rate of fungal contamination of cornflour grains ranged from 0 to 84% and popcorn from 18 to 66%. The genera of fungi that presented the highest frequency of occurrence for both cornflour and popcorn were *Fusarium* sp. And *Eurotium* also in both types of maize was the 2nd most prevalent. On the other hand, the fungi *Alternaria* sp and *Aspergillus* Section Flavi occurred contaminating only popcorn corn. The results show that the contamination present in popcorn and cornflour, mainly by the fungus *Fusarium*, producer of the mycotoxin fumonisin, presents a possibility of risk to human health from the consumption of these grains.

Key words: grain; mycotoxin; contamination; fungus.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Micotoxinas e principais fungos produtores em grão de milho	16
Tabela 2 - Limites máximos tolerados de micotoxinas para milho e seus produtos. .	22
Tabela 3 - Taxa média de germinação, contaminação por fungos totais (meio DG-18), e aflatoxigênicos (meio AFPA) em amostras de milho de pipoca e canjica comercializadas em Recife, Pernambuco.	26
Tabela 4 - Frequência da ocorrência dos principais gêneros de fungos contaminantes das amostras de milho de canjica (CA) e pipoca (PI) analisadas.	28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS.....	11
3 JUSTIFICATIVA.....	12
4 REVISÃO DA LITERATURA	13
4.1 Milho e seu valor nutricional, social e econômico	13
4.2 Fungos e Micotoxinas em Milho	15
4.3 <i>Fusarium</i>	17
4.4 <i>Aspergillus</i>.....	19
4.5 Legislação para Micotoxinas.....	20
5 MATERIAL E MÉTODOS	23
5.1 Amostras de Milho de Canjica e Pipoca.....	23
5.2 Processamento das Amostras de Milho.....	23
5.3 Determinação da taxa de contaminação de Milho de canjica e pipoca por Fungos Totais e Aflatoxigênicos	23
5.4 Identificação e Preservação dos Principais Gêneros de Fungos contaminantes das amostras de milho	24
6 RESULTADOS.....	25
7 DISCUSSÃO	30
8 CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays L.*) é uma cultura de grande importância mundial, não só por seu papel econômico, como também pelo fator social. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial, ficando atrás somente dos Estados Unidos e China.

O milho constitui parte essencial da base alimentar dos seres humanos, seja pelo seu consumo direto, na forma de milho verde, milho em conserva, milho pipoca, fubá, farinha, amido e outros produtos, ou indireto, tanto como matéria-prima para produtos de origem animal quanto como produtos industrializados (PRESTES *et al.*, 2019).

Apesar do Brasil se destacar como o um dos maiores produtores mundiais de milho, o sistema de produção brasileiro apresenta elevados índices de perdas de qualidade de grãos. Estas perdas são causadas, em sua maioria, por danos físicos ocorridos durante as operações de colheita, transporte, secagem, beneficiamento e armazenamento, por fatores climáticos, por agentes biológicos e pela própria respiração dos grãos (SHINOHARA *et al.*, 2021).

O milho é um substrato perfeito para contaminação fúngica, uma vez que o amido é o componente principal do grão. A contaminação por fungos com potencial toxigênicos (produtores de micotoxinas), tais como *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.*, pode ocorrer em grãos de milho aparentemente sadios. Grãos contaminados com metabólitos fúngicos causam uma grande preocupação na saúde de animais e humanos pelo perigo representado com a presença desses metabólitos (micotoxinas) (PRESTE *et al.*, 2019).

As micotoxinas são formadas pelo metabolismo secundário de algumas espécies de fungos, produzidos quando esses micro-organismos estão sujeitos às condições climáticas favoráveis. Em humanos, algumas destas toxinas possuem características cumulativas e podem ser mutagênicas, imunossupressoras e principalmente cancerígenas, como é o caso das aflatoxinas (BENNETT *et al.*, 2003).

Fusarium spp. produz diversas micotoxinas, sendo as fumonisinas, encontradas com elevada frequência no milho e são produzidas pelas mesmas espécies que causam a podridão da espiga (*F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. graminearum* e *F. proliferatum*) (ALBORCH *et al.*, 2022).

Estudos com amostras comerciais de milho de pipoca e especialmente no Brasil são poucos, sendo necessário mais estudos com esse grão que é base da alimentação, especialmente na região Nordeste.

2 OBJETIVOS

Geral:

Avaliar a qualidade mico e aflatoxicológica das principais marcas de milho de pipoca e canjica comercializadas em Recife, Pernambuco.

Específicos:

1. Identificar e conhecer a frequência dos principais gêneros de fungos contaminantes das amostras comerciais de milho de pipoca e canjica (munguzá);
2. Conhecer a taxa de contaminação por fungos totais e aflatoxigênicos nas amostras analisadas;
3. Definir a taxa de germinação dos grãos nos meios de cultura usados para avaliar fungos.

3 JUSTIFICATIVA

O presente estudo justifica-se pela importância da contínua avaliação micoafletoxicológica de amostras comerciais de milho para consumo humano. Principalmente considerando a escassa informação na literatura sobre contaminação de milho por fungos em geral e fungos toxigênicos em Recife, Pernambuco. O único trabalho realizado para avaliar fungos em produtos de milho com amostras de Pernambuco foi de 2003, esse trabalho amostras de xerem e farinha de milho, o mesmo não avaliou milho de pipoca nem o potencial aflatoxigênico dos fungos, além disso esse trabalho foi publicado anterior a resolução da ANVISA RDC no. 07, de 18/02/11 que trata do limite máximo de tolerância (LMT) para a micotoxina aflatoxina (cancerígena) em milho e derivados.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Milho e seu valor nutricional, social e econômico

O milho é uma das culturas mais importantes mundialmente, seja do ponto de vista econômico, seja do ponto de vista social. Destaca-se por ser o grão mais produzido no mundo: segundo informações do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), a produção mundial deste cereal atingiu 1,137 bilhão de toneladas, na campanha agrícola de 2020/2021. No Brasil a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) informou que a colheita de grãos na safra 2020/2021 foi de 260,8 milhões de toneladas (CONAB, 2021).

O milho é cereal de grande importância econômica mundial, com expectativa de produção anual acima de 1 bilhão de toneladas. Os Estados Unidos exportam aproximadamente um terço do comércio mundial de milho. O Brasil, atualmente, é o terceiro maior produtor de milho no mundo, juntamente com os Estados Unidos e a China de acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. Na safra 2016/2017, a área plantada no país foi igual a 17,6 milhões de hectares com produção de 97,7 milhões de toneladas (CONAB, 2018).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017) a produção de milho no Brasil representa 41,1% da produção agrícola nacional de grãos. Aproximadamente 4% desse valor, que representa 1,6 milhão de toneladas, é direcionado para a alimentação humana e outros 10% da produção é destinado às indústrias alimentícias. Aproximadamente 70% da produção de milho é direcionada à alimentação animal, principalmente suinocultura e avicultura. Ou seja, além de ser utilizado para alimentação e indústrias alimentícias, o milho também é necessário para compor a ração de animais de corte, produzindo maior variedade de alimentos à comunidade.

Embora a maior parte do milho destine-se a fabricação de ração animal, a alimentação humana, com derivados de milho, constitui um fator importante de uso deste cereal entre a população de baixa renda. No Nordeste do Brasil, é reconhecido como cultura agrícola relevante devido ao fácil cultivo, requisição de poucos recursos tecnológicos e por ser uma boa fonte alimentícia para população e para os animais. Somado a estes fatores, a cultura do milho assume um importante

papel socioeconômico, como geradora de emprego e renda para o pequeno produtor (ANDRADE *et al.*, 2020).

Do ponto de vista nutricional, Segundo Corte Real *et al.* 2014, no Brasil o mercado de milho valoriza pouco a qualidade, pois o valor pago por esse atributo é pouco significativo. O que está à venda é a quantidade e não a qualidade (valor nutricional, ausência de fungos e micotoxinas, entre outros). Porém, nos grãos de má qualidade, o valor nutricional pode ter alteração da composição química, diminuição da biodisponibilidade de alguns nutrientes, presença de fatores antinutricionais e proliferação de fungos com ou sem a produção de micotoxinas. Os grãos do milho são, geralmente, amarelos ou brancos, podendo apresentar colorações variando desde o preto até o vermelho. O peso individual do grão varia, em média, de 250 a 300mg e sua composição média em base seca é 72% de amido, 9,5% proteínas, 9% fibra (a maioria resíduo detergente neutro) e 4% de óleo (PAES, 2006).

Segundo Lopes (2014), a palavra canjica designa no Brasil preparações diferentes. No Sudeste, é preparado sopa densa de milho branco, servida fria, às vezes quente, feita com grãos inteiros cozidos em água. No Nordeste, batizam a receita de mungunzá. Alguns acreditam que nos séculos XVI e XVII a canjica foi espalhada pelos bandeirantes, outros acreditam que os índios de São Paulo já a usassem como comida. Até a origem do nome é controversa e de acordo com o Dicionário Aurélio, o nome provém de Kanjica, da língua dos quimbundos de Angola e foi incorporada na dieta dos negros.

O Milho de pipoca e canjica pertencem a mesma espécie (*Zea mays* subsp. *mays* L), porém variedades diferentes. O milho de pipoca é conhecido cientificamente como *Zea mays* subsp. *evarta* (Sturtev.) L. H. Balley, enquanto o milho de canjica é *Zea mayssubsp.indurata* (Sturtev.) L. H. Balley. A diferença no grão refere-se ao endosperma, uma vez que o do milho de pipoca é mais duro, enquanto o de canjica é mais macio (ALBORCH *et al.*, 2022).

O grão de milho para pipoca estoura porque além do endosperma duro possui mais água (entre 12 e 16%) e a casca é mais resistente que o milho comum. Quando a semente é exposta ao calor, (temperatura mínima de 170°C), a água encapsulada vira vapor, que se expande. A pressão é tanta que a casca se rompe. No primeiro contato com o ar, o amido (gelatinoso no interior do grão) solidifica-se e

vira a espuma branca que é consumida. Caso haja problemas na casca, como furos ou rachaduras, e até mesmo deterioração por fungos, o vapor de água escapa e a casca pode não explodir, formando o milho que não estourou (ALBORCH *et al.*, 2022).

4.2 Fungos e Micotoxinas em Milho

Há diversas variedades de fungos que podem ocasionar podridões em grãos de milho, dentre todos, os que mais se destacam são: *Fusarium verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, *Aspergillus flavus*, *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora*, *Penicillium* (BENNETT; KLICH, 2003).

Além de afetar a qualidade do grão, a presença de fungos indica a possibilidade da existência de micotoxinas, metabólitos secundários produzidos por fungos em alimentos, especialmente sementes, cereais, grãos e farinhas, quando as condições ambientais são favoráveis. Do ponto de vista da alimentação animal, não é interessante lotes de grãos de milho de baixa qualidade, pois eles podem causar micotoxicoses aos animais, acarretando diminuição do ganho de peso corporal, imunossupressão, doenças hepáticas, doenças renais e deficiências nos órgãos reprodutores.

Como as toxinas produzidas por fungos podem ocasionar efeitos diretos aos animais e humanos (micotoxicose primária) e indiretos as pessoas através do consumo de animais contaminados com ração (micotoxicose secundária), é muito complicado mensurar valores relacionados aos prejuízos causados. Mitchell *et al.* (2016) avaliaram que a contaminação por aflatoxina pode causar prejuízos à indústria de milho que variam de US \$ 52,1 milhões a US \$ 1,68 bilhão anualmente nos Estados Unidos. Além disso, devem ser considerados prejuízos referentes à saúde humana e animal. E normalmente um alimento é contaminado com mais de um fungo que possuem potencial para produzir mais de uma micotoxina no mesmo alimento. Na Tabela 1 é possível visualizar as micotoxinas que podem contaminar ao milho e seus derivados.

Tabela 1 - Micotoxinas e principais fungos produtores em grão de milho

Micotoxinas	Fungos produtores
Aflatoxina	<i>A. Flavus, A. parasiticus</i>
Fumonisinias	<i>Fusarium verticillioides, Fusarium proliferatum</i>
Zearalenona	<i>Fusarium graminearum, Fusarium culmorum, Fusarium equiseti</i>
DON	<i>Fusarium graminearum, F. culmorum</i>
T2	<i>Fusarium sporotrichioides, Myrothecium, Phomopsis</i>

Fonte: Prestes *et al.* (2021).

Os fatores que afetam o crescimento de fungos nos grãos de milho incluem: teor de umidade dos grãos, temperatura, tempo de estocagem, condição física e sanitária do grão, nível de inoculação do fungo, conteúdo de oxigênio e armazenamento anterior, insetos e ácaros. A invasão de um lote de grãos por insetos pode iniciar ou agravar o desenvolvimento de fungos, pois através de sua atividade metabólica há um aumento de teor de umidade e temperatura da massa dos grãos (SHINOHARA *et al.*, 2021).

Tournas e Niasi (2017) estudaram 85 amostras de cereais, principalmente milho e trigo. Os autores encontraram mais de 90% das amostras de milho contaminadas com fungos, sendo o milho de pipoca o que apresentou mais quantidade de ufc/grama de amostra. Além disso, esses autores ainda observaram prevalência de *Fusarium* sp (74%), em relação a *Penicillium* (44%) e *Aspergillus* sp (21%).

Morales-Moo *et al.* (2020) avaliaram o risco para saúde humana do consumo de pipoca contaminada com aflatoxina e observaram que em 47% das 30 amostras de milho de pipoca, adquiridas em supermercados do México, estavam contaminadas com aflatoxinas. O consumo diário estimado de pipoca entre as mulheres foi de 21 g de pipoca diariamente contendo 2,8 ng de aflatoxina B1/kg de peso corporal e 18,29 ng kg⁻¹ de aflatoxinas totais por peso corporal, e para homens, os valores foram de 3,0 ng kg⁻¹ de AFB1 (aflatoxina do tipo B1) por peso corporal e 16,0 ng kg⁻¹ de Aflatoxinas totais por peso corporal. No entanto, limite máximo de tolerância (LMT) recomendado pela JECFA (Comitê Conjunto de Especialistas da FAO/OMS em Aditivos Alimentares) é 1 ng kg⁻¹ de peso corporal. Ou seja, há risco real para saúde humana.

O maior risco de câncer de fígado foi detectado na população de homens menores de 18 anos de idade, com 0,137 casos em 100.000 pessoas. Os resultados mostraram ainda que 9,5% dos consumidores de pipocas contaminadas com AFB1 (aflatoxina do tipo B1) estão em risco e que 52,2% estão em risco de exposição total à aflatoxina. A pipoca é um alimento acessível a crianças com pouca idade e também baixo peso, aumentando o risco para saúde humana desde a infância.

4.3 *Fusarium*

Fusarium é um gênero de fungo Ascomiceto que produz diversas micotoxinas, entre elas, as fumonisinas, que são encontradas com elevada frequência no milho e são produzidas pelas mesmas espécies que causam a podridão da espiga (*F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. graminearum* e *F. proliferatum*) (THOMPSON; RAIZADA, 2018).

Há 16 tipos de fumonisinas descritas, porém, duas são mais importantes, a FB1 e a FB2, devido a frequência de ocorrência e toxicidade. A FB1 geralmente é produzida em maiores quantidades, sendo também mais tóxica (BENNETT; KLICH, 2003). Cerca de 90% do *F. verticillioides* existente é encontrado no milho e, aproximadamente 70% do total de fumonisinas encontrada em alimentos contaminados, correspondem a FB1. A produção de fumonisinas pode ocorrer durante o desenvolvimento do milho, sendo afetado pela interação do patógeno fúngico com a planta hospedeira e o ambiente (MARCONDES, 2012).

Dentre os efeitos em humanos, a ingestão de alimentos contaminados com fumonisinas, por mulheres grávidas, está associada à má formação do tubo neural (espinha bífida), provocada pela interferência na utilização do ácido fólico. As fumonisinas também são considerados possíveis carcinogênicos, relacionados a alta ocorrência de câncer de esôfago nas regiões de Transkei, no sul da África, também na China e no nordeste da Itália (BENNETT; KLICH, 2003).

A explicação do caráter carcinogênico das fumonisinas, se deve ao bloqueio na biossíntese de esfingolipídios, substância predominante no sistema nervoso, essencial para a manutenção e integridade da membrana celular, e para o transporte iônico entre células. A pausa na síntese de esfingolipídios gera o acúmulo

de esfinganina e esfingosina, provocando os efeitos tóxicos e carcinogenicidade (BENNETT; KLICH, 2003).

Gabriel *et al.*, 2018 analisaram 22 genótipos de milho de pipoca quanto à resistência de acúmulo de fumonisinas produzidas por *Fusarium verticillioides*, principal contaminante deste tipo de milho. Os autores observaram que a quantidade de fumonisinas acumulada nos grãos dos genótipos estudados variou de 8,2 a 234,8 ppm, o que é considerada elevada e, portanto, há risco para saúde humana.

Andrade *et al.*, 2020 estudaram a presença da micotoxina fumonisina em 317 amostras de tipos diferentes de produtos de milho e relataram que as amostras de milho de pipoca foram as que apresentaram mais alta concentração de fumonisina (197,2 ug/kg) que o milho de canjica (49,7ug/kg) e que para as micotoxinas DON (desoxinivalenol) e ZEA (zearalenona) tanto para as amostras de milho de canjica quanto milho de pipoca a contaminação ficou abaixo do limite de detecção do método. Esses resultados indicaram risco para a saúde humana.

Além das fumonisinas, esse gênero também pode produzir: zearalenona, desoxinivalenol – DON ou vomitoxinas, toxina T-2, ácido fusárico e moniliformina (MARCONDES, 2012). A zearalenona é outro tipo de micotoxina produzida por *Fusarium*, mais exatamente pelas espécies *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. equiseti* e *F. cerealis*, que contaminam cereais, incluindo o milho, e frutas como banana e tomate (RUFATTO, 2014). A relação da zearalenona com problemas hormonais é explicada pelo fato de que o α -zearalenol possui a capacidade de se ligar aos receptores de estrógenos 17 vezes mais forte do que o etinilestradiol. A partir dessa ligação que surgem os efeitos citados acima.

Há outros exemplos de reações provocadas por essa toxina também são citados por Rufatto (2014) como: puberdade precoce, fibrose do útero, cancro da mama, carcinoma do endométrio, hiperplasia do útero, alterações nas atividades das glândulas adrenal, tireoide e pituitária. Além disso, a zearalenona possui características de toxicidade hematológica e renal, sendo ainda capaz de provocar a peroxidação lipídica e bloquear a síntese proteica e de DNA.

A micotoxina desoxinivalenol é uma das mais importantes dentre os tricotecenos. Também conhecida como vomitoxina, quando ingeridas por animais em altas quantidades, causa náuseas, vômitos e diarreia. Por conta disso, rações contaminadas por DON são frequentemente recusadas por animais. A toxicidade de

tricotecenos em seres humanos está relacionada à inibição da síntese de proteínas (BENNET; KLICH, 2003).

Alborch *et al.* (2012) estudaram a microbiota e co-ocorrência de aflatoxinas, citrinina, ocratoxina A e zearalenona em 30 amostras de milho de pipoca adquiridas na Espanha para consumo humano. As amostras de grãos de pipoca as espécies mais frequentes foram *Aspergillus* spp., Mucorales, *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp. Aflatoxinas foram detectadas em 2 amostras de grão de pipoca, enquanto a ocratoxina A foi detectada em 10 amostras de pipoca. A co-ocorrência de aflatoxinas e ocratoxina não foi evidenciada nas amostras de milho de pipoca.

4.4 *Aspergillus*

O principal grupo de micotoxinas produzidas por *Aspergillus* spp. é conhecida como aflatoxinas e seus tipos são diferenciados com base na fluorescência sob luz ultravioleta, que pode ser azul ou verde. Por esse motivo elas recebem nomes como B1 e B2 (blue) referente a cor azul ou G1 e G2 (green) referente a cor verde. Estes são os principais tipos de aflatoxinas e são produzidas principalmente pelas espécies *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. bombycis*, *A. pseudotamarii* e *A. ochraceoroseus*. *Aspergillus flavus*, que é a espécie mais encontrada no milho, produz as aflatoxinas B1 e B2 (PRESTES *et al.*, 2019).

Aspergillus é o fungo mais disseminado, sendo frequentemente encontrado em diversos ambientes. O fungo pode formar um grande número de unidades resistentes a condições ambientais inapropriadas, dessa forma pode crescer em amplas faixas de condições de umidade e calor (ELTARIKI *et al.*, 2018).

Bennet e Klich (2003) afirmaram que a primeira vez que a palavra micotoxina foi utilizada, foi em 1962, após um episódio na Inglaterra, onde milhares de perus jovens morreram após a ingestão de ração à base de amendoim proveniente do Brasil e da África. Foi confirmado que a fatalidade ocorreu devido a um metabólito secundário de *A. flavus*, com isto foram iniciados os estudos sobre o assunto. Mais tarde, outros surtos também ocorreram: em 1974, no nordeste da Índia, houve um surto de aflatoxina B1, relacionado a ingestão de milho contaminado. Aproximadamente 400 pessoas adoeceram e cerca de 100 faleceram. Em 1982, no

Quênia, houve outro episódio semelhante, porém menor, foram cerca de 20 pessoas contaminadas e 12 falecimentos (BENNETT; KLICH, 2003).

No organismo, as aflatoxinas são metabolizadas por enzimas hepáticas, produzindo epóxidos reativos, capazes de formarem ligações covalentes com a guanina. Essa interação é capaz de afetar a síntese proteica da célula, e também ocasionar danos macromoleculares, incluindo a produção de uma mutação no gene característico supressor de tumor. Por esse motivo a aflatoxina B1 é classificada como um cancerígeno do Grupo 1 pela IARC (International Agency for Research on Cancer) em português, Agência Nacional de Pesquisa em Câncer (RUFATTO, 2014).

Além de ser considerada carcinógeno humano, as aflatoxinas também são relacionadas com doenças como necrose hepática, anorexia, apatia, mutagenicidade, teratogenicidade, cirrose hepática e imunodepressão (BENNETT; KLICH, 2003).

4.5 Legislação para Micotoxinas

A toxicidade das micotoxinas nos alimentos tem um grande efeito no comércio internacional, causando enormes perdas para os países exportadores, incluindo o Brasil. Diante disso, vários países estabeleceram legislações com o objetivo de proteger os consumidores contra a contaminação e nocividade pela ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas, com base em regulações governamentais e dessa forma evitar consequências adversas para a saúde humana e animal (PRESTES *et al.*, 2019).

Entretanto, nem todos os países adotam essas normas, que geralmente atuam apenas em alimentos que são processados industrialmente e destinados à exportação, mas não a aqueles processados localmente. E ainda são desconhecidos valores máximos de tolerância para muitas micotoxinas, apenas as mais perigosas e as mais estudadas, entram na legislação. Segundo a Food and Agricultural Organization (FAO), um total de 77 países estabeleceram normas e regulamentações sobre micotoxinas em alimentos e rações para o controle nos níveis desses compostos (PRESTES *et al.*, 2019).

Quando se trata de estabelecer limites seguros para a saúde humana, o assunto é complicado, já que vários fatores devem ser considerados para fixar um número seguro. Para estabelecer limites que apoiem a aplicação das regulamentações em micotoxinas, é preciso melhorar continuamente as metodologias analíticas que analisem tais compostos (SHEPHARD, 2016).

Dentre outros fatores, deve-se levar em conta os fatores científicos de risco, disponibilidade dos dados toxicológicos, consumo de alimentos, além de fatores econômicos, esses números também devem ser revisados continuamente por agências reguladoras governamentais em todo o mundo, tornando-se mais restritos quando necessário e dessa forma reduzir o risco que representam pela exposição (PRESTES *et al.*, 2021).

Para exportação do milho, os produtores além seguir as regulamentações dos países de origem, devem acompanhar as legislações dos países de seus clientes, como da Legislação Europeia e dos Estados Unidos. Os níveis de micotoxinas no milho são de importância não só para os produtores de milho, mas também para as indústrias que o utilizam como matéria prima e para os produtores agropecuários, já que isto influenciará na qualidade e nos níveis de toxinas também do produto final produzidos por eles, a saber, ração de animais.

Em fevereiro de 2011 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) definiu limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos através da Resolução N° 7, com uma medida de aplicação imediata. Nesta mesma Resolução foi proposto dois anexos em forma de cronograma de implementação de novos limites no ano de 2012, 2014 e 2016 (BRASIL, 2011). Em fevereiro de 2017, entrou em vigor uma nova Resolução, N°138, também com aplicação imediata, atualizando e incrementando alguns valores. Nesta Resolução também há um anexo com cronograma para 2019 (BRASIL, 2017). Na Tabela 2 estão apresentados os limites máximos tolerados de micotoxinas em milho e derivados, determinados pelas Resoluções acima.

Tabela 2 - Limites máximos tolerados de micotoxinas para milho e seus produtos.

Micotoxinas	Alimentos	LMT (µg/kg)	Ano de aplicação
Aflatoxina M1	Milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moido), farinhas ou sêmolos de milho	20	2011
Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	Milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moido), farinhas ou sêmolos de milho	20	2011
Desoxinivalenol (DON)	Milho de pipoca	2000	2011
Fumonisinias (B1 + B2)	Alimentos à base de milho para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	200	2011
Fumonisinias (B1 + B2)	Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha 2500	2500	2012
	Amido de milho e outros produtos à base de milho	2000	2012
Zearalenona	Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos e subprodutos à base de milho	300	2012
Desoxinivalenol (DON)	Trigo e milho em grãos para posterior processamento	3000	2014
	Milho em grão para posterior processamento	5000	2014
Fumonisinias (B1 + B2)	Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha	1500	2016
	Amido de milho e outros produtos à base de milho	1000	2016
	Milho em grão e trigo para posterior processamento	400	2014
Zearalenona	Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos e subprodutos à base de milho	200	2016
Desoxinivalenol (DON)	Trigo e milho em grãos para posterior processamento	3000	2017
	Milho em grão para posterior processamento	5000	2017
Fumonisinias (B1 + B2)	Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha	1500	2017
	Amido de milho e outros produtos a base de milho	100	2017
Zearalenona	Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos e subprodutos à base de milho	150	2017

Fonte: Prestes *et al.* (2021).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Amostras de Milho de Canjica e Pipoca

Foram adquiridos pacotes de 500g de milho para pipoca e canjica (munguzá) em mercados e supermercados do Recife - PE. Em seguida, as amostras foram analisadas no laboratório de Microbiologia e Imunologia do Centro Acadêmico de Vitória para identificação das amostras de acordo com o tipo e marca comercial do milho. Diferentes amostras de milho foram analisadas, a saber: semente de milho de canjica a granel, semente de milho de canjica embalada industrialmente, grão de milho de pipoca industrial de diferentes marcas em embalagens de 500g.

5.2 Processamento das Amostras de Milho

As amostras de milho de canjica e pipoca passaram pela desinfestação da superfície do grão com solução de hipoclorito de sódio a 0,4% durante um minuto. As sementes desinfestadas foram lavadas com água destilada estéril e em seguida, secadas em papel de filtro estéril. (CHRISTENSEN; MERONUCK, 1986)

5.3 Determinação da taxa de contaminação de Milho de canjica e pipoca por Fungos Totais e Aflatoxigênicos

Todas as amostras de milho foram semeadas pelo método de plaqueamento direto de grãos em meio de cultura para análise de fungos em grãos seguindo o método descrito em Christensen e Meronuck (1986). Foram distribuídos 10 grãos em 5 repetições em placas de Petri, totalizando 50 grãos para cada amostra, tanto no meio de cultura DG-18 (Dicloran Glicerol agar) para determinação da taxa média de contaminação por fungos totais quanto no meio de cultura AFPA (*Aspergillus Flavus Parasiticus Agar*) para determinação da taxa média de contaminação por fungos aflatoxigênicos. Após a distribuição das amostras de milho, as placas foram incubadas a temperatura ambiente e avaliadas por 5 dias (tempo padrão) e no máximo 7 dias para as placas que não apresentaram contaminação aos 5 dias.

5.4 Identificação e Preservação dos Principais Gêneros de Fungos contaminantes das amostras de milho

Após o plaqueamento e incubação das amostras, os fungos que cresceram nas amostras foram isolados, identificados os gêneros por morfologia convencional através de microscopia ótica das estruturas de reprodução de cada fungo e posteriormente os fungos foram preservados em água destilada estéril pelo método de Castellani, 1939.

6 RESULTADOS

Ao final dos experimentos foram analisadas 16 amostras de milho de 11 marcas diferentes, sendo elas, 7 amostras para canjica, onde duas foram de milho de canjica branco e uma de milho de canjica a granel e 9 amostras para milho de pipoca

Todas as amostras de milho de pipoca (100%) apresentaram alguma taxa de contaminação por fungos filamentosos, sendo as mais contaminadas as amostras PI6 e PI8 (ambas com as mesmas taxas médias de contaminação, a saber, 66%) e a amostra PI7 foi a menos contaminada por fungos (taxa média de contaminação 18%) (Tabela 3).

Apenas 1 amostra de milho de canjica (CA7) não apresentou contaminação por fungos em ambos os meios, DG-18 e AFPA. E dentre as seis amostras de milho de canjica contaminadas, a amostra CA5 foi a mais contaminada por fungos (84%) (Tabela 3).

Nenhuma amostra de milho de pipoca apresentou contaminação por fungos leveduriformes. E apenas 1 amostra de milho de canjica (CA3) apresentou contaminação por esse tipo de fungo (Figura 1 A).

Tabela 3 - Taxa média de germinação, contaminação por fungos totais (meio DG-18), e aflatoxigênicos (meio AFPA) em amostras de milho de pipoca e canjica comercializadas em Recife, Pernambuco.

Amostras	Tipo de Amostra	Taxa média de Germinação**	Taxa média de Contaminação por fungos Totais (Meio de cultura DG-18)
*C +	Controle positivo (milho de pipoca contaminado)	96%	74%
CA1	Milho de Canjica a Granel	NA	2%
CA2	Milho de Canjica amarelo marca 1	NA	32%
CA3	Milho de Canjica amarelo marca 2	NA	6%
CA4	Milho de Canjica amarelo marca 3	NA	2%
CA5	Milho de Canjica amarelo marca 4	NA	84%
CA6	Milho de Canjica branco marca 5	NA	8%
CA7	Milho de Canjica branco marca 6	NA	0
PI 1	Milho de Pipoca marca 6	60%	38%
PI 2	Milho de Pipoca marca 7	82%	54%
PI 3	Milho de Pipoca marca 8	90%	28%
PI 4	Milho de Pipoca marca 1	90%	46%
PI 5	Milho de Pipoca marca 2	88%	54%
PI 6	Milho de Pipoca marca 9	92%	66%
PI 7	Milho de Pipoca marca 3	80%	18%
PI 8	Milho de Pipoca marca 10	96%	66%
PI 9	Milho de Pipoca marca 11	90%	22%

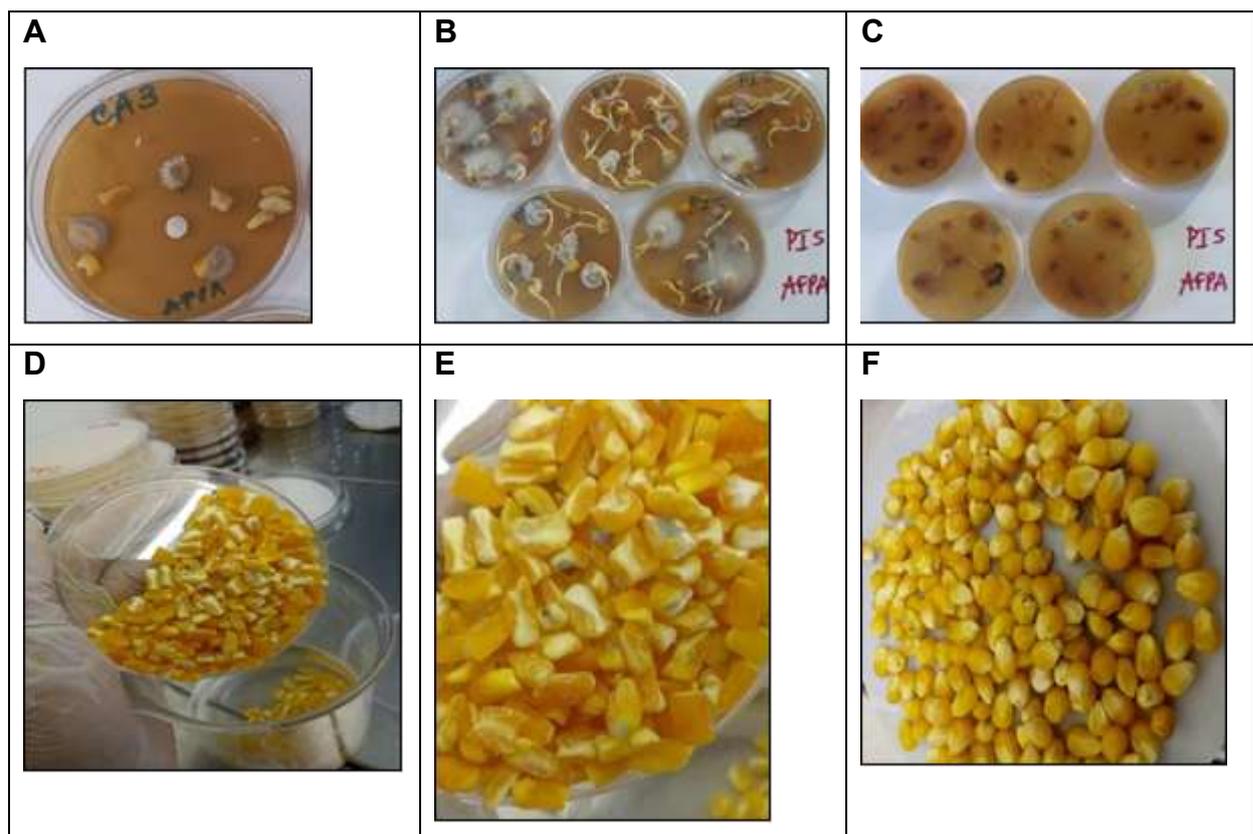
Fonte: A autora (2022).

Legenda: NA – não se aplica. *C+ Amostra controle de milho reconhecidamente contaminado por fungos. ** Todas as amostras de milho de pipoca germinaram no meio de cultura AFPA.

Todas as amostras de milho de pipoca germinaram no meio de cultura AFPA e nenhuma germinou no meio DG-18 após 7 dias de incubação. Não houve nenhuma amostra de milho de pipoca ou milho de canjica contaminado com fungo produtor de aflatoxina, uma vez que no meio AFPA nenhum dos fungos contaminantes do milho apresentou o reverso da colônia laranja, sinal típico da presença de aflatoxina produzida e difundida pelo meio de cultura (Figura 1 B e C).

Em uma amostra de milho de canjica (CA 1) e uma amostra de milho de pipoca (PI6) observou-se possível contaminação por fungos antes mesmo do processamento da amostra, alguns deles foram plaqueados (desinfestação da superfície com solução de hipoclorito de sódio a 0,4%) (Figura 1 D, E e F).

Figura 1 – Amostras Contaminadas



Legenda: A. Placa de cultura evidenciando as colônias de leveduras contaminantes da amostra de milho de canjica (CA3). B. Frente da placa de cultura da amostra de milho de pipoca contaminada por fungos não aflatoxigênicos. C – Reverso da placa de cultura evidenciando ausência da coloração laranja. D, E, F – possível contaminação por fungos antes do processamento da amostra.

Fonte: A autora (2022).

Conforme esperado a amostra controle positivo do experimento foi a que apresentou maior taxa média de contaminação por fungos, a saber, 74% e alta taxa de germinação dos grãos no meio de cultura AFPA (Tabela 3).

Em relação aos principais gêneros de fungos presentes nas amostras de milho de canjica e pipoca analisadas, observou-se que os fungos *Fusarium* sp estava presente contaminando todas (100%) as amostras de milho de pipoca e 57,1% das amostras de milho de canjica (Tabela 4) (Figura 2 A e 2B).

O fungo Ascomiceto do gênero *Eurotium* sp (Tabela 4) foi o segundo mais freqüente nas amostras contaminadas de milho de canjica e pipoca, com taxa média de contaminação de, 28,6% e 66,6%, respectivamente (Tabela 4). A Figura 2 evidencia a colônia de *Eutorium* sp (E) e o ascocarpo do tipo cleistotécio, típico desse gênero (Figura 2 F).

Um resultado interessante é que em apenas 1 amostra de milho de pipoca (PI5) apareceu fungo do gênero *Aspergillus* Seção Flavi (reconhecidamente produtor de aflatoxina), porém apenas no meio de cultura DG-18, mas não apareceu nenhuma contaminação em grãos dessa amostra no meio de cultura AFPA.

Tabela 4 - Frequência da ocorrência dos principais gêneros de fungos contaminantes das amostras de milho de canjica (CA) e pipoca (PI) analisadas.

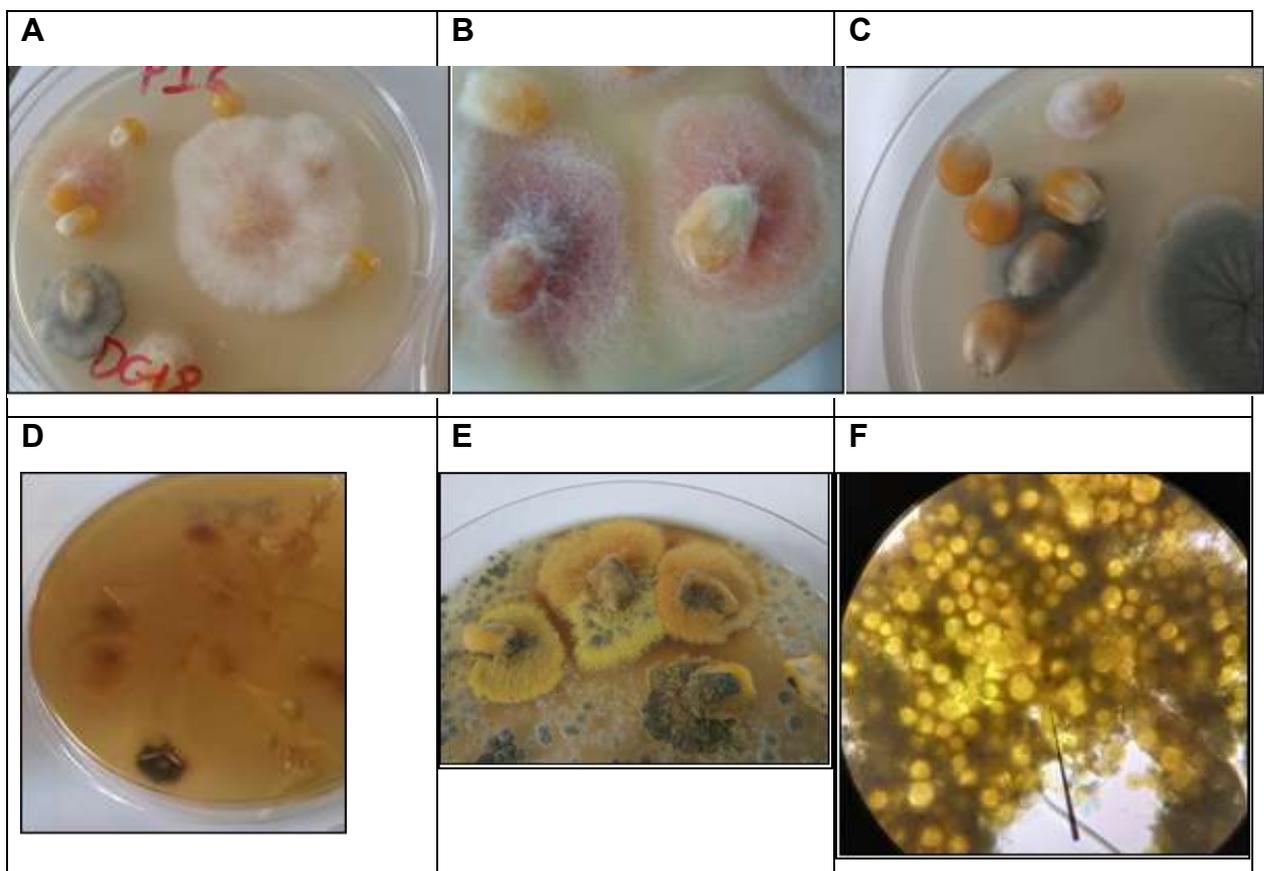
Gêneros Fúngicos	Amostras de Milho	Frequência de ocorrência
<i>Fusarium</i> sp.	CA1, CA3, CA 4 e CA5	57,1%
	PI – Todas amostras	100%
<i>Eurotium</i> sp	CA2, CA5	28,6%
	PI3,PI4, PI5,PI6,PI8,PI9	66,6%
<i>Alternaria</i> sp.	Nenhuma amostra CA	0
	PI5, PI7 e PI8	33,3
<i>Penicillium</i> sp	CA4 e CA6	28,6%
	PI1	11,1%
<i>Aspergillus</i> Seção Flavi	Nenhuma amostra CA	
	PI5	11,1%

Fonte: A autora (2022).

Os gêneros *Penicillium* sp e *Alternaria* sp foram os que apresentaram menor frequência de ocorrência contaminando as amostras de milho de canjica e pipoca (Tabela 4).

Nas amostras de milho de canjica o houve dois gênero que não estiveram presentes em relação aos gêneros contaminantes de milho de pipoca foram eles, o *Alternaria* sp.(figura 2 A e 2D), apresentando 33,3% de contaminação (Tabela 4) e o *Aspergillus* Seção Flavi apresntando 11,1%.

Figura 2 - Imagens dos principais gêneros de fungos contaminantes de milho



Legenda: Observa-se as colônias típicas dos gêneros *Alternaria* sp (micélio escuro) e *Fusarium* sp (micélio cor de rosa – A e B). C. Micélio de *Penicillium* sp. D. Reverso da colônia de *Alternaria* sp. Mostrando a cor escura (fungo demáceo). E Colônias típicas de *Eurotium* sp. F Cleistotécios de *Eurotium* sp.(seta da figura) observados a microscopia ótica (objetiva de 10x).

Fonte: A autora (2022).

7 DISCUSSÃO

Tournas e Niasi (2018) estudaram 85 amostras de cereais, principalmente milho e trigo. Os autores encontraram mais de 90% das amostras de milho contaminadas com fungos, sendo o milho de pipoca o que apresentou mais quantidade de ufc/grama de amostra, sendo coerente com nossos resultados, pois o milho de pipoca estava mais contaminado que o milho de canjica. Além disso, esses autores ainda observaram prevalência de *Fusarium* sp (74%), em relação a *Penicillium* (44%) e *Aspergillus* sp (21%), corroborando com os resultados do presente trabalho no qual *Fusarium* esteve presente numa frequência de 100% das amostras.

Conforme observado na Tabela 4, a taxa de contaminação por fungos do gênero *Fusarium* foi de 100% para o milho de pipoca. Andrade *et al.* (2020) estudaram a presença da micotoxina fumonisina em 317 amostras de tipos diferentes de produtos de milho e relataram que as amostras de milho de pipoca foram as que apresentaram mais alta concentração de fumonisina (197,2 ug/kg) que o milho de canjica (49,7ug/kg). Apesar dos autores não terem feito o isolamento do fungo *Fusarium* (produtor de fumonisina) nas amostras analisadas, ainda sim esse fato permite inferir que os resultados do presente trabalho sobre taxa de contaminação em 100% das amostras de milho pipoca com *Fusarium* pode representar possível risco para a saúde humana.

Ribeiro *et al.* (2003) analisaram nove amostras de xerém, fubá e farinha de milho pré-cozida adquiridas em supermercados do Recife – PE. Os autores identificaram 23 espécies de fungos filamentosos distribuídos em oito gêneros: *Absidia*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Emericella*, *Fusarium*, *Monascus*, *Penicillium* e *Rhizopus*. Os maiores números de espécies ocorrem no fubá (47%), seguido do xerém (29,5%) e farinha de milho (23,5%). *Fusarium moniliforme* Sheldon, *Aspergillus flavus* Link, *Penicillium funiculosum* Thom e *P. duclauxii* Delacroix estiveram presentes nos três substratos.

Tournas e Niasi (2017) estudaram 85 amostras de cereais, principalmente milho e trigo. Os autores encontraram mais de 90% das amostras de milho contaminadas com fungos, sendo o milho de pipoca o que apresentou mais quantidade de ufc/grama de amostra. Além disso, esses autores ainda observaram

prevalência de *Fusarium* sp (74%), em relação a *Penicillium* (44%) e *Aspergillus* sp (21%), corroborando com os resultados do nosso trabalho no qual *Fusarium* esteve presente numa frequência de 100% das amostras.

Gabriel *et al.* (2018) analisaram 22 genótipos de milho de pipoca quanto à resistência de acúmulo de fumonisinas produzidas por *Fusarium verticillioides*, principal contaminante deste tipo de milho. Os autores observaram que a quantidade de fumonisinas acumulada nos grãos dos genótipos estudados variou de 8,2 a 234,8 ppm, o que é considerada elevada e, portanto, há risco para saúde humana. Apesar do nosso trabalho não ter determinado a concentração de fumonisinas nas amostras de milho de pipoca estudadas, o fato de 100% das nossas amostras estarem contaminadas com *Fusarium* acenda o alerta da possibilidade de risco para saúde humana a partir da presença de fumonisinas nessas amostras.

Shinohara *et al.* (2021) estudaram 31 amostras de marcas comerciais de farinha de milho (fubá) e encontraram bolores e leveduras, que geralmente não deveria estar presentes uma vez que apresentam baixa resistência ao calor, sendo facilmente destruídos frente aos tratamentos térmicos empregados na indústria de alimentos (SHINOHARA *et al.*, 2017). Entretanto, há certos fungos que produzem ascósporos, estrutura de resistência capaz de sobreviver a tratamentos térmicos, congelamento convencionais e pressão osmótica, por exemplo *Eurotium* sp., gênero de Ascomiceto comum em alimentos e que foi encontrado nas amostras de milho de pipoca analisadas nesse trabalho.

O fato das amostras de milho de pipoca germinarem apenas no meio de cultura AFPA e não no meio DG-18, indica que o primeiro meio apresenta alguma substância indutora de germinação, talvez os micronutrientes presentes nesse meio que não aparecem no DG-18, a saber: sulfato ferroso, sulfato de zinco.

Cirio e Lima (2003) estudaram frequência do gênero *Aspergillus* e taxa de germinação das sementes de milho armazenadas até 270 dias no meio de cultura BDA (batata dextrose Agar). E observaram que no dia zero, houve ausência de *Aspergillus* nos grãos e a taxa de germinação foi 98%. Porém, aos 270 dias de armazenamento dos grãos de milho, a taxa de contaminação por *Aspergillus* foi 79,7% e a taxa de germinação 36%. Esses resultados corroboram com os observados no presente trabalho, mesmo sendo meios de cultura diferentes.

Khodaei *et al.* (2021) fizeram revisão de literatura de 3 anos (2018 a 2020) no tema micotoxinas em grãos e observaram que a maior parte dos estudos é sobre milho, depois trigo e arroz. Os autores concluíram que segundo os estudos que avaliaram risco de contaminação de grãos com a micotoxina aflatoxina B1, o milho apresentou as mais altas taxas de contaminação, acima do limite máximo permitido pela Comissão Europeia (CE). Entretanto nas nossas amostras nenhuma apresentou contaminação por aflatoxina, pois todas as amostras de milho pipoca e canjica não evidenciaram produção de aflatoxina no meio AFPA.

8 CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados, ficou evidente a presença de contaminação por fungos em milho de canjica e milho de pipoca comercializados no Recife, especialmente do gênero *Fusarium*, o mais frequente nas amostras analisadas. Bem como, conclui-se diante da contaminação por *Fusarium* em 100% das amostras de grãos de milho de pipoca, a possibilidade de contaminação com a micotoxina fumonisina nessas mesmas amostras, tornando-as possível risco para a saúde humana. Diante do exposto, fazem-se necessários mais estudos com amostras de produtos milho destinadas ao consumo humano comercializadas em Recife, Pernambuco.

REFERÊNCIAS

ALBORCH, L. *et al.* Mycobiota and mycotoxin contamination of maize flours and popcorn kernels for human consumption commercialized in Spain. **Food Microbiology**, Barcelona, v. 32, n. 2012, p. 97-103, abr. 2012. Disponível em: Acesso em: 28 maio 2022.

ANDRADE, P. D. *et al.* Mycotoxins in cereals and cereal-based products: Incidence and probabilistic dietary risk assessment for the Brazilian population. **Food And Chemical Toxicology**, Brasília, v. 143, n. 1, p. 111572-111583, set. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111572>. Acesso em: 28 maio 2022.

BENNETT, J.W.; Klich, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, Luisiana v. 16, p. 497–516, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 7, de 24 de fevereiro de 2010.** Dispõe sobre os requisitos mínimos para funcionamento de Unidades de Terapia Intensiva e dá outras providências. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 138, de 29 de maio de 2003.** Dispõe sobre o enquadramento na categoria de venda de medicamentos. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2017.

CHRISTENSEN, C. M.; MERONUCK, R. A. **Quality maintenance in stored grains and seeds.** Minnessota: University of MN Press, 1986. 150 p.

CIRIO, G. M.; LIMA, M. L. R. Z. C. Métodos de detecção do gênero *aspergillus* em sementes de milho (*Zea mays L.*) em 270 dias de armazenamento. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 19-23, jan./jun. 2003. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/518>. Acesso em: 28 maio 2022.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safra - Série Histórica dos Grãos (2016/2017). In: COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Portal de Informações Agropecuárias.** Brasília: CONAB, 2018. Disponível em: <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/safra-serie-historica-graos.html>. Acesso em: 20 maio 2022.

CORREA, A. A. S. *et al.* A tradição do milho: o ingrediente base da cozinha caipira e das festas juninas. **Ágora**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 99-107, 14 out. 2016.

CORTE REAL, G.S.C.P. *et al.* Valores nutricionais do milho de diferentes qualidades para frangas de reposição na fase de recria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 66, n. 2, p. 546-554, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-41625929>. Acesso em: 21 maio 2022.

GABRIEL, L. C. *et al.* Avaliação da resistência de genótipos de milho pipoca ao acúmulo de fumonisinas e à podridão de fusarium da espiga. **Summa**

Phytopathologica, Maringá, v. 44, n. 3, p. 286-288, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/179360>. Acesso em: 21 maio 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 28 maio 2022.

KHODAEI, D. *et al.* The global overview of the occurrence of mycotoxins in cereals: a three-year survey. **Food Science**, Amsterdã, v. 39, n. 39, p. 36-42, jun. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214799320301648?via%3Dihub>. Acesso em: 28 maio 2022.

MARCONDES, M. M. **Incidência de podridão de colmo e grão ardidos em híbridos de milho sob diferentes densidades de plantas e épocas de colheita**. 2012. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava-PR, 2012.

MITCHELL, N.J. *et al.* Potential economic losses to the US corn industry from aflatoxin contamination. **Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess**, Michigan, v. 33, n. 3, p. 540-550, 2016.

MORALES-MOO, T. *et al.* Human Health Risk Associated with the Consumption of Aflatoxins in Popcorn. **Risk management and healthcare policy**, \texas, v. 13, p. 2583-2591, 2020.

PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. **Circular Técnica (Embrapa)**, Sete Lagoas-MG, n. 75, p. 1-6, dez. 2006.

PRESTES, I. D. *et al.* Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências. **Scientia Agropecuária Review**, Campinas, v. 10, n. 4, p. 559-570 2019.

RIBEIRO, S. A. L. *et al.* Fungos filamentosos isolados de produtos derivados do milho comercializados em Recife, Pernambuco. **Brazilian Journal of Botany**, Recife v. 26, n. 2, p. 223-229, 2003.

RUFATTO, M. Micotoxinas e acometimentos à saúde humana - ênfase no potencial carcinogênico. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica Funcional**, Campo Grande, ano 14, n. 60, p. 147-165 2014.

SHEPHARD, G. S. Current status of mycotoxin analysis: A critical review. **Journal of AOAC International**, Oxford, v. 99, p. 842-848, 2016.

SHINOHARA, N. K. S. *et al.* Microbiological profile in flaked corn flour. **Research, Society and Development**, Recife, v. 10, n. 2, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/12585>. Acesso em: 28 maio 2022.

THOMPSON, M. E. H.; RAIZADA, M. N. Fungal pathogens of maize gaining free passage along the silk road. **Pathogens**, Canadá, v. 7, n. 81, p. 81, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens7040081>. Acesso em: 28 maio 2022.

VASILIKI, H. T.; NICHOLAS, S. N. Potentially toxigenic fungi from selected grains and grain products. **Journal of Food Safety, Washington**, v. 38, n. 1, p. 156, 2017.