

Incidência de Aflatoxinas, Desoxinivalenol e Zearalenona em produtos comercializados em cidades do estado de Minas Gerais no período de 1998 - 2000

Incidence of Aflatoxins, Deoxynivalenol and Zearalenone in products commercialized in the cities of Minas Gerais state in 1998 - 2000

Marize Silva de OLIVEIRA¹
Guilherme PRADO
Fabiana Moreira ABRANTES
Luciana Gonçalves dos SANTOS
Thaís VELOSO

RIALA6/910

Oliveira, Marize S. de et al Incidência de Aflatoxinas, Desoxinivalenol e Zearalenona em produtos comercializados em cidades do estado de Minas Gerais no período de 1998 - 2000. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):1-6, 2002.

RESUMO. A incidência de micotoxinas foi verificada em amostras de amendoim e produtos derivados de amendoim (aflatoxinas), fubá, cereais em flocos e aveia em flocos (zearalenona), farinha de trigo, farelo de trigo e produtos de panificação (desoxinivalenol). As amostras foram coletadas em supermercados de cidades de Minas Gerais, Brasil. O método de cromatografia em camada delgada foi utilizado para quantificar as aflatoxinas e desoxinivalenol e a cromatografia líquida de alta eficiência para zearalenona. As aflatoxinas foram detectadas em 66 das 120 amostras analisadas. Do total de amostras analisadas, 56 apresentaram níveis de aflatoxina total ($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) acima do limite estabelecido pela Legislação do Ministério da Agricultura e 54 amostras apresentaram níveis de aflatoxina $B_1 + G_1$ acima do limite estabelecido pela Legislação do Ministério da Saúde. A faixa de contaminação para aflatoxina total encontrada foi de 3 a 2714 $\mu\text{g/Kg}$, com uma contaminação média de 960 $\mu\text{g/Kg}$. Desoxinivalenol (DON) foi detectado em 32 das 47 amostras analisadas, em uma faixa de concentração de 40 a 1205 $\mu\text{g/Kg}$. Somente uma amostra de aveia em flocos estava contaminada com zearalenona (8,5 $\mu\text{g/Kg}$), dentre as 34 amostras de produtos de cereais analisadas.

PALAVRAS-CHAVE. Aflatoxinas; Desoxinivalenol; Zearalenona; Ocorrência, Cereais.

¹ Fundação Ezequiel Dias – Instituto Octávio Magalhães – Núcleo de Micologia e Micotoxinas. Rua Conde Pereira Carneiro, 80. Gameleira, Belo Horizonte - Minas Gerais, CEP 30510-010.Tel. (31) 3371 9462.
e-mail:mar@funed.mg.gov.br.

INTRODUÇÃO

As micotoxinas, como as aflatoxinas, zearalenona e desoxinivalenol, são compostos tóxicos produzidos por fungos, que podem causar danos à saúde de homens e animais²², bem como, ocasionar grandes perdas econômicas²⁰.

As aflatoxinas são produtos do metabolismo secundário de fungos, predominantemente de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius*. Quimicamente são derivados do bisfuranoisocumarina, sendo que as aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ são as mais conhecidas⁶. As aflatoxinas têm sido letais para animais, bem como para cultura de células animais quando administradas a curto prazo, sendo que exposições por um longo período induzem tumores em diversos seres vivos²⁵. Existem relatos de que a aflatoxina B₁ pode causar danos significativos no fígado de primatas⁵.

Zearalenona é produzida por várias espécies de *Fusarium*, com ocorrência em milho, cevada, trigo e aveia. Esta micotoxina tem demonstrado atividade anabólica e estrogênica em várias espécies animais, como hiperestrogenismo em suínos. Existem também registros de puberdade precoce em crianças¹².

Desoxinivalenol (DON) é um tricoteceno produzido por fungos do gênero *Fusarium* podendo causar recusa alimentar, redução do ganho de peso, e alteração da função imunológica de alguns animais^{14,23}.

Visto que a contaminação dos alimentos com fungos toxigênicos e produção de micotoxinas, geralmente está relacionada com condições ambientais de cultivo e armazenamento⁶, investigações contínuas de sua ocorrência tornam-se necessárias.

Os trabalhos de ocorrência de micotoxinas em alimentos consumidos no Brasil, têm contribuído para avaliação e estudos de medidas a serem tomadas para a prevenção de contaminação. Incidência de aflatoxinas em amendoim e derivados de milho, zearalenona em milho, bem como, aflatoxinas, ocratoxina e zearalenona em produtos de arroz, milho e trigo, desoxinivalenol e toxina T-2 em milho e tricotecenos em farinhas têm sido relatadas^{4, 8, 9, 13, 15, 16, 17}.

O objetivo deste estudo foi verificar a incidência de aflatoxinas em amendoim e derivados, zearalenona em arroz, aveia, milho e derivados, e desoxinivalenol em farinhas de trigo e produtos de panificação que foram comercializados em algumas cidades do Estado de Minas Gerais no período de 1998 a 2000.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Material

Um total de 120 amostras de amendoim e produtos derivados, foram coletadas pelos Serviços de Fiscalização das cidades de Belo Horizonte, Contagem, Nova Lima, Sete Lagoas, Patrocínio, João Monlevade, Santa Luzia, Divinópolis, Pedro Leopoldo, Patos de Minas, Betim, Viçosa e Nova Serrana e analisadas para verificar a ocorrência de aflatoxinas.

Em 24 amostras de produtos derivados de milho e 10 de arroz em grão tipo I, de diferentes marcas, foi verificada a ocorrência de zearalenona, enquanto em 47 amostras de produtos de panificação, farinha e farelo de trigo, verificou-se a presença de desoxinivalenol. As amostras foram coletadas pela Vigilância Sanitária de Belo Horizonte e Contagem.

As amostras em grão foram previamente moídas, homogeneizadas e passadas em tamiz 20 mesh (0,84 mm). Após quarteamento foram acondicionadas em frascos plásticos e guardadas sob refrigeração (+4°C) até o momento da análise.

2. Métodos

2.1. Extração e quantificação de aflatoxinas

A extração e purificação das aflatoxinas foi feita segundo o método descrito por Soares e Rodriguez Amaya¹⁹. As aflatoxinas foram identificadas e quantificadas por cromatografia em camada delgada, em placas prontas de silicagel 60 G Merck, utilizando-se como fase móvel tolueno: acetato de etila: clorofórmio: ácido fórmico, (70:50:50:20 v/v/v/v), descrita por Gimeno¹⁰. As leituras das fluorescências de amostras e padrões foram feitas em densitômetro Shimadzu modelo CS9301PC, a 366 nm e o cálculo das concentrações foi obtido através das curvas de calibração.

A confirmação da identidade das aflatoxinas foi feita pelo método descrito por Przybylski¹⁸.

2.2. Extração e quantificação de zearalenona

A zearalenona foi extraída de 25 g das amostras moídas, com 125 mL de metanol - água (75:25, v/v) e agitação por 20 minutos em agitador mecânico¹. Após filtração à vácuo em papel de filtro Whatman GF/β de microfibras de 55 mm de diâmetro, o extrato foi diluído com água (5:25, v/v), sendo posteriormente transferido para coluna de imunoafinidade Zearalatest da Vicam (EUA). A coluna foi lavada com 10 mL de água e a zearalenona eluída com 4 mL de metanol. Este eluato foi recolhido em frasco âmbar e evaporado até secar sob corrente de nitrogênio. O resíduo foi ressuspenso em 1 mL de fase móvel água:metanol:acetonitrila (40:10:50 v/v/v)²⁴. A quantificação foi realizada em cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de fluorescência marca Shimadzu modelo LC 10AD (excitação λ = 276 nm e emissão λ = 460 nm), coluna C18 (5 μm, 250 x 4,6 mm), pré-coluna C18 (5 μm x 25 mm x 4,6 mm), com fluxo de 1 mL/minuto¹.

A zearalenona foi quantificada utilizando para o cálculo, uma curva de calibração analítica de 0,05, 0,025, 0,0125 e 0,00625 ng/μL.

A eficiência do método foi avaliada pelo estudo de recuperação feito em amostras de produtos derivados de milho em que zearalenona não foi detectada. As amostras em triplicata, foram contaminadas artificialmente pela adição de padrão, obtendo-se níveis de contaminação de 5, 10, 50, 100 e 200 μg/Kg. Também avaliou-se a recuperação em amostras de arroz, artificialmente contaminadas com níveis de 20 e 40 μg/Kg de zearalenona, em triplicata.

1.3. Extração e quantificação de desoxinivalenol

O método usado foi descrito por Trucksses *et al.*²¹, onde DON foi extraído com acetonitrila:água (84:16 v/v) e o extrato purificado em coluna cromatográfica empacotada com carvão ativado, celite e alumina. Para separação e quantificação foi utilizada cromatografia em camada delgada de alta eficiência, onde a placa foi previamente embebida em solução de cloreto de alumínio a 20 % e o desenvolvimento realizado em clorofórmio:acetona: isopropanol (8:1:1 v/v/v) em tanque não equilibrado. A placa foi aquecida por exatamente 7 minutos à 120°C e a fluorescência azul observada em luz ultra violeta a 366 nm por comparação com padrões. A recuperação foi avaliada em amostras de farinha de trigo artificialmente contaminada com 48,2 µg/Kg de DON.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A faixa e a média de contaminação, bem como a incidência de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados

de amendoim estão demonstrados na Tabela 1 e Figura 1. Do total de 120 amostras analisadas, 66 (55%) apresentaram resultados positivos. As médias de contaminação encontradas para aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ foram de 334, 82,

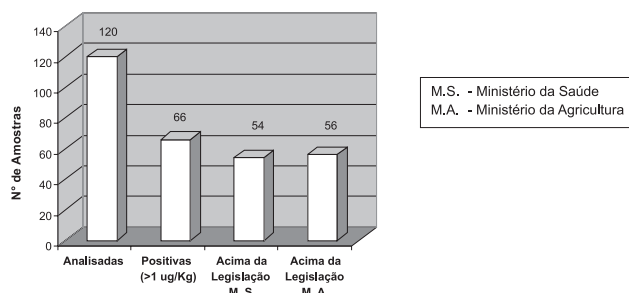


Figura 1. Incidência de aflatoxinas em amendoim e derivados comercializados em cidades do estado de Minas Gerais.

Tabela 1. Média e faixa de contaminação com aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ em 66 amostras positivas de amendoim em grão e produtos derivados de amendoim comercializados em cidades do estado de Minas Gerais.

AFLATOXINAS (µg/Kg)							
B ₁		B ₂		G ₁		G ₂	
Média	Faixa	Média	Faixa	Média	Faixa	Média	Faixa
334	3 - 2231	82	1 - 427	64	20 - 492	21	1 - 154

Tabela 2 . Valores de recuperação e coeficientes de variação para zearalenona adicionada em produtos derivados de milho, determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Nível de contaminação (µg/Kg)	Valores encontrados (µg/Kg)	Média (µg/Kg)	Recuperação (%)	Coefficiente de variação (%)
4,9	4,3	4,6	94,0	6,5
	4,9			
9,7	4,6	7,2	74,0	7,0
	7,7			
	7,2			
48,6	6,7	47,5	98,0	2,6
	48,5			
	46,1			
97,2	47,9	81,1	83,0	5,9
	79,4			
	77,4			
194,4	86,5	195,2	100,0	1,0
	197,2			
	193,9			
	194,4			

Tabela 3 . Valores de recuperação e coeficientes de variação para zearalenona adicionada em amostras de arroz determinados por CLAE.

Nível de contaminação ($\mu\text{g/Kg}$)	Valores encontrados ($\mu\text{g/Kg}$)	Média ($\mu\text{g/Kg}$)	Recuperação (%)	Coefficiente de variação (%)
20,0	18,5 24,0	21,2	106,0	18,3
40,0	41,2 38,7	39,9	100,0	4,4

Tabela 4 . Incidência de zearalenona em amostras de arroz e produtos derivados de milho comercializados em cidades de Minas Gerais determinados por CLAE.

Amostra	Número de amostras analisadas	Resultados ($\mu\text{g/Kg}$)
Flocos de cereais	1	<LQ ²
Aveia em flocos	2	ND ¹ - 8,5
Creme de milho	1	ND
Fubá	2	<LQ
Fubá	3	ND
Farinha de aveia	1	<LQ
Farinha láctea	1	<LQ
Farinha enriquecida	13	ND
Arroz	10	ND
Total	34	

1 Não detectado.

2 LQ- Limite de quantificação: 5,0 $\mu\text{g/Kg}$.

LD- Limite de detecção: 1,6 $\mu\text{g/Kg}$.

64 e 21 $\mu\text{g/Kg}$, respectivamente. A faixa de contaminação para aflatoxina total encontrada foi de 3 a 2714 $\mu\text{g/Kg}$ e a média foi de 960 $\mu\text{g/Kg}$. A aflatoxina B₁ além de apresentar maior toxicidade⁶, foi encontrada em todas amostras com resultados positivos e com níveis de contaminação acima dos encontrados para B₂, G₁ e G₂. Considerando-se as legislações brasileiras^{2,3}, 54 amostras apresentaram resultados acima de 30 $\mu\text{g/Kg}$ para somatória de B₁ e G₁ (Resolução n° 34/76 da CNNPA do Ministério da Saúde) e 56 amostras resultados acima de 20 $\mu\text{g/Kg}$ para somatória de B₁, B₂, G₁ e G₂ (Portaria n° 183 de 21/03/96 do Ministério da Agricultura). O limite de quantificação do método empregado para aflatoxinas foi de 1 $\mu\text{g/Kg}$.

Prado *et al.*¹⁷ analisaram 52 amostras de amendoim cru, comercializadas em 1997 e encontraram 44 amostras com resultados positivos para aflatoxina. As médias de contaminação foram de 434 $\mu\text{g/Kg}$ para B₁ e 154 $\mu\text{g/Kg}$ para G₁. Em um outro estudo em que foram analisadas amostras de amendoim, De-Oliveira *et al.*⁴ encontraram 34,6% de contaminação para a soma das aflatoxinas B₁ e G₁ (37,3 à 522,0

$\mu\text{g/Kg}$). Um total de 40 amostras de milho do ano agrícola de 1992/93 foram analisadas por Nicásio *et al.*¹³, e não foram encontradas aflatoxinas em nenhuma das amostras. Pich¹⁵ ao analisar 213 produtos derivados de milho comercializados, encontraram 37 (17,37%) amostras com resultados positivos (acima de 20 $\mu\text{g/Kg}$ de B₁ + B₂ + G₁ + G₂), com uma faixa de contaminação de 3,18 a 25,6 $\mu\text{g/Kg}$.

Comparando-se os resultados encontrados nesses estudos, verifica-se que os níveis de contaminação continuam elevados para aflatoxinas em amendoim.

Os resultados de avaliação da recuperação de zearalenona em produtos derivados de milho estão apresentados na Tabela 2. Para a faixa de contaminação empregada (4,9 – 194,4 $\mu\text{g/Kg}$), a recuperação entre 74,0 - 100,0% e o coeficiente de variação menor que 7,0 %, demonstraram a eficiência do método empregado. A Tabela 3 apresenta os resultados de recuperação das amostras de arroz artificialmente contaminadas com padrão. Foram encontrados valores para recuperação de 106,0 e 100,0% e coeficiente de variação de 18,3 e 4,4% para níveis de contaminação de 20,0 e

Tabela 5. Incidência de desoxinivalenol (DON) em farinhas e produtos de panificação comercializados em cidades de Minas Gerais.

Amostras	Número de amostras analisadas	Número de amostras positivas	Faixa de contaminação ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)
Farinha de trigo	14	8	40 – 1205
Farinha de trigo enriquecida	8	6	136 – 152
Farelo de trigo cru	2	2	125 – 610
Farelo de trigo torrado	1	1	542
Pão de sal	16	13	78 – 780
Panettone	3	0	ND
Pão de forma	3	2	113 - 289
Total	47	32	

Limite de quantificação : 40 $\mu\text{g}/\text{Kg}$

Limite de detecção : 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$

ND – Não detectado

40,0 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, respectivamente. Nas condições utilizadas para a cromatografia líquida, o tempo de retenção médio foi de 11,0 minutos. O limite de quantificação encontrado foi de 5,0 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ e o limite de detecção de 1,6 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, obtido pelo sinal do menor nível de fortificação que é 3 vezes o desvio padrão a 95% de confiança¹¹.

Das 34 amostras analisadas, apenas uma amostra de aveia em flocos apresentou-se contaminada com zearalenona (8,5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), como demonstrado na Tabela 4. O Brasil não tem legislação para zearalenona, entretanto, o valor encontrado pode ser considerado muito baixo, quando comparado com os limites permitidos pelas legislações de países como França (200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) e Rússia (1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$)⁷. Em uma amostra de flocos de cereais e uma de fubá, os níveis determinados estavam próximos ao limite de quantificação (5,0 $\mu\text{g}/\text{Kg}$). Três amostras apresentaram picos com área menor que o limite de quantificação. Furlong *et al.*⁹, ao analisarem produtos derivados de trigo e milho, encontraram contaminações de zearalenona bem mais elevadas, como 105 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ em amostra de farelo de trigo, 97 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ em farinha integral e 163 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ em milho para canjica.

A recuperação média obtida pela metodologia empregada na análise de desoxinivalenol em amostras de farinha de trigo artificialmente contaminadas com 48,2 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ foi de 109%.

Os resultados da incidência de contaminação por DON nas amostras analisadas estão apresentados na Tabela 5. Do total de 47 amostras analisadas, 32 (68%) apresentaram resultados positivos. A faixa de contaminação foi de 40 a 1205 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, o limite de quantificação de 40 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ e o limite de detecção de 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Furlong *et al.*⁸ analisaram 18 amostras de trigo, provenientes da colheita do Brasil, Argentina e Uruguai

no período de 1988 à 1990 que ficaram armazenadas. Somente uma amostra estava contaminada com DON (0,40 $\mu\text{g}/\text{g}$). Prado *et al.*⁶ encontraram DON (78 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) em 2 das 60 amostras de milho em grão analisadas. O Brasil não tem legislação específica para desoxinivalenol, entretanto, países como EUA e Rússia apresentam o limite máximo de tolerância de 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ e Canadá de 2000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Neste estudo, apesar de 68% das amostras terem apresentado contaminação com desoxinivalenol, apenas uma amostra apresentava valor acima de 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (1205 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), demonstrando um baixo nível de contaminação nas amostras analisadas.

CONCLUSÕES

Os resultados da incidência de aflatoxinas em amendoim e seus derivados demonstram que estes produtos apresentam alta porcentagem de amostras contaminadas (55%), sendo que os níveis encontrados estão acima dos permitidos pela legislação nacional, tanto do Ministério da Saúde quanto da Agricultura. Estes dados sugerem que os estudos e os procedimentos relativos a prevenção devem ser continuados. A contaminação encontrada de desoxinivalenol em 68% das amostras de farinhas e produtos de panificação analisadas estava na faixa de 40 a 1205 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Somente uma amostra apresentou resultado elevado (> 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), quando o valor encontrado é comparado com o permitido pela legislação de outros países. Somente uma amostra do total de 24 produtos analisados, estava contaminada com zearalenona (8,5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) em um nível bem abaixo do permitido pela legislação de outros países (200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$). Entretanto, mesmo não existindo nível máximo permitido pela legislação brasileira, outros levantamentos devem ser realizados.

Oliveira, Marize S. de et al Incidence of aflatoxins, deoxynivalenol and zearalenone in products commercialized in the cities of Minas Gerais state in 1998 - 2000. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(1):1-6,2002.

ABSTRACT. The presence of mycotoxins was verified in samples of peanut and peanut products (aflatoxins), corn meal, cereal flakes and oats flakes (zearalenone), wheat flour, bran and bakery products (deoxynivalenol). The samples were acquired in supermarkets, in the cities of state of Minas Gerais, Brazil. Thin layer chromatography methods were employed to quantify aflatoxins and deoxynivalenol, and a high performance liquid chromatography method was used for zearalenone. Aflatoxins were detected in 66 of the 120 samples tested. Fifty six samples had total aflatoxins levels ($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) above those established by Brazilian regulations (Ministry of Agriculture) and 54 samples showed aflatoxins levels ($B_1 + G_1$) above those established by Ministry of Health. The concentration of total aflatoxins ranged from 3 to 2714 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ and the mean concentration was 960 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Deoxynivalenol (DON) was detected in 32 out of 47 samples analysed. The concentration of DON ranged from 40 to 1205 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Only one sample of oat flakes was found to be contaminated with zearalenone (8.5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) out of 34 samples of cereal products examined.

KEYWORDS: Aflatoxin; Deoxynivalenol; Zearalenone; Occurrence; Cereals.

REFERÊNCIAS

1. AOAC- Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 16 ed. Arlington: AOAC, 1995. v. 2, p. 4-5. Revisão em março de 1998.
2. Brasil. Leis, decretos, etc. – Portaria nº 183 do Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Diário Oficial**, Brasília, 25 mar. 1996. Art. I Adotar Regulamento Técnico do MERCOSUL sobre Limites Máximos de Aflatoxinas Admissíveis no Leite, Amendoim e Milho, aprovado pela resolução nº 56/94 do Grupo Mercado Comum do Sul de 01 de janeiro de 1995.
3. Brasil. Leis, decretos, etc. - Resolução n. 34/76, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. **Diário Oficial**, Brasília, 19 jan., 1977. Seção I. pt. I. p.710. Fixa padrões de tolerância para as aflatoxinas em alimentos.
4. De-Oliveira, V. et al. Ocorrência de aflatoxina B_1 e G_1 em amendoim comercializado em Goiânia - Brasil. **Rev. Microbiol.**, 22 : 319-322, 1991.
5. Dvorackova, I. **Aflatoxins and human health**. Boca Raton: CRC Press, Mycotoxins and human diseases, p. 1-19, 1990. 151 p.
6. Ellis, W. O. et al. Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, 30 : 403-439, 1991.
7. Food and Agriculture Organization Of The United Nations. **FAO Worldwide regulations for mycotoxins**, 1995. A compendium, n. 64, 45 p. Rome, 1997.
8. Furlong, E. B. et al. Micotoxinas and fungi in wheat stored in elevators in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Food Add. Contam.**, 12 : 683-688, 1995.
9. Furlong, E. B. et al. Aflatoxinas, ocratoxina e zearalenona em alimentos da região sul do Rio Grande do Sul. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 58 : 105 - 111, 1999.
10. Gimeno, A. Thin layer chromatographic determination of aflatoxins, ochratoxins, sterigmatocystin, zearalenone, citrinin, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, penicillic acid, patulin and penitrem A. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 62 : 579-585, 1979.
11. Kirchmer, C. F. Estimation of detection limits. In: **Environmental Analytical Procedures**. Washington: American Chemical Society, 1988. Cap. 4. p. 78-93.
12. Kuiper- Goodman, T.; Scott, P. M.; Watanabe, H. Risk Assessment of the mycotoxin zearalenone. **Rev. Toxicol. Pharmacol.**, 7: 253-306, 1987.
13. Nicásio, M. A. S.; Prado, G.; Linardi, V. R. Determinação de aflatoxina e identificação da microbiota fúngica em milho (*Zea mays* L.) pós colheita. **Arq. Biol. Tecnol.**, 38 : 851-857, 1995.
14. Pestka, J. J.; Bondy, G. S. Alteration of immune function following dietary vomitoxin exposure. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 68: 1009-1016, 1990.
15. Pich, P. H. **Deteção de aflatoxinas em produtos derivados de milho comercializados na região de Porto Alegre**. Porto Alegre, 1998. [Dissertação de mestrado – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul].
16. Prado, G.; et al. Ocorrência natural de desoxinivalenol e toxina T-2 em milho pós-colheita. Safra 1996. In: **XVI Congresso Brasileiro De Ciência e Tecnologia De Alimentos**, 15-17 julho, 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998, CD-ROM, cbcta 107.
17. Prado, G.; Oliveira, M. S.; Ferreira, S. O. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim comercializado na região metropolitana de Belo Horizonte – MG. In: **XVI Congresso Brasileiro De Ciência e Tecnologia De Alimentos**, 15-17 julho, 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998, CD-ROM, cbcta 108.
18. Przybylski, W. Formation of aflatoxin derivatives on thin layer chromatographic plates. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 58 : 163-164, 1975.
19. Soares, L. M. V.; Rodriguez-Amaya, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in Brazilian foods by using multi-toxin thin layer chromatographic methods. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 73 : 22-26, 1989.
20. Torres, D. Z. Micotoxinas: un problema sanitario y económico. Revision bibliografica. **Rev. Cubana Hig. Epidemiol.**, 25 : 341-356, 1987.
21. Trucksess, M. W.; Nesheim, S.; Eppley, R. M. Thin layer chromatographic determination of deoxynivalenol in wheat and corn. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 67 : 40-45, 1984
22. Ueno, Y. The Toxicology of mycotoxins. **CRC Crit. Rev. Toxicol.**, 14 : 99-132, 1985.
23. Ueno, Y. Trichothecenes in food. In: Krogh, P. (ed.). **Mycotoxins in food**. New York: Academic Press, 1987. p. 123-147.
24. Visconti, A.; Pascale, M. Determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **J. Chromatogr. A.**; 815:133-140, 1998.
25. Wogan, G. N. Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. **Bacteriol. Rev.**, 30 : 460-470, 1966.

Recebido em 19/06/2001/ aprovado em 10/04/2002