

Revisão**CONTAMINAÇÃO DE QUEIJOS POR AFLATOXINA M₁: UMA ABORDAGEM SOBRE A OCORRÊNCIA E PREVENÇÃO****Aflatoxin M₁ contamination in cheeses: an overview of the occurrence and prevention**Felipe Machado TROMBETE^{1*}Marcelo Elias FRAGA²Tatiana SALDANHA³**RESUMO**

Micotoxinas são metabólitos tóxicos produzidos por fungos filamentosos e de elevada ocorrência em cereais. A Aflatoxina M₁ (AFM₁) é o principal metabólito da Aflatoxina B₁ presente no leite e, possui elevado potencial carcinogênico para humanos e animais. AFM₁ pode ser encontrada nos queijos devido sua alta estabilidade aos processos industriais nos quais o leite é submetido para fabricação de derivados. Devido sua afinidade proteica, os níveis de AFM₁ em queijos são maiores do que em outros derivados lácteos. Este fato representa um importante problema de saúde pública, já que é um alimento consumido por crianças, adultos e idosos. Nessa revisão abordaram-se os principais assuntos referentes à ocorrência e prevenção da contaminação por AFM₁ em queijos. Foram discutidos os limites estabelecidos a partir de 2011 pela ANVISA e os métodos de quantificação comumente utilizados. A partir da Teoria dos Obstáculos de Leistner, foi elaborado um esquema ilustrativo das principais barreiras à contaminação dos alimentos com aflatoxinas e consequentemente da prevenção ao risco de transmissão de AFM₁ para os queijos. Métodos convencionais e alternativos de descontaminação e prevenção da contaminação por aflatoxinas em alimentos também foram discutidos. Pode-se concluir que, a incidência de AFM₁ em queijos é alta e constitui risco à saúde do consumidor, no entanto, não foram observados em nenhum estudo valores acima do limite máximo estipulado pela legislação brasileira. Por outro lado, há a necessidade de monitoramento contínuo e da realização de mais pesquisas objetivando a quantificação desta micotoxina em queijos e em outros derivados lácteos comercializados no Brasil.

Palavras-chave: micotoxina; *Aspergillus* spp; AFM₁; leite; teoria dos obstáculos.

ABSTRACT

Mycotoxins are toxic metabolites produced by filamentous fungi and are widely dispersed in cereals. Aflatoxin M₁ (AFM₁) is the principal Aflatoxin B₁ (AFB₁) metabolite present in the milk. This mycotoxin is a potent human and animal carcinogen and remains stable during the industrial processes to which milk is subjected when manufacturing dairy products, consequently, it can be found in cheeses. In cheese, AFM₁ levels are higher than others dairy products due the affinity of AFM₁ for milk protein. This fact represents a serious public health problem because cheeses are consumed by all age groups from infants to the aged. In this review, were discussed the occurrence and prevention of AFM₁ contamination in cheeses, including the new limits established by ANVISA

1 Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Discente de doutorado, /Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: trombete@ufrj.br

2 Doutor em Ciências Veterinárias. Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: fraga@ufrj.br

3 Doutora em Ciência de Alimentos. Professora Adjunta do Departamento de Tecnologia de Alimentos. UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: tatysal@gmail.com

* Autor para correspondência: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ. Rodovia BR 465, km 7, UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. CEP:23890-000 E-mail: trombete@ufrj.br

from 2011 and quantification methods commonly used. Based on the Theory of Obstacles of Leistner was constructed a schematic illustration of the main barriers to aflatoxin contamination animal feeds and, consequently, prevention of the risk of AFM₁ contamination in cheeses. Conventional and alternative methods for decontamination and prevention of aflatoxin contamination of foods were also addressed. Can be concluded that the occurrence of AFM₁ in cheeses is high and it constitutes a risk to consumer health, however, in this review was not observed samples higher than the limit established by Brazilian legislation for cheeses. On the other hand, a continuous monitoring and more studies are necessary to quantify AFM₁ in cheeses and other milk products marketed in Brazil.

Keywords: mycotoxins; *Aspergillus* spp; AFM₁; milk; theory of obstacles.

1 INTRODUÇÃO

Micotoxinas são metabólitos secundários de baixa massa molecular, formadas por uma série de compostos de diferentes toxicidades e produzidas por fungos filamentosos, principalmente os dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (RITTER et al., 2011).

Quando presentes nos alimentos, as micotoxinas representam um importante problema de saúde pública devido aos efeitos tóxicos e mutagênicos que podem causar em animais e aos seres humanos (CARDOSO et al., 2011; WHO, 2002).

A partir do ano de 2011, o Ministério da Saúde por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabeleceu novos limites para diversos grupos de micotoxinas em alimentos e matérias primas destinados ao consumo humano, tais como, ocratoxina, desoxinivalenol, fumonisinas, patulina, zearalenona e aflatoxinas, a maioria até então inexistentes na legislação brasileira (ANVISA, 2011).

As aflatoxinas produzidas principalmente por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* são o grupo considerado de maior relevância, sendo reconhecidas como os agentes cancerígenos naturais de maior potencial tóxico (RITTER et al., 2011; SONGSERMSAKUL; RAZZAZI-FAZELI, 2008).

No Brasil, devido às condições propícias ao desenvolvimento de diversos tipos de fungos aflatoxigênicos, os produtos de origem animal como carne, ovos e leite, podem ser fontes indiretas de contaminações por aflatoxinas, visto que, foram relatadas ocorrências em diferentes tipos de alimentos, a maioria ainda sem legislação específica quanto aos limites aceitáveis (MAZIERO; BERSOT, 2010).

Na cadeia produtiva de derivados lácteos, a contaminação por aflatoxinas ocorre pelo uso do leite contaminado com AFM₁. De acordo com Hussein; Brasel (2001), quando um animal ingere o alimento contaminado com AFB₁, de 0,5 a 5% da toxina é biotransformada no fígado em AFM₁, e, em geral, mais de 90% da AFB₁ ingerida é eliminada pelo organismo em até 24 h.

A AFM₁, apesar de ser um metabólito, não é um produto inativo, sendo cancerígeno para várias espécies, com efeitos na saúde pré e pós-natal em seres humanos ainda não totalmente esclarecidos (IARC, 2002).

Durante a fabricação de queijos, a AFM₁ con-

centra-se na caseína, ficando nela retida durante as diversas etapas do processamento (DEVECI et al., 2007). Esta interação torna os níveis de AFM₁ nos queijos maiores em relação ao leite, constituindo um problema de saúde pública e preocupação mundial, já que tais derivados são intensivamente consumidos por crianças, adultos e idosos.

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre os principais assuntos referentes à ocorrência e prevenção da contaminação por AFM₁ em queijos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Contaminação e ocorrência de AFM₁ em queijos

Nos últimos anos diversas pesquisas foram conduzidas com o intuito de avaliar a qualidade química, microbiológica e presença de resíduos e contaminantes em queijos (TROMBETE et al., 2012; SILVA et al. 2011; REZENDE et al., 2010.) Dentre esses contaminantes naturais encontram-se as aflatoxinas, amplamente presentes no leite e derivados (OLIVEIRA et al., 2011; IHA et al., 2011).

A aflatoxina B₁ é reconhecida como a micotoxina mais potente dentro deste grupo, sendo produzida por todas as linhagens de fungos aflatoxigênicos e geralmente presente em cereais e rações animais (IARC, 2002).

Após ser ingerida pelo animal, AFB₁ passa pelo processo de biotransformação primária no fígado. Neste processo ocorre a hidroxilação da molécula, resultando na formação de metabólitos tóxicos, tal como a AFM₁. Estes compostos por conterem o grupo hidroxila são bastante solúveis em água, o que possibilita sua rápida excreção através da urina, biliar, fezes e leite, constituindo um processo de detoxificação da AFB₁ (HUSSEIN; BRASEL, 2001).

Os efeitos hepatotóxicos e carcinogênicos causados pela AFM₁ quando no organismo humano fizeram com que a IARC (International Agency for Research on Cancer, 2002) a classificasse como agente carcinogênico do grupo 1 para humanos. Esta capacidade mutagênica é característica da dupla ligação entre C2-C3 na estrutura de hidrofurofurano da molécula (JAY, 2005). Na Figura 1 estão representadas as estruturas moleculares das aflatoxinas B₁ e M₁.

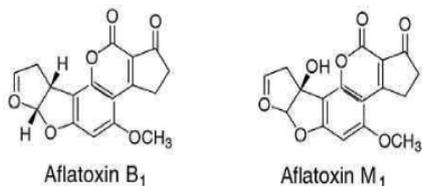


Figura 1 - Estrutura molecular de AFB₁ e AFM₁.
Extraído de Murphy (2006).

Diversos estudos têm objetivado quantificar os níveis de contaminação por AFM₁ em queijos produzidos em diferentes países. Nestes trabalhos é possível observar que a micotoxina está amplamente distribuída em diferentes tipos de queijos (Tabela 1).

AFM₁ é uma molécula de polaridade intermediária e possui baixa afinidade química com

as proteínas do soro e alta afinidade com a caseína, sendo esta a razão pela qual os níveis encontrados nos queijos são maiores que os encontrados no leite e em produtos derivados do soro, tal como a ricota. Ardic et al. (2009) confirmam este fenômeno pelo fato da AFM₁ associar-se à fração protéica do leite, ficando nela retida mesmo após a pasteurização e o processamento durante a produção dos queijos. As mesmas conclusões são apresentadas nos trabalhos de Kamkar et al. (2008) e Manetta et al. (2009).

Quanto aos estudos de quantificação de AFM₁ realizados no Brasil, ressalta-se que, mesmo sendo determinada em diferentes tipos de queijos não foi possível classificar tais produtos como contaminados ou não, devido à inexistência de uma legislação nacional que estabelecesse os limites máximos toleráveis de AFM₁ em derivados lácteos até o ano de 2011.

Legislação vigente para AFM₁ em leite e queijo

Os únicos produtos lácteos contemplados

Tabela 1 – Síntese de estudos envolvendo pesquisa de AFM₁ em queijos comercializados em diferentes países

País	Amostras	n*	Amostras Positivas	Maior que 0,25 µg. Kg⁻¹ **	Maior valor encontrado (µg.Kg⁻¹)	Referência
Paquistão	Queijo branco	119	78% (93)	15% (18)	0,59	Iqbal e Asi (2013)
Itália	Queijos nacionais	102	83% (84)	1% (1)	0,32	Anfossiet al. (2012)
Iran	Queijo branco	50	60% (30)	6% (3)	0,37	Tavakoliet al. (2012)
Líbano	Queijos nacionais e importados	111	67% (75)	12% (13)	0,31	Elkak et al. (2012)
Brasil	Queijos nacionais	58	89% (49)	7% (4)	0,30	Iha et al. (2011)
Iran	Queijo Lighvan	75	65% (49)	9,3% (7)	-	Fallah et al. (2011)
Turquia	Queijo branco	127	28% (36)	10% (13)	0,77	Kav et al. (2011)
Brasil	Queijo Minas Padrão	24	29,2% (7)	0% (0)	-	Oliveira et. al (2011)
Brasil	Queijo Minas Frescal	24	25% (6)	8,3% (2)	-	Oliveira et al. (2011)
Iran	Queijo branco	72	82% (59)	30% (22)	1,2	Fallah (2010)
Egito	Queijos nacionais	150	33% (50)	0% (0)	0,18	Amer e Ibrahim(2010)
Brasil	Queijo parmesão	88	46% (40)	2% (2)	0,66	Prado et al. (2008)
Itália	Queijo de cabra	41	9,8% (4)	-	0,39	Virdis et al. (2008)
Brasil	Queijo prato e parmesão ralado	23	96% (22)	26% (6)	0,54	Prado et al. (2001)

*Número de amostras avaliadas

**Valor máximo permitido pela União Européia para AFM₁ em queijos (EC, 2003)

pela legislação nacional quanto aos limites máximos permitidos de AFM₁ são o leite fluido, leite em pó e queijos (Tabela 2) (ANVISA, 2011).

Tabela 2 – Limites máximos de AFM₁ admissíveis em alimentos nacionais de consumo humano

Alimento	Aflatoxina	Limite tolerado
Leite fluido	M ₁	0,5 µg.L ⁻¹
Leite em pó	M ₁	5,0 µg.Kg ⁻¹
Queijos	M ₁	2,5 µg.Kg ⁻¹

Adaptado de: RDC nº 07 de 2011 (ANVISA, 2011).

Essa nova legislação estabelece o limite máximo de AFM₁ correspondente a 0,5 µg.L⁻¹ no leite, o qual é igual ao adotado nos EUA pelo FDA (Food and Drug Administration, 2011).

Já na União Europeia, o valor máximo é de 0,05 µg.L⁻¹, 10 vezes menor do que permitido pela legislação brasileira (EC, 2003).

Com relação aos queijos, os limites estipulados para a presença de AFM₁ são discrepantes entre os países. Na Áustria e Turquia, os níveis máximos são de 0,25 µg.Kg⁻¹. Já na China, Argentina e México, esse valor corresponde a 0,5 µg.Kg⁻¹ (EMAN, 2012).

No Brasil, a rede oficial de laboratórios do Ministério da Agricultura que realizam análises de micotoxinas é composta por 18 unidades de referência (FONSECA, 2011). De acordo com Freire et al. (2007), mesmo com os limites estabelecidos para AFM₁ no Brasil, falta maior rigor no cumprimento das legislações no país, já que, as fiscalizações são esporádicas.

Outro fator complicador na avaliação da ocorrência de AFM₁ são as metodologias de identificação e quantificação, que devem necessariamente ser precisas, exatas, sensíveis, e que ao mesmo tempo sejam rápidas e práticas.

Métodos de quantificação de AFM₁

Diferentes metodologias aplicadas à quantificação de AFM₁ em queijos têm sido desenvolvidas, otimizadas e validadas. Na maioria dos estudos são utilizadas técnicas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), Cromatografia Líquida de Ultra Performance (UPLC) ou ainda por Cromatografia em Camada Delgada (TLC). Nas duas primeiras técnicas, a detecção é comumente realizada por fluorescência (FLD), ultravioleta (UVD) ou Espectrômetro de Massas (MS).

O sistema HPLC-FLD é cerca de 30-40 vezes mais sensível que o sistema de detecção por UVD (TABARI et al., 2011; AMARAL; MACHINSKI JUNIOR, 2006), e o mais aconselhável para quantificação, quando comparados ambos os detectores.

Para Fujii et al. (2004), metodologias por TLC apresentam a vantagem de serem simples e possuírem baixo custo, com visualização direta do perfil cromatográfico

baseado na cor, fluorescência e aspecto da corrida. Desta forma, ainda é uma técnica que tem sido utilizada em estudos recentes para determinar AFM₁ em queijos (FALLAH et al., 2011; FALLAH, 2010).

Shundo; Sabino (2006) compararam metodologias por TLC e HPLC na quantificação de AFM₁ em leite, com valores de recuperação de cerca de 86% e limites de quantificação e detecção próximos a 0,01 µg.L⁻¹, em ambas as técnicas.

Métodos rápidos baseados em reações imunoquímicas também têm sido utilizados em quantificação de AFM₁ em queijos, com a desvantagem de possíveis resultados falso-positivos e necessidade da confirmação adicional do resultado. Desta forma, podem ser utilizados como métodos de quantificação direta ou ainda como procedimentos de triagem, devido à rapidez e facilidade de manuseio.

Já as colunas de imunoafinidade (Immunoaffinity Column - IAC) têm sido largamente utilizadas em pesquisas com AFM₁ devido à alta sensibilidade e especificidade do método. O uso de anticorpos específicos interage com a toxina do alimento, e elimina interferentes (CATTANEO et al., 2011).

Em um estudo interlaboratorial com diferentes métodos de quantificação de AFM₁ em queijo, Cattaneo et al. (2011) concluíram que o uso de IAC é determinante para obtenção de bons parâmetros analíticos, principalmente àqueles relacionados com a sensibilidade do método.

Novas metodologias para quantificação de AFM₁ em leite e derivados têm sido desenvolvidas. Dinçkaya et al. (2011) utilizaram biossensores e nanopartículas com esta finalidade, e encontraram bons resultados de quantificação em leite contaminado na faixa de 1 a 14 µg.L⁻¹ de AFM₁.

Pelo fato de não existir uma metodologia oficial para determinação de AFM₁ em queijos e outros derivados lácteos, a escolha da metodologia utilizada irá depender de fatores econômicos, finalidade das análises, equipe de analistas, entre outros. É essencial o uso de métodos confiáveis e, portanto, indispensável à validação constante destes em pesquisas de controle e/ou prevenção de AFM₁ em queijos.

Prevenção e controle da contaminação por AFM₁ em leite

A presença de AFM₁ em queijos elaborados com leite contaminado é um fenômeno já descrito por diversos autores (MANETTA, 2009; KAMKAR et al., 2008; DEVECI et al., 2007). Desta forma, evitar a contaminação da dieta animal é essencial para garantir a segurança do leite e de seus derivados.

Níveis de contaminação em rações destinadas ao gado leiteiro brasileiro situam-se entre 1 a 19,5 µg.Kg⁻¹. Nessa faixa, a contaminação do leite é de 0,010 a 0,0645 µg.L⁻¹ (OLIVEIRA et al., 2010). De acordo com Battacone (2003), AFB₁ pode ser detectada no sangue do animal a partir de 15 min após a sua ingestão.

Uma vez presente no leite, a toxina mostra-se estável durante as diversas etapas de processamento para fabricação de queijos, tais como pasteurização HTST e UHT, coagulação do leite, fabricação de queijo, acidificação, imersão em salmoura, dentre outros (FALLAH et al., 2010; MANETTA, 2009; DEVECI et al., 2007).

Formas de evitar a contaminação da dieta animal por aflatoxinas, e tornar o leite seguro à presença de AFM₁ são abordadas a seguir.

Aplicação da Teoria dos Obstáculos de Leistner

Partindo da afirmativa que a prevenção é o melhor método de controle da contaminação do alimento por AFM₁, a aplicação da Teoria dos Obstáculos proposta por Leistner (1994) seria uma forma de prevenir o desenvolvimento do fungo aflatoxigênico e produção da micotoxina em rações e silagens destinadas ao consumo animal.

A Teoria dos Obstáculos baseia-se na manutenção da qualidade inicial do alimento. As barreiras que podem ser aplicadas na prevenção do desenvolvimento de *Aspergillus spp* seriam aquelas relacionadas com os fatores inerentes ao alimento, principalmente, o controle da atividade de água e umidade, através de um processo de secagem e armazenamento adequado dos produtos destinados aos animais.

Fatores como a Umidade Relativa do ar (% UR) e o tempo de estocagem também podem ser controlados. Esses são considerados importantes obstáculos ao desenvolvimento fúngico.

O controle biológico realizado por meio da inoculação de cepas de *Aspergillus flavus* não aflatoxigênicos também pode constituir uma importante barreira à formação de aflatoxinas na dieta animal. A competição com a população aflatoxigênica reduz de forma eficaz a produção de micotoxinas durante o cultivo do amendoim, milho e sementes de algodão (HORN; DORNER, 2011; DEGOLA et al., 2011)

Outra forma de reduzir os efeitos causados pelo consumo de aflatoxinas é o uso de adsorventes como os aluminossilicatos de Na e Ca incorporados na alimentação animal. Esses compostos são caracterizados como adsorventes não nutritivos que através da compatibilidade de cargas elétricas adsorvem as micotoxinas presente na ração animal, o que impede a absorção destas pelo trato gastrointestinal, e as tornam inerte ao organismo (BATINA et al., 2005).

CHE et al. (2011) demonstram que 0,02% de aluminossilicato de sódio e cálcio ou 0,05% de glucomanano esterificado são efetivos na prevenção dos efeitos adversos causados pela dieta contaminada com micotoxinas sem efeitos na saúde animal.

Dessa forma, a partir dos fatores citados, foi

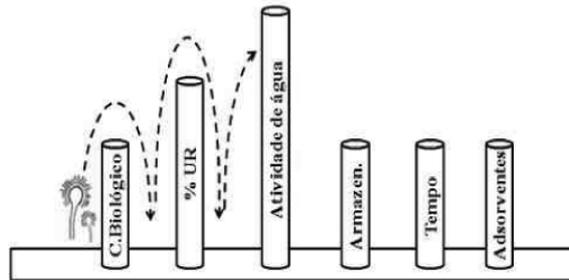


Figura 2 – Teoria dos obstáculos de Leistner aplicada na prevenção da formação de aflatoxinas na dieta animal e consequente prevenção da contaminação por AFM₁ no leite, queijos e outros derivados.

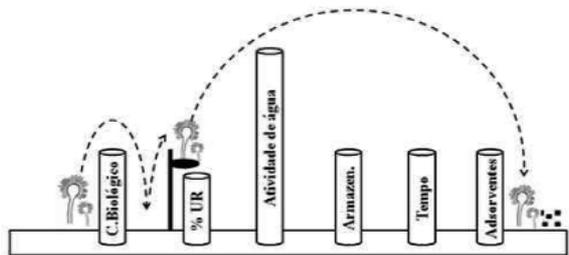


Figura 3 – Efeito trampolim ocorrido devido à elevada % UR do ambiente.

elaborado um esquema ilustrativo dos principais obstáculos à contaminação do alimento com aflatoxinas e consequentemente a prevenção ao risco de contaminação por AFM₁ em leite e queijos. São representadas como barreiras: o controle biológico, umidade relativa do ar (UR), atividade de água (Aa), condições de armazenamento, tempo de armazenamento e ação de adsorventes presentes na dieta animal (Figura 2). O obstáculo de maior importância refere-se a Aa do alimento. Valores abaixo de 0,78 e 0,86 são limitantes ao desenvolvimento dos fungos e produção de aflatoxinas, respectivamente (GARCIA, 2004).

Quando a % UR do ambiente é alta, ocorre o aumento de umidade do alimento e consequente aumento de sua Aa. Têm-se então o fenômeno, chamado de “efeito trampolim”, onde o fungo encontra condições de transpor facilmente as barreiras posteriores (Figura 3).

Métodos convencionais e alternativos para descontaminação de aflatoxinas

Diferentes métodos de degradação das aflatoxinas têm sido desenvolvidos e aprimorados. Metodologias baseadas em atributos físicos do alimento, tal como, a classificação por coloração de castanhas contaminadas com *Aspergillus* spp apresentam excelentes resultados, sendo possível identificar e separar as unidades contaminadas das não contaminadas por aflatoxinas (MELLO; SCUSSEL, 2009).

O uso de radiação microondas foi estudado na degradação de aflatoxinas em amendoim. A torração do produto por 9 min mostrou-se capaz de reduzir teores de aflatoxinas do grupo B e G em cerca de 78% (TAHA et al., 2001).

Já o tratamento por radiação ionizante é outra metodologia empregada para este controle, capaz de eliminar a micobiota natural com altas reduções nos teores de micotoxinas (RIBEIRO et al., 2009, PRADO, 2005).

Outro procedimento de descontaminação é o tratamento do alimento com amônia, denominado amonização. Apesar de ser uma técnica adotada em alguns países, as principais desvantagens são os possíveis efeitos tóxicos à saúde devido ao excesso de resíduos de amônia no alimento (HUIG et al., 2001).

A aplicação do Ozônio (O₃), ao contrário da amonização ou de outros métodos convencionais, é uma técnica que vem sendo muito estudada recentemente por apresentar algumas vantagens que permitem sua aplicação de forma eficaz na destruição das aflatoxinas. É um método de oxidação, capaz de reagir com grande variedade de grupos funcionais constituintes da molécula de aflatoxina. Esses grupos são degradados com consequente formação de compostos carbonílicos como aldeídos e cetonas ou ácidos orgânicos (YOUNG et al., 2006).

Diversos estudos demonstram que a ozonização é capaz de reduzir com eficácia os níveis de contaminação por micotoxinas em diferentes alimentos como castanha do Brasil, amendoim, milho e figos secos (ALENCAR et al., 2012; ZORLUGENÇ et al., 2008, PRUDENTE; KING, 2002).

O campo das tecnologias alternativas aplicadas ao controle da contaminação dos alimentos por aflatoxinas ainda têm muito a ser explorado. Os métodos citados neste estudo ainda são pouco utilizados na prática, mas podem ser considerados promissores devido aos elevados resultados demonstrados para a degradação de micotoxinas.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A incidência de AFM₁ em queijos tem sido objetivo de diversas pesquisas recentes na área micotoxicológica, e considerada questão de saúde pública devido aos elevados índices encontrados. Esse cenário representa um risco à saúde do consumidor e repercute nas exportações de queijos e outros derivados, como uma importante barreira sanitária. Mesmo em vigor, a legislação brasileira ainda é insuficiente para fiscalização dos derivados lácteos, visto que contempla somente os queijos, leite e leite em pó. Ainda assim, para o seu cumprimento, há a necessidade de um monitoramento contínuo com metodologias analíticas confiáveis. A melhor forma de evitar a contaminação por AFM₁ nos queijos ainda é o fornecimento de uma alimentação de qualidade ao gado leiteiro, sem contaminação por aflatoxinas. Dessa forma, o controle das condições ideais ao desenvolvimento do fungo é de extrema importância, principalmente os parâmetros relacionados à estocagem do alimento. Metodologias alternativas para a descontaminação das aflatoxinas têm sido estudadas, porém ainda são muitos os fatores que restringem sua aplicabilidade prática.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a concessão de bolsa pela CAPES/Programa REUNI.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALENCAR, E. R. et al. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v.92, n.1, p.899-905, 2012.
- AMARAL, K. A. S.; MACHINSKI JUNIOR, M. Métodos analíticos para a determinação de aflatoxinas em milho e seus derivados: uma revisão. **Analytica**, São Paulo, v.5, n.24, p.56-58, 2006.
- AMER, A. A.; IBRAHIM, M. A. E. Determination of aflatoxin M₁ in raw milk and traditional cheeses

- retailed in Egyptian markets. **Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences**, v.2, n.4, p.50-53, 2010.
- ANFOSSI, L. et al. Occurrence of aflatoxin M₁ in Italian cheese: Results of a survey conducted in 2010 and correlation with manufacturing, production season, milking animals, and maturation of cheese. **Food Control**, Oxford, v.25, n.1, p.125-130, 2012.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução de Diretoria Colegiada nº.7, de 18 de fevereiro de 2011. Limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 09 mar. 2011. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/index.htm>>. Acesso em: 03 abr. 2013.
- ARDIC, M. et al. Aflatoxin M1 levels of Turkish white brined cheese. **Food Control**, Oxford, v.20, n.3, p.196-199, 2009.
- BATTACONE, G. et al. Excretion of aflatoxin M₁ in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B1. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, n.8, p.2667-2675, 2003.
- BATINA, P.N. et al. Efeitos da adição de montmorilonita sódica na dieta sobre o perfil bioquímico de frangos de corte intoxicados com aflatoxina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p.826-831, 2005.
- CARDOSO, V. S. et al. Efficacy of piperine in reducing the effects of aflatoxin intoxication in broiler chickens: a preliminary report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.63, n.2, p.495-498, 2011 .
- CATTANEO, T. M. P. et al. Testing the suitability of different high-performance liquid chromatographic methods to determine aflatoxin M₁ in a soft fresh Italian cheese. **Journal of Chromatography A**, New York, v.1218, n.1, p.4738-4745, 2011.
- CHE, Z. et al. The protective effects of different mycotoxin adsorbents against blood and liver pathological changes induced by mold contaminated feed in broilers. **The Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v.24, n.2, p.250-257, 2011.
- DEGOLA, F. et al. Laboratory tests for assessing efficacy of atoxigenic *Aspergillus flavus* strains as biocontrol agents. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v.146, n.3, p.235-243, 2011.
- DEVECI, O. Changes in the concentration of aflatoxin M1 during manufacture and storage of White Pickled cheese. **Food Control**, Oxford, v.18, n.9, p.1103-1107, 2007.
- DINÇKAYA, E. et al. Development of an impedimetric aflatoxin M₁ biosensor based on a DNA probe and gold nanoparticles. **Biosensors and Bioelectronics**, Los Angeles, v.26, n.1, p.3806-3811, 2011.
- ELKAK, A. et al. Occurrence of aflatoxin M₁ in cheese processed and marketed in Lebanon. **Food Control**, Oxford, v.25, n.1, p.140-143, 2012.
- EUROPEAN MYCOTOXIN AWARENESS NETWORK (EMAN). **Mycotoxins Legislation Worldwide**. Surrey, fev. 2012. Disponível em: <<http://services.leatherheadfood.com/eman/FactSheet.aspx?ID=79>> Acesso em: 03 abr. 2013.
- FREIRE, F. C. O.; VIEIRA, E. G. P. V.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N. P. Micotoxinas: **Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal**. Fortaleza Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 48p. (Documentos, 110) Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Dc_110.pdf> Acesso em: 29 jun. 2011.
- EUROPEAN COMMISSION (EC). Commission Regulation n.2174/2003 of 12 December 2003 amending Regulation (EC) n° 466/2001 as regards aflatoxins. **Official Journal of the European Community**, 12 dec. 2003. L326, p.12-15
- FALLAH, A. A. Aflatoxin M₁ contamination in dairy products marketed in Iran during winter and summer. **Food Control**, Oxford, v.21, n.1, p.1478-1481, 2010.
- _____; et al. Seasonal variation of aflatoxin M₁ contamination in industrial and traditional Iranian dairy products. **Food Control**, Oxford, v.22, n.10, p.1653-1656, 2011.
- FONSECA, H. Micotoxinas. Laboratórios que efetuam análise de micotoxinas. 2011. Disponível em: <<http://www.micotoxinas.com.br/laboratorios.html>> Acesso em: 03 abr. 2013.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Guidance for Industry: Action Levels for Poisonous or Deleterious Substances in Human Food and Animal Feed**, Silver Spring: FDA U.S. Food and Drug Administration, 2011. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ChemicalContaminantsMetalsNaturalToxinsPesticides/ucm077969.htm>> Acesso em: 03 abr. 2013.
- FUJII, S. et al. Metodologia analítica imunoquímica com ênfase na detecção de micotoxinas – ficotoxinas no sistema agroalimentar. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.15, n.3, p.273-284, 2004.
- GARCIA, D. M. **Análise de atividade de água em**

- alimentos armazenados no interior de granjas de integração avícola.** 2004. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2004.
- HORN, B. W.; DORNER, J. W. Evaluation of different genotypes of nontoxigenic *Aspergillus flavus* for their ability to reduce aflatoxin contamination in peanuts. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v.21, n.7, p.865-876, 2011
- HUIG, A. et al. Mycotoxin detoxification of animal feed by different absorbents. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.122, n.2, p.179-188, 2001.
- HUSSEIN, S. H.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, Amsterdam, v.167, n.2, p.101-134, 2001.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). World Health Organization. **Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene.** Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans, Lyon, v. 82, n.1, p. 171-175, 2002. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/volume82.pdf>>. Acesso em: 03 abr. 2013.
- IHA, M. H. et al. Occurrence of AFM1 in dairy products in Brazil. **Food Control**, Oxford, v.22, n. 12, p.1971-1974, 2011.
- JAY, J. M. **Modern Food Microbiology.** Gaithersburg: Aspen, 2005. 854p
- IQBAL, S. Z.; ASI, M. R. Assessment of aflatoxin M1 in milk and milk products from Punjab, Pakistan. **Food Control**, Oxford, v.30, n.1, p.235-239, 2013.
- KAMKAR, A. et al. Fate of aflatoxin M₁ in Iranian white cheese processing. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.46, n.1, p.2236-2238, 2008.
- KAV, K. et al. Detection of aflatoxin M₁ levels by ELISA in white-brined Urfa cheese consumed in Turkey. **Food Control**, Oxford, v.22, n.1, p.1883-1886, dez. 2011.
- LEISTNER, L. **Food design by hurdle technology and HACCP.** Kulmbach: Adalbert Raps Foundation, 1994. 62p.
- MANETTA, A. C. et al. Distribution of aflatoxin M₁ during Grana Padano cheese production from naturally contaminated milk. **Food Chemistry**, Oxford, v.113, n.1, p.595-599, 2009.
- MAZIERO, M. T.; BERSOT, L.S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.12, n.1, p.89-99, 2010.
- MELLO, F. R.; SCUSSEL, V. M. Development of Physical and optical methods for In-shell Brazil nuts sorting and aflatoxin reduction. **Journal of Agricultural Science**, v.1, n.2, p.3-14, 2009.
- MURPHY, P. A. et al. Food Mycotoxins: An Update. **Journal of Food Science**, Chicago, v.71, n.5, p.51-65, 2006
- OLIVEIRA, C. A. F. et al. Determinação de aflatoxina B1 em rações e aflatoxina M₁ no leite de propriedades do Estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.1, p.221-225, mai. 2010.
- _____; et al. Survey of aflatoxin M1 in cheese from the North-east region of São Paulo, Brazil. **Food Additives and Contaminants**, London, v.4, n.1, p.57-60, 2011.
- PRADO, G. et al. Aflatoxina M1 em queijo prato e parmesão determinada por coluna de imunoafinidade e cromatografia líquida. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.60, n.2, p.147-151, 2001.
- _____. **Influência da irradiação gama (60Co) na microbiota fúngica e na aflatoxina B1 em amendoim (*Arachis hypogaea* L.).** 2005. 186f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2005.
- _____; et al. Occurrence of aflatoxin M₁ in Parmesan cheese in Minas Gerais, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.6, p.1906-1911, 2008.
- PRUDENTE, A. D.; KING, J. J. Efficacy and safety evaluation of ozonization to degrade aflatoxin in corn. **Journal of Food Science**, Chicago, v.67, n.8, p.2866-2872, 2002.
- REZENDE, et al. Aspectos sanitários do queijo minas artesanal comercializado em feiras livres. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.65, n.377, p.36-42, 2010.
- RIBEIRO, J. M. M. et al. Radiação gama sobre a microbiota de ração avícola e *Aspergillus* spp. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.5, p.1452-1458, 2009.
- RITTER, A. C. et al. Toxigenic potential of *Aspergillus flavus* tested in different culture conditions. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.3, p.623-628, 2011.
- SADEGHI, N. et al. Incidence of aflatoxin M₁ in human breast milk in Tehran, Iran. **Food Control**, Oxford, v.20, n.1, p.75-78, 2009.

- SHUNDO, L.; SABINO, M. Aflatoxin M₁ in milk by immunoaffinity column cleanup with TLC/HPLC determination. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.37, n.1, p.164-167, 2006.
- SILVA, J. G. et al. Características físico-químicas do Queijo Minas Artesanal da Canastra. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de fora, v.66, n.380, p.16-22, 2011.
- SONGSEMSAKUL, P.; RAZZAZI-FAZELI, E. A review of recent trends in applications of liquid chromatography–mass spectrometry for determination of mycotoxins. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, London, v.31, n.11, p.1641–1686, 2008.
- TABARI, M. et al. Method validation for aflatoxin M₁ determination in yoghurt using immunoaffinity column clean-up prior to high-performance liquid chromatography. **Toxicology and Industrial Health**, Princeton NJ, v.27, n.7, p.629-635, 2011.
- TAHA, O. G. et al. Efeito da radiação microondas na redução dos teores de aflatoxinas em amendoim. **Alimentos e nutrição**, Araraquara, v.12, n.1, p.163-170, 2001.
- TAVAKOLI, H. R. et al. Occurrence of aflatoxin M₁ in white cheese samples from Tehran, Iran. **Food Control**, Oxford, v.23, n.1, p.293-295, 2012.
- TROMBETE, F. M. et al. Avaliação da qualidade química e microbiológica de queijo parmesão ralado comercializado no Rio de Janeiro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de fora, v.67, n.385, p.11-16, 2012.
- VIRDIS, S. et al. Occurrence of Aflatoxin M₁ in tank bulk goat milk and ripened goat cheese. **Food Control**, Oxford, v.19, n.1, p.44-49, 2008.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global Strategy for Food Safety: safer food for better health. Food Safety Programme. Geneva, Switzerland. 2002.
- YOUNG, J. C. et al. Degradation of trichothecene mycotoxins by aqueous ozone. **Food Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.44, n.3, p.417-424, 2006.
- ZORLUGENÇ, B. et al. The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B₁ in dried figs. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.46, n.1, p.3593-3597, 2008.