BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE NO PROCESSAMENTO DE FARINHA DE TRIGO INTEGRAL

MÁRCIA DIMOV NOGUEIRA

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

ORIENTADOR:
PROF. TIT.MARILENE DE VUONO CAMARGO PENTEADO

SÃO PAULO-SP
2000

16.381

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Nogueira, Márcia Dimov
N778a Análise de perigos e pontos críticos de controle no processamento de farinha de trigo integral / Márcia Dimov Nogueira. -- São Paulo, 2000.
115p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.
Orientador: Penteado, Marilene de Vuono Camargo

1. Alimento : Microscopia : Tecnologia 2. Alimento : Lei : Adulteração : Controle : Saúde pública 3. Alimento : Inspeção : Saúde pública 4. Alimento : Higiene : Ciência dos alimentos I. T. II. Penteado, Marilene de Vuono Camargo, orientador.

664.07 CDD

MÁRCIA DIMOV NOGUEIRA

ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE NO PROCESSAMENTO DE FARINHA DE TRIGO INTEGRAL

COMISSÃO EXAMINADORA

Dissertação para obtenção do título de
MESTRE

Profa. Tit. Marilene De Vuono Camargo Penteado
Presidente e Orientador

Dra. Myrna Sabino
1° Examinador

Dr. Odair Zenebon
2° Examinador

São Paulo, 21 de agosto de 2000

Dedico aos meus pais, Nicolau e Luiza,
por tanto esforço, coragem, trabalho, amor e dedicação aos filhos.

Ao meu marido Willians, e aos meus filhos Mário e Guilherme,
por todo o incentivo, apoio e amizade

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Marilene De Vuono Camargo Penteado, pela amizade e orientação durante as etapas deste trabalho, a quem atribuo o meu aprimoramento científico.

À Dra. Myrna Sabino e à Dra. Dilma Scala Gelli, pela atenção constante, pelas orientações na parte experimental, pelas sugestões na fase de redação e por colocarem à disposição seus laboratórios para realização de parte deste trabalho.

Ao Eng. Luiz Carlos Caetano pela colaboração, permitindo que esse trabalho fosse possível, integrando o lado prático da industrialização de alimentos com a teoria da Ciência dos Alimentos.

Ao Fernando Paulo Maiese pela colaboração e pela paciência com que fui recebida.

À Dra. Márcia Melhen pelo apoio e entusiasmo oferecido a esta iniciante na vida científica.

Ao Prof. Dr. Sérgio Antonio Vanin (IB-USP) pela orientação na parte entomológica do trabalho.

À Dra. Nanci Chacon Dezotti pela colaboração e por sua disposição em transmitir seus conhecimentos a essa pequena pupila.

Ao Dr. Odair Zenebon, diretor da Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, pelo incentivo e pelo apoio demonstrado.

À chefe da Seção de Microscopia Alimentar, Regina Maria Morelli Silva Rodrigues, pelo apoio, compreensão e incentivo.

À todos os colegas da Seção de Microscopia Alimentar pelo apoio, incentivo e por todas as boas vibrações que tenho certeza nunca faltaram.

À todas colegas da Seção de Microbiologia Alimentar que demonstraram sempre amizade durante a realização da parte experimental desta dissertação.

À Dra. Celuta Helena Paganelli e a colega Maria Lúcia Siqueira pela colaboração na identificação dos insetos e na identificação da Siphonáptera.

Agradeço às Seções de Cosméticos, Química Biológica, Laticínios, Bebidas, Micologia Médica, Patologia e Sorologia do Instituto Adolfo Lutz pela ajuda prestada, tornando possível a realização deste trabalho.

Às amigas Cristiane Bonaldi Cano, Dra. Maria Luisa Barbosa (MALU), Vivian Regina Silveira, Myoko Jakabi e Maria Adelaide de Andrade pelo grande incentivo e pelo empurrão que às vezes necessitamos para continuar.

À diretoria de Serviços Básicos do Instituto Adolfo Lutz, e ao Sr. Antonio Roberto de Souza Ferreira

Ao Mauro Cintra Jiudice pela identificação de fungos do início do trabalho.

À todos que direta ou indiretamente colaboraram com a elaboração deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURA ix

LISTA DE TABELAS xi

LISTA DE QUADROS xii

RESUMO xiii

ABSTRACT xiv

1- INTRODUÇÃO 1

2- REVISÃO DA LITERATURA

2.1- SISTEMA DE ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE (APPCC) 3

2.1.1- Histórico 4

2.1.2- A importância do APPCC 7

2.2- TRIGO

2.2.1- Aspectos Gerais 9

2.2.2- Identificação e caracterização do perigos relacionados ao trigo 12

2.2.2.1- Desoxinivalenol (DON) 13

2.2.2.2- Toxicologia do DON 19

2.2.2.3- Ácaros Alergênicos 22

2.2.3- Fatores que propiciam o desenvolvimento de fungos e a produção de micotoxinas 23

2.2.3.1- Atividade da água 24

2.2.3.2- Campo, Armazém e Transporte 25

2.2.3.3- Sujidades Leves 28

2.2.3.3.1- Insetos 29

2.2.3.3.2- Ácaros 30

2.2.3.4-Fungos 32

2.2.3.4.1- Gênero *Fusarium* 35

2.2.4- Moinhos..... 38
2.2.5.1- Recepção 39
2.2.5.2- Limpeza..... 39
2.2.5.3- Acondicionamento..... 40
2.2.5.4- Moagem..... 40

3- OBJETIVOS

3.1- OBJETIVO GERAL 42
3.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS 42

4- MATERIAIS e MÉTODOS

4.1- MATERIAL..... 43
4.1.1- Amostragem..... 43
4.1.1.1- Pontos de coleta..... 44
4.1.1.2- Obtenção da farinha de trigo integral..... 46
4.1.1.3- População amostrada..... 48
4.2- MÉTODOS 49
4.3- TRIGO 49
4.3.1- Análise Microscópica..... 49
4.3.1.1- Identificação de insetos..... 49
4.3.1.2- Identificação de ácaros 49
4.3.2- Análise Microbiológica..... 49
4.3.2.1- Identificação de Fungos..... 50
4.4- FARINHA DE TRIGO INTEGRAL 50
4.4.1- Análise Microscópica..... 50
4.4.1.1- Estudo da metodologia empregada para isolamento de sujidades leves 50
4.4.2- Análise Microbiológica..... 51
4.4.3- Metodologia para quantificação de desoxinivalen..... 51
4.5- ANÁLISE ESTATÍSTICA..... 52

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- TRIGO 53

5.1.1- Estudo Preliminar..... 53

5.1.2- Ocorrência de sujidades leves..... 54

5.1.2.1 Insetos..... 55

a)- Thisanópteros..... 55

b)- Coleópteros..... 57

5.1.2.2- Ácaros..... 60

5.1.3- Ocorrência de fungos 63

5.1.3.1- *Fusarium*..... 71

5.2- FARINHA DE TRIGO INTEGRAL

5.2.1-Metodologia modificada para isolamento de sujidades leves..... 73

5.2.2- Ocorrência de sujidades leves..... 75

5.2.2.1- Insetos..... 75

5.2.2.2- Ácaros..... 80

5.2.3- Ocorrência de fungos 84

5.2.4- Ocorrência de DON..... 85

5.3- O SISTEMA APPCC e a FARINHA DE TRIGO INTEGRAL..... 88

6- CONCLUSÕES..... 94

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 97

LISTA DAS FIGURAS

Figuras	Título	Páginas
1	Corte longitudinal e transversal de um grão de trigo (MATTERN, 1991).....	10
2	Estrutura química do desoxinivalenol (DON) e outros tricotecenos do grupo B (OMS, 1990).....	14
3	Representação esquemática de cada ponto de coleta para amostras com trigos de duas procedências (Nacional e Argentino).....	43
4	Representação esquemática de cada ponto de coleta para amostras com trigo de uma única procedência.....	44
5	Representação esquemática da distribuição das sub-amostras de trigo no laboratório.....	46
6	Confecção da farinha de trigo integral e número de determinações realizadas em laboratório.....	47
7	Composição da população amostrada.....	48
8	Desenho esquemático para thisanópteros em sub-amostras de trigo: argentino, nacional e lavado.....	57
9	Desenho esquemático para coleópteros em sub-amostras de trigo.....	58
10	Desenho esquemático da distribuição de ácaros para trigos argentino, nacional e lavado.....	61
11	Desenho esquemático para infecção geral de fungos para grãos de trigo argentino, nacional e lavado.....	64
12	Desenho esquemático para infecção para trigo argentino, *Aspergillus* (ASP), *Penicillium* (PEN), *Fusarium* (FUS), Dematiaceous (DE) e Mucorales (MU).....	65
13	Desenho esquemático para infecção para trigo nacional, Aspergillus (ASP), *Penicillium* (PEN), *Fusarium* (FUS), Demaciaceous (DE) e Mucorales (MU).....	66
14	Desenho esquemático para infecção para trigo lavado, *Aspergillus* (ASP), *Penicillium* (PEN), *Fusarium* (FUS), Dematiaceous (DE) e Mucorales (MU).....	67

15 Comparação da população de fungos Dematiaceous e *Aspergillus* em sub-amostras de trigo argentino, após limpeza geral do moinho, durante o período de coleta de amostras..... 70

16 Distribuição da contagem de isolados de *Fusarium* spp nos trigos argentino, nacional e lavado..... 72

17 Freqüência absoluta e relativa de sujidades leves encontradas na farinha de trigo integral: fragmentos de insetos (FI), fragmentos de larvas (FLV), ácaros (AC) e pêlo de roedor..... 75

18 Desenho esquemático para comparação entre a freqüência de coleópteros em trigos: argentino (ARG), nacional (NAC), lavado (LAV) com fragmentos de coleópteros em farinha de trigo integral (FTI)..... 77

19 Freqüência de fragmentos de insetos nas amostras de farinha de trigo integral, em relação a limpeza do moinho..... 78

20 Desenho esquemático para distribuição de matérias estranhas: ácaros (AC), fragmentos de insetos (FI), fragmentos de larvas (FLV) e pêlos de roedores em farinha de trigo integral..... 79

21 Desenho esquemático para ácaros na produção de farinha de trigo integral: trigo argentino (ARG), trigo nacional (NAC), trigo lavado (LAV) e farinha de trigo integral (FTI)..... 80

22 Distribuição de ácaros nas sub-amostras de farinha integral ao longo da coleta de amostras, com pico populacional na amostra de número 14..... 81

23 Distribuição de ácaros nas sub-amostras de trigo argentino ao longo da coleta de amostras, com pico populacional na amostra de número 16. 82

24 Fluxograma de produção de farinha de trigo integral e a identificação dos PCCs (Ponto Crítico de Controle) para DON e para Ácaros alergênicos..... 90

LISTA DE TABELAS

Tabelas	Título	Página
1	Ocorrência de insetos nos pés de elevadores, separador a disco e rosca	54
2	Número e percentual de sub-amostras de trigo com presença de sujidades leves	55
3	Análise descritiva para insetos Thisanópteros em sub-amostras de trigo argentino (ARG), nacional (NAC) e lavado (LAV)	56
4	Análise descritiva para insetos Coleópteros em sub-amostras de trigo argentino (ARG), nacional (NAC) e lavado (LAV)	58
5	Análise descritiva para ácaros em sub-amostras de trigo argentino (ARG), nacional (NAC) e lavado (LAV)	60
6	Análise descritiva para infecção geral de fungos em grãos em sub-amostras de trigo argentino (ARG), nacional (NAC) e lavado (LAV)	63
7	Análise descritiva para trigos argentino (ARG), nacional (NAC) e lavado (LAV) para variável *Fusarium* spp	71
8	Comparação do desempenho do método para análise de sujidades leves em farinha de trigo integral	74
9	Número e percentual de sub-amostras com presença de fungos	85

LISTA DE QUADROS

Quadro	Título	Página
1	Níveis recomendados de desoxinivalenol para rações (MERONUCK, 1997).....	17
2	Patogenicidade e micotoxinas isoladas de *Fusarium* de grãos de trigo (MILLER, 1994).....	38

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

RESUMO

O Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) ou Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) é de grande importância para a Saúde Pública, quanto às doenças veiculadas por alimentos. O objetivo deste trabalho foi verificar a aplicabilidade do uso desse sistema na indústria de moagem de trigo, no processamento de farinha de trigo integral, produto com demanda crescente no mercado. Trinta produções de farinha foram coletadas numa indústria cuja capacidade de moagem é de 15ton./h na cidade de São Paulo. A população amostrada foi de 30 sub-amostras de trigo argentino (**A**) (12,8% de umidade média), 17 sub-amostras de trigo brasileiro (**B**) (13,1% de umidade média), 30 sub-amostras de trigo preparado para moagem (**M**) (15,6% de umidade média) e 30 sub-amostras de farinha de trigo integral (**FTI**), coletadas num período de 5 meses (de outubro de 97 à março de 98). A metodologia utilizada para pesquisa de sujidades leves foi a adotada pelos Métodos Oficiais da AOAC (1995). Houve modificações no método e um estudo foi realizado para conhecer sua performance. No isolamento de fungos foi utilizada a metodologia empregada pela AOAC/FDA Bacteriological Analytical manual (1992). Para identificação de fungos em relação ao gênero foi utilizado o método preconizado GELLI *et al.*(1990), SAMSON *et al* (1995), PITT and HOCKING (1997). Na análise de sujidades leves nos trigos foi evidenciada a contaminação por ácaros (**A**=90%, **B**=53%, **M**=77% e **FTI**=53%); no trigo argentino houve uma predominância para a família Tarsonemidae, enquanto que na respectiva farinha foi a família Acaridae. Alguns ácaros dessa última família estão implicados em reações alérgicas e estão sendo tratados como emergentes na segurança alimentar. Os insetos thisanópteros, os mais freqüentes nos trigos, foram eliminados na farinha de trigo integral. O percentual médio de contaminação fúngica dos grãos foi de **A**=99%, **B**=95% e **M**=94%. O principal gênero encontrado foi *Aspergillus* spp (**A**= 79,0%, **B**= 39,3% e **M**= 64,2%). O menos freqüente *Fusarium* spp (**A**= 2,9%, **B**= 2,7% e **M**=1,5%). Na farinha de trigo integral o principal gênero encontrado foi o *Penicillium* spp e o *Fusarium* não foi isolado. O desoxinivalenol foi encontrado em uma amostra de farinha de trigo integral a uma concentração de 231 ng/g. O sistema APPCC se aplica aos moinhos e os auxilia a controlar suas produções do ponto de vista da segurança alimentar.

ABSTRACT

Food safety is a major concern facing the food industry today. Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) provides a structured approach to the assurance of safety of products. The aim of this study was to verify the use of HACCP system in a milling industry, precisely in the whole wheat flour production. At first step two hazards were analyzed: deoxynivalenol and allergenic mites in whole wheat flour Thirty (30) lots of flour were collected in an industry which capacity was 15 ton./h in São Paulo city. Those lots had 30 sub-samples of argentine (**A**) wheat (12,8% average moisture content), 17 sub-samples of brazilian (**B**) wheat (13,1% m.c.), 30 sub-samples of wheat for milling (**M**) (15,6% m.c), and 30 sub-samples of whole wheat flour (**FTI**) that were analyzed in a five months period (from 97/october to 98/march). Light filth was isolated from grains and flour, according to Official Methods of AOAC International. Methodology of extraction of light filth from whole wheat flour was studied to know the repeatability according to AOAC methods. Fungi isolation was performed according to AOAC/FDA Bacteriological Analytical Manual (1992) methodology; genera were identified according GELLI *et al.*(1990), SAMSON *et al* (1995), and PITT and HOCKING (1997). Detection and quantification of deoxynivalenol (DON) were done by thin layer chromatography (TLC) according to SABINO *et al.* (1989).The most significant light filth contamination in wheat were mites (**A**= 90%, **B**= 53%, **M**= 77% e **FTI**= 57%), argentine wheat had as a predominant mite the family Tarsonemidae and flour had Acaridae. The average fungal contamination in grains was 99%, 95% e 94% in argentine, brazilian and wheat for milling respectively. The predominant genera was *Aspergillus* spp (**A**= 79,0, **B**= 39,3% e **M**= 64,2 %), and *Fusarium* was the least frequent in wheat (**A**= 2,7%, **B**= 2,8% e **M**=1,5%). Only one lot of whole wheat flour was contaminated by DON at level 231 ng/g. This study showed that HACCP system is appropriated for control hazards in milling industry. However, DON should be controlled before wheat get into industry, and this control need to be registered. Mites are new emergentes to cause allergy by ingestion and have to be controlled by GMP procedures.

1-Introdução

Nas sociedades industrialmente desenvolvidas, onde a natureza parece distante, surgiu a tendência por "alimentos naturais". No início dos anos 80, iniciou-se no Brasil os primeiros debates sobre esta tendência; um pouco desacreditada pela indústria, mas impulsionada pela força de mercado, sem necessariamente absorver uma nova tecnologia ou linha de trabalho. Simplesmente, e dentro do possível, se incorporou o termo "natural" a um elenco infinito de produtos já existentes (CARVALHO, 1990).

A farinha de trigo branca é um produto bem conhecido e o parque industrial brasileiro de moagem de trigo está voltado para sua produção, onde o grão é moído e o endosperma é separado do epicarpo e do germe. A farinha de trigo integral, por sua vez, tem sido utilizada como matéria prima para diversos produtos como: pães, macarrão, biscoitos, granola, produtos esses cada vez mais consumidos.

Os produtos naturais têm sido relatados pela Ciência da Nutrição como importantes para a saúde, por conter maior quantidade de fibras, vitaminas e sais minerais. O tratamento à base de fibras é indicado para diversas enfermidades crônicas, entre elas: a enfermidade diverticular, câncer do cólon, isquemia cardíaca e outras (JACOBS, 1998).

Cada país possui estruturas governamentais específicas que cuidam da segurança alimentar. No Brasil, os Ministérios da Agricultura e Saúde dividem a responsabilidade de criar regulamentos que visam a segurança do suprimento alimentar nacional. O Ministério da Saúde, através da Portaria 1428/93 (BRASIL, 1993), implementou o uso do sistema HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) ou APPCC (Análise de Perigos e Pontos de Controles Críticos) para os processadores de alimentos identificar e gerenciar os perigos no processamento de alimentos, eliminando ou minimizando o risco de transmissão de doenças veiculadas por alimentos.

Atualmente, o controle de alimentos se faz necessário devido:

- Ao mercado internacional, cada vez mais competitivo, forçando os produtores a buscarem novas tecnologias de produção mais eficientes e econômicas;
- Ao aumento de consciência de escolha dos consumidores que estão sendo mais seletivos nas compras e críticos aos fatores da qualidade;
- Às exigências de segurança alimentar nas fronteiras pelos órgãos governamentais, que com a globalização aumentou a quantidade de mercadoria flutuante no mundo, e também necessitando de velocidade de informação com agências de controle de outros países na aplicação do controle eficaz de alimentos (CAMPBELL-PLATT, 1997).

O sucesso do APPCC requer um envolvimento e compromisso profundo da direção da empresa e dos empregados e tem uma abordagem multidisciplinar de acordo com a situação particular. A aplicação do sistema APPCC é compatível com outros sistemas de qualidade TQM (Total Quality Management) e a série ISO 9000 e gerencia a obtenção de alimento seguro dentro desses programas de qualidade (FAO, 1998).

A análise de perigos, então, é um primeiro caminho a ser utilizado para o conhecimento destes no processamento, na matéria prima, ou em algum procedimento. No presente trabalho foram estudados os fatores que propiciam a produção de micotoxinas, tais como: fungos toxigênicos e artrópodes em ambiente de armazém. A princípio, foi estudada uma única toxina o desoxinivalenol, conhecida por DON ou vomitoxina VT, por ser o tricoteceno mais amplamente distribuído no mundo e por não apresentar limites na legislação brasileira, e estar sendo motivo de discussão na regulamentação do Mercosul. A presença de micotoxinas nos grãos de trigo é um perigo potencial, devendo ser avaliada a introdução do epicarpo nos produtos integrais, assim como os ácaros alergênicos, contaminantes biológicos emergentes.

2-REVISÃO DA LITERATURA

2.1-SISTEMA DE ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE

O sistema HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) ou APPCC (Análise de Perigos e Pontos de Controles Críticos) é um sistema aplicado a processamentos específicos de alimentos para garantir sua segurança, eliminando ou minimizando os perigos associados, tem como objetivos o controle sistemático e a prevenção de problemas, por adoção de controles adequados em cada ponto considerado crítico. O sistema APPCC entretanto, não é um sistema de risco zero (FAO, 1996a).

O sistema APPCC é baseado em ciência e sistemática; identifica perigos significativos e mede seus riscos para controlar e garantir a segurança do alimento; avalia as medidas de controle aplicáveis ao perigo e estabelece sistemas que se concentram na prevenção mais do que na averiguação e inspeção do produto final que permitem só a correção de processo. O APPCC é capaz de acomodar mudanças, tais como avanços nos modelos de equipamentos, procedimentos de processamento ou desenvolvimento tecnológico (FAO, 1996a).

A prevenção, nesse modelo, é ativa e possui três elementos chaves: o conhecimento dos perigos associados a um determinado processamento e à matéria prima, o projeto de soluções preventivas e o controle com base nas medidas aplicáveis. O sistema APPCC envolve soluções projetadas e sistematizadas à priori e depende em parte da construção e manutenção de uma base de conhecimentos tecnológicos adequados e atualizados, que possam dar soluções aos problemas. Desta forma, o sucesso do sistema APPCC e sua filosofia de prevenção dependerão, em larga escala, da qualidade da ciência que o sustenta e da habilidade da empresa em antecipar problemas e projetar soluções tecnológicas. A etapa de análise de

perigos inclui o exame detalhado de procedimentos, manuseio e equipamento com o propósito de identificar os perigos associados a um determinado processamento (FAO, 1996a).

2.1.1- Histórico

O sistema APPCC está primeiramente associado ao Dr. W.E. Deming, cujas teorias de gerenciamento de qualidade foram desenvolvidas para melhorar a qualidade e reduzir custos num sistema de manufatura. O Dr. Deming e outros desenvolveram o sistema de "Total Quality Management" (TQM) no Japão na década de 50. Quando a "National Administration Space and Aeronautic"(NASA) nos Estados Unidos, estabeleceu como prioridade, no início dos anos 60, o estudo da segurança da saúde dos astronautas, no sentido de eliminar a possibilidade de enfermidades durante a permanência no espaço, os conceitos do Dr. Deming foram analisados e desenvolvidos (FAO, 1998).

A Companhia Pillsbury juntamente com a NASA e com os Laboratórios Natick do Exército dos Estados Unidos desenvolveram o sistema APPCC, oficialmente para o programa espacial, a fim de obter um suprimento alimentar seguro do ponto de vista de doenças veiculadas por alimentos (DELAZARI, 1996; VAIL, 1994).

O sistema foi apresentado publicamente, pela primeira vez nos Estados Unidos, durante uma Conferência Nacional sobre Proteção de Alimentos em 1971, e logo serviu como base para que a "Food and Drug Administration" (FDA) desenvolvesse a regulamentação para a indústria de alimentos de baixa acidez enlatados, devido a diversos incidentes com o botulismo (DELAZARI, 1996; VAIL, 1994). Em 1985, a Academia Nacional de Ciência dos Estados Unidos recomendou o uso do Sistema HACCP em programas de proteção de alimentos sugerindo que tanto o pessoal das

indústrias de alimentos como dos órgãos governamentais fossem treinados no sistema (DELAZARI, 1996).

Grupos científicos consultivos tais como NACMCF " National Advisory Comittee on Microbiological Criteria for Food" e o "Codex Alimentarius Commisson" trabalham juntos para desenvolver e harmonizar cientificamente os regulamentos que dizem respeito à segurança dos alimentos. O conceito APPCC é definido como uma maneira de garantir a segurança do alimento do ponto de vista de saúde pública (DELAZARI, 1996; KNABEL, 1995).

Reconhecendo a importância do sistema APPCC para o controle de alimentos, a 20ª sessão do Codex Alimentarius realizada em Genebra, de 28 de junho a 7 de julho de 1993, adotou diretrizes para aplicação deste sistema, como anexo aos Princípios Gerais de Higiene Alimentar. Em dezembro de 1994 teve início um programa de capacitação de multiplicadores em APPCC (FAO, 1998).

O Codex Alimentarius é o padrão legal para resolução de pendências no âmbito da Organização Mundial de Comércio (OMC) que tem por objetivo facilitar o trânsito de mercadorias através da redução ou eliminação de tarifas e burocracias. Esse complexo comercial que já é realidade e tende a ser ampliado, entre os acordos: Comunidade Européia, NAFTA (North American Free Trade Agreement), a Comunidade Caribenha, o MERCOSUL, o Pacto Andino (Bolívia, Colômbia, Equador e Peru), e mercados bilaterais entre países, e acordos entre países da América Central e do Sul (LUPIEN, 1996).

Em 1° de janeiro de 1993 o Mercado Europeu foi formalmente iniciado com um potencial de demanda para consumo estimado de 500-600 milhões de pessoas. A criação desse mercado foi possível somente após a remoção de diversos obstáculos, entre eles: regulamentação técnica, requerimentos

de segurança e saúde, validade dos testes e uso deles todos para proposta de proteção (CARDINALI & LUPIERI, 1996). Em 14 de dezembro de 1995, todas as companhias na União Européia deveriam possuir um efetivo sistema APPCC. Isso resultou de uma preocupação diretiva quanto à higiene alimentar (EEC directive 93/ 43) a qual foi aprovada em 14 de junho pelo "Council of Europe". De concreto significava que nessa data não só as grandes e médias companhias deveriam ter um plano APPCC como também toda pequena empresa, incluindo estabelecimentos fornecedores (VINK, 1994).

Em dezembro de 1995, o FDA estabeleceu a regra final para o sistema APPCC para a indústria de pescado. Esses regulamentos entraram em vigor em 18 dezembro de 1997. O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) também estabeleceu o sistema APPCC para a indústria de carne e frango. Em estabelecimentos grandes, foi requerido o início do sistema APPCC em 1998, para pequenas indústrias até 1999 e para plantas muito pequenas até 25 de janeiro de 2000 (FDA, 1997).

Atualmente, o FDA está desenvolvendo um programa piloto com indústrias voluntárias na implantação do sistema APPCC como por exemplo: queijos, massas congeladas, cereais matinais, molhos de saladas e outros produtos. Os princípios do APPCC foram incorporados ao "Food Code" que serve como modelo de legislação para agências estaduais e federais que licenciam e inspecionam os alimentos, seu modo de produção, seu comércio no varejo (lojas e pontos de rua) nos Estados Unidos (FDA, 1997).

No Brasil, a Portaria n°1428, de 26/12/1993 (BRASIL, 1993), adota a prática da fiscalização sanitária de alimentos com bases nas ações de vigilância sanitária que devem:

1. integrar essas ações e as avaliações de risco epidemiológico dentro das prioridades locais, segundo as determinações do Sistema Único de Saúde (SUS);

2. utilizar a inspeção como instrumento da fiscalização sanitária, abrangendo o conjunto de etapas que compõem a cadeia alimentar, incluindo suas inter-relações com o meio-ambiente e seu contexto sócio-econômico e
3. objetivar a proteção e defesa da saúde do consumidor em caráter preventivo, através da prática da inspeção sanitária.

Nessa portaria há a regulamentação da inspeção sanitária de alimentos, com o objetivo de estabelecer as orientações necessárias que permitam executar as atividades de inspeção sanitária, de forma a avaliar as Boas Práticas de Produção e serviços na área de alimentos com vistas à proteção da saúde da população, para estimar especificamente a eficácia e a efetividade dos processos, meios e instalações, assim como dos controles utilizados na produção, armazenagem, transporte, distribuição, comercialização e consumo de alimentos, através do Sistema de Avaliação dos Perigos e Pontos Críticos de Controle.

2.1.2- Importância do sistema APPCC

A necessidade do sistema APPCC está no fato de que novos contaminantes surgem no suprimento alimentar, sendo um dos mais importantes o aparecimento de novos patógenos alimentares, como a *Escherichia coli* 0157:H7 e Salmonella Enteritidis, bactérias não reconhecidas previamente como patógenas que passaram a exercer esse papel causando enfermidades e tornando-se disseminadas. A contaminação química do alimento também é uma preocupação em saúde pública como por exemplo: os efeitos do chumbo no sistema hematopoético, ou o efeito do uso reiterado de alimentos que contenham micotoxinas. Outro fator importante para o emprego do APPCC é o tamanho do parque industrial do setor alimentício e a diversidade de produtos e processamentos que tem crescido ultimamente. O controle alimentar está ligado à melhoria da saúde da população, ao potencial de desenvolvimento econômico do país e a

redução de perdas no setor alimentício (FDA, 1997; MOTARJEMI, *et al.*; 1996; KNABEL, 1995).

Segundo o Codex Alimentarius os requisitos para os Princípios Gerais de Higiene de Alimentos são considerados pré-requisitos para o desenvolvimento do sistema com base no APPCC para garantir a segurança alimentar. Estes pré-requisitos são considerados como etapas definidas, universais ou procedimentos que controlam as condições operacionais dentro de um estabelecimento de alimentos, considerando também as condições ambientais favoráveis para a produção de um alimento seguro. O propósito do sistema APPCC é o de identificar ingredientes, áreas ou procedimentos sensíveis na manufatura de um produto (FAO, 1996 a).

O sistema APPCC está baseado nos seguintes princípios:

1. Identificação dos perigos significativos e suas medidas de controle;
2. Identificação dos pontos de controle críticos (PCC);
3. Definição dos limites críticos com base nas medidas de controle aplicáveis no PCC;
4. Definição dos procedimentos de monitoração dos PCCs;
5. Definição das ações corretivas quando houver desvios do limite crítico;
6. Estabelecimento dos procedimentos efetivos de registros e documentação;
7. Estabelecimento dos procedimentos de verificação de que o sistema está funcionando e é eficaz no controle dos perigos.

Uma vez que o sistema APPCC se aplica a todo segmento e setor da cadeia alimentar, conclui-se que todos os setores devam operar de acordo com as boas práticas de produção (BPM), de acordo com os Princípios Gerais de Higiene Alimentar do Codex. A habilidade de um segmento ou setor da indústria em sustentar ou implantar o sistema APPCC depende do grau de sua aderência à essas práticas. Uma das características mais

importantes de controle é que eles permitem a rastreabilidade dos resultados no decorrer do tempo (FAO, 1996a).

2.2- TRIGO

2.2.1- Aspectos Gerais

O trigo pertence à família das Gramíneas, à tribo Hordeae e ao gênero *Triticum*. A maioria dos trigos utilizados consiste de 3 espécies: *Triticum aestivum* L., que domina a produção mundial; *Triticum compactum* Host. e *Triticum durum* Dest. O *Triticum aestivum* é dividido em 4 classes: Hard Red Winter, Hard Red Spring, Soft Red Winter e o Soft Red Spring (MATTERN, 1991). Suas flores reúnem-se em espículas, que se congregam em espigas compostas. Os frutos, Figura1 são cariopses ricos em amido com as quais se preparam a farinha de trigo (KENT, 1994).

O trigo é o cereal mais utilizado pelo homem, por ser o único que tem a propriedade da panificação. As proteínas existentes no trigo, quando ativadas formam uma malha capaz de reter os gases formados no processo de fermentação, tornando a massa leve, aromática e muito agradável ao paladar. Tal propriedade faz do trigo o cereal ímpar na alimentação do homem sendo uma das principais culturas econômicas do mundo.

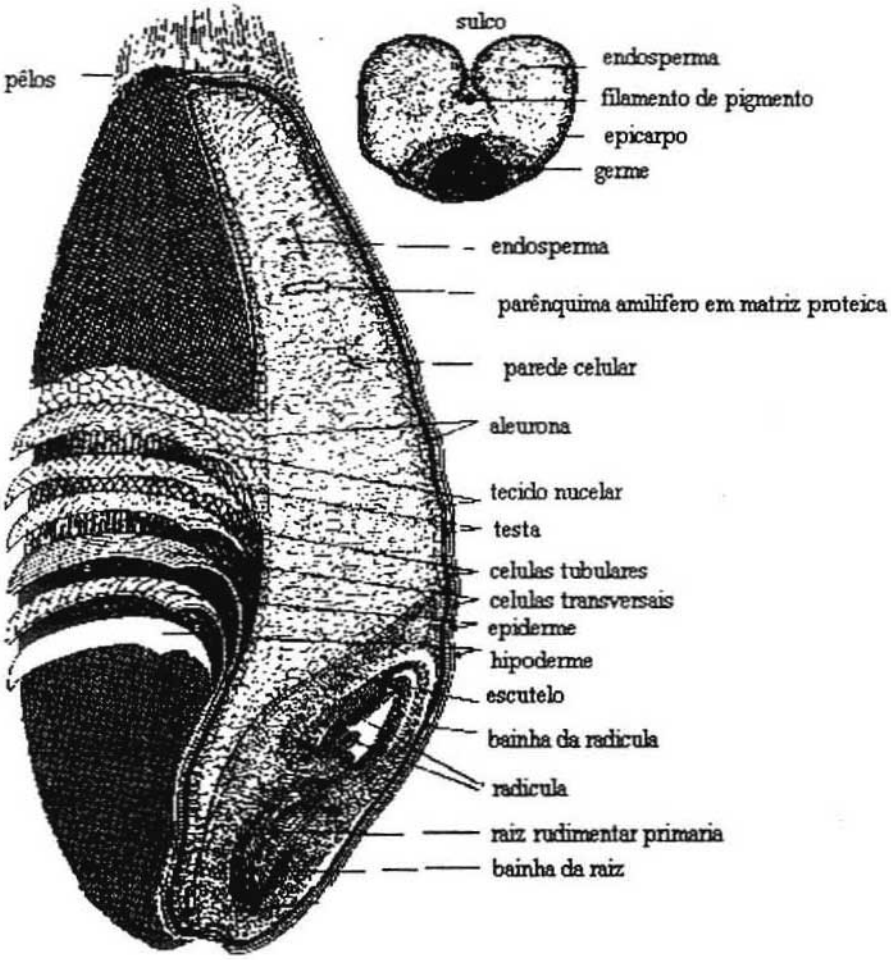


FIGURA-1 - Corte longitudinal e transversal de um grão de trigo (MATTERN, 1991).

O Departamento de Agricultura dos EUA (USDA) estimou a oferta mundial de trigo na temporada comercial de 1998/1999 (iniciada em 1 de junho de 1998) em 725,1 milhões de toneladas, 0,4% acima do período anterior. O aumento foi devido ao incremento dos estoques, uma vez que a produção está recuando 3,7% ficando em 588,3 milhões de toneladas. A queda da safra de 1998/1999 ocorreu principalmente na Rússia, Czaquistão e Argentina (RCW consultores, 1999).

Para a Argentina, o USDA estimou uma redução de 29,1% para safra 98/99, ficando a colheita em torno de 10,5 milhões de toneladas. A safra argentina foi afetada pelas chuvas em cerca de 40% da área plantada e as altas temperaturas reinantes no período maiores que 20° C. Além dos fatores climáticos, soma-se o fato que os produtores argentinos reduziram a área plantada em 18,8% em relação ao ano anterior (RCW consultores, 1999).

No Brasil, os dados do primeiro levantamento de intenção de plantio da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), projetavam para a cultura do trigo uma estabilidade de área plantada. A produção a ser colhida deve ser de 2,6 milhões de toneladas, 13% acima da safra anterior. A previsão de consumo, segundo dados do governo brasileiro deveria chegar a 8,7 milhões de toneladas, para o período de 1998/1999 totalizando um aumento de 0,6 %. Desta forma, para suprir o mercado interno, a importação deveria girar em torno de 6,1 milhões de toneladas, 1,0% acima do ano comercial anterior (CONAB, 1999).

No Brasil, mais de 95% do trigo é produzido no Paraná e no Rio Grande do Sul, onde o consumo, juntamente com Santa Catarina, não ultrapassa 23% do montante nacional e atualmente sendo plantado também no centro-oeste brasileiro. A Argentina é um dos maiores produtores do mundo e seus baixos custos de produção tornam a competição do trigo brasileiro muito difícil. A existência do Mercosul e a plena integração

territorial resultante facilitaram o comércio de trigo entre os dois países (LEAL, 1995).

2.2.2- Identificação e caracterização do perigo relacionado ao trigo

Esse primeiro princípio do sistema APPCC requer a identificação do perigo, compreensão de sua potencialidade e o impacto em termos de saúde pública. Essas informações podem ser obtidas por levantamentos bibliográficos, dados epidemiológicos, intoxicações, serviço de atendimento a clientes da própria indústria e outros (FAO, 1996b). Como a farinha de trigo integral tem como matéria prima o trigo, é importante observar os riscos associados ao trigo.

Os fungos produzem substâncias de estrutura química e atividades biológicas variadas. Tais substâncias são os metabólitos secundários formados durante o desenvolvimento dos fungos nos alimentos. Alguns desses metabólitos são desejáveis como em alguns queijos, enquanto outros são antibióticos importantes como a penicilina (SHIBAMOTO & BJELDANES, 1993). Entretanto, alguns fungos podem produzir substâncias que causam respostas tóxicas, micotoxicoses, quando ingeridas por vertebrados e outros animais. A ingestão de micotoxinas em humanos, ocorre principalmente nos alimentos vegetais ou nos produtos animais que secretam ou que apresentam em seus tecidos esses metabólitos, resultante de uma alimentação contaminada por algum tipo de micotoxina (SWEENEY & DOBSON, 1998).

As micotoxinas são resistentes a tratamentos físicos e químicos. Uma vez produzidas, podem permanecer no alimento durante o armazenamento e processamento (FILTENBORG *et al.*, 1996). A natureza e extensão da contaminação por fungos toxigênicos determinará a presença ou ausência de micotoxinas no produto final. É importante lembrar que:

1. a presença do fungo não assegura que ele tenha produzido a micotoxina ;
2. uma determinada micotoxina pode persistir num produto mesmo na ausência do fungo que a produziu;
3. um determinado fungo pode ser capaz de produzir mais de uma toxina;
4. uma determinada toxina pode ser produzida por diferentes gêneros de fungos (SANCHIS & SANTAMARINA, 1992).

2.2.2.1- Desoxinivalenol (DON)

Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1990) os tricotecenos são micotoxinas que possuem uma estrutura química caracterizada por um sistema básico tetracíclico scirpenol. Um total de 148 tricotecenos foram isolados de cultura de fungos. Podem ser divididos convenientemente em 4 categorias de acordo com a similaridade do grupo funcional:

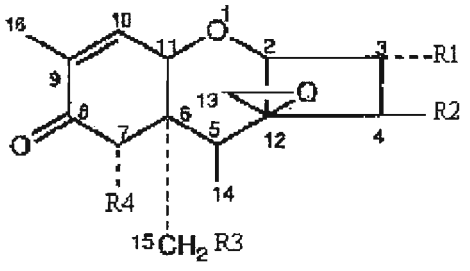
- Tipo A com função cetona no C-8;
- Tipo B com função carbonila no C-8;
- Tipo C com grupo epóxido em C-7 e C-8 ou C-9 e C-10;
- Tipo D com anel macrocíclico entre C-4 e C-15 com duas ligações éster.

A Figura 2 mostra a estrutura dos tricotecenos do grupo B onde está incluído o DON. Esses compostos são produzidos principalmente por fungos do gênero *Fusarium*, mas também por outros gêneros como: *Trichoderma*, *Trichotecium*, *Myrothecium* e *Cephalosporium*. Entre os tricotecenos produzidos pelas espécies de *Fusarium* quatro ocorrem naturalmente em cereais e causam micotoxicoses em animais e possivelmente em humanos: os tricotecenos do tipo A: Diacetoxyscirpenol (DAS) e Toxina T-2 (T-2) e do tipo B: Desoxinivalenol (DON) e Nivalenol (NIV).

Os tricotecenos são micotoxinas capazes de produzir vários efeitos tóxicos. O DON é um tricoteceno presente mundialmente em culturas vegetais utilizadas para consumo humano e animal. Embora não seja tão tóxico como Toxina T-2, deve ser tratado como um tema importante para a segurança alimentar pois é um contaminante freqüente em grãos de cereais (WHO, 1990).

O DON foi isolado e caracterizado em 1972, por pesquisadores japoneses, da cevada infectada por fungos do gênero *Fusarium* spp, e de milho mofado que foi recusado por porcos nos USA, por Visonder *et al.* em 1973 (MARASAS, 1994).

Tricotecenos do tipo B



Nome	R1	R2	R3	R4
Desoxinivalenol	OH	H	OH	OH
Nivalenol	OH	OH	OH	OH
Tricotecina	H	OCOCH=CHCH3 .	H	OH
Fusarenona-X	OH	OAc	OH	OH

FIGURA 2 -Estrutura química do desoxinivalenol (DON) e outros tricotecenos do grupo B (WHO, 1990).

No Brasil, em 1980, foi realizado um "workshop" sobre micotoxinas, onde foi decidida a implantação de um programa de monitoramento para controlar micotoxinas nos produtos alimentícios com os seguintes objetivos: a) garantir que a saúde do público e animais está segura e que autoridades estejam devidamente informadas; b) assegurar que os produtos de agricultura oferecidos para exportação, não fossem rejeitados pela

importação de países devido a contaminação por micotoxinas; c) promover um sistema de educação e treinamento de produtores, manufaturadores, distribuidores e consumidores, na detecção e prevenção de contaminação por micotoxina (SABINO & RODRIGUEZ-AMAYA, 1993).

A produção desses metabólitos depende de muitos fatores, incluindo o substrato utilizado pelo fungo toxigênico, temperatura, umidade, etc. A taxonomia das várias espécies desses fungos é complexa e tem levado a muitos enganos no que se refere as espécies de *Fusarium* responsáveis pela produção de vários tricotecenos (PITT & HOCKING, 1997).

Os tricotecenos foram implicados numa micotoxicose descrita na União Soviética que causou grande sofrimento humano, a aleucia tóxica alimentar (ATA), relatada nesse país, desde o século 19. Nos surtos registrados em 1913, 1932 e no final da segunda Guerra Mundial, os sintomas apresentados foram: febre, hemorragia, sangramento de nariz, garganta e gengiva; angina necrótica, leucopenia extrema, agranulocitose, sepsia, e modificação da medula óssea. Os surtos se apresentaram de forma rápida e os índices de mortalidade foram sempre maiores que 50% (SHIBAMOTO & BJELDANES, 1993).

Num caso relatado por MIROCHA *et al.*, 1983 uma vila quase foi aniquilada onde a população consumiu pão elaborado com grãos que haviam permanecido no campo durante o inverno, e se encontravam infectados por *Fusarium* spp.

Estudos realizados por diferentes pesquisadores relatam que os fungos do gênero *Fusarium* produziram o maior número de isolamentos, com efeitos tóxicos, em peles de coelho. As espécies de maior freqüência associadas com ATA foram: *Fusarium poae* e *Fusarium sporotrichioides* (também chamado *F. tricintum*), que são espécies comuns de fungos com

capacidade em produzir substâncias tóxicas (SHIBAMOTO & BJELDANES, 1993).

Na literatura há menção de casos de surtos registrados associados ao DON e a outros tricotecenos. Na China, o consumo de pão elaborado com trigo contaminado em concentrações de 1.0 a 4.0 μg/g de DON deu origem a sintomas gastrintestinais, sem nenhum caso fatal. Os pacientes se tornaram doentes após ingerir pão produzido com cereal infectado por *Fusarium*, o qual chamaram apropriadamente de "pão bêbado". Os porcos e galinhas que se alimentaram de sobras também foram afetados (MIROCHA *et al.*,1983).

Um surto também ocorreu na Índia, associado com o consumo de pão elaborado com trigo contaminado. A doença foi caracterizada por sintomas gastrintestinais e irritação de garganta, a qual foi desenvolvida em 15 minutos a uma hora após a ingestão de pão (BHAT *et al.*, 1989).

O DON está associado com à síndrome da recusa alimentar em suínos. As rações que contêm mais do que 1 μg/g de DON podem resultar em reduções significantes no consumo de ração por suínos. O gado leiteiro é menos susceptível à essa micotoxina. Em galinhas foram observados efeitos nocivos em concentrações maiores que 18 μg/g de DON; nenhum resíduo foi detectado em ovos frescos. Em perus, nenhum efeito foi detectado até concentração de 5 μg/g (WHO, 1990).

O FDA estabeleceu níveis recomendados para DON (QUADRO 1) em rações. Para produtos derivados de trigo (ex.: farinha, farelo e germe) foi recomendado o limite de1 μg/g de DON. O FDA não estabeleceu níveis para trigo que sofrerá moagem devido às práticas de manufatura e da tecnologia adicional disponível dos moinhos que podem reduzir os níveis de DON no produto final (MERONUCK, 1997).

QUADRO 1 - Níveis recomendados de desoxinivalenol para rações (MERONUCK, 1997).

Classe de animais	**Porção da dieta**	**Níveis máximos de DON**
Ruminantes e gado mais velhos que 4 meses	Grãos & subprodutos de grãos que não exceda a 50% da dieta	10 μg/g
Frangos	Grãos & subprodutos de grãos que não exceda a 50% da dieta	10 μg/g
Suínos	Grãos & subprodutos de grãos que não exceda a 20% da dieta	5 μg/g
Demais	Grão s &subprodutos de grãos que não exceda a 40% da dieta	5 μg/g

Segundo MARASAS (1994), os tricotecenos são difíceis de serem analisados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) ou por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) porque não apresentam fluorescência na luz ultravioleta (UV). A cromatografia gasosa (CG) combinada à espectrometria de massa utilizando SIM (Select Ion Monitoring) é a técnica recomendada para análise de tricotecenos em cereais, alimentos e rações. Alternativamente, a CG pode ser utilizada com detector de captura de elétrons.

TANAKA *et al.*(1988), realizaram um levantamento mundial da contaminação por DON e NIV, onde foram analisadas 500 amostras de grãos de cereais provenientes de 19 países utilizando-se um único método analítico. Dessas amostras 45-50% estavam contaminadas por DON e NIV, sendo o trigo o cereal mais contaminado por DON. Houveram diferenças regionais evidentes na distribuição de DON e NIV. Por exemplo: no Canadá e USA foi raro encontrar NIV, enquanto que no Japão foi mais freqüente. Dentro do Japão, a região norte apresentou maior quantidade de DON que a

região sul; no Canadá, a região leste do país apresentou mais DON que a região oeste.

SHOTWELL *et al.*(1985) verificaram a alta correlação da ocorrência de DON com o percentual total de grãos avariados por fungos, com o percentual de defeitos totais, e com o grau de "scab". De acordo com MIROCHA *et al.,* (1983) o DON é o tricoteceno mais encontrado naturalmente, particularmente em trigo e milho onde está associado com zearalenona.

Numa revisão elaborada por RESNIK *et al.(*1995), foi mostrado que na América Latina e Caribe há uma grande variação de micotoxinas em alimentos e rações. Esses contaminantes naturais aparecem tanto no campo como no manuseio das matérias primas e nos produtos finais.

Na Argentina, a contaminação de trigo da principal zona produtora, representando 123000 toneladas (amostras colhidas durante a colheita de 1986/1987) mostrou que zearalenona esteve presente em 29% das amostras (50-1800 ng/g), e o desoxinivalenol DON em 64% (90-2400 ng/g) (RESNIK *et al.*,1995).

HART & BRASELTON (1983), estudaram a distribuição de DON nas frações da moagem de trigo infectado por *Giberella zeae* e contaminados por DON. Os resultados mostraram que 65% de DON se encontrava na farinha e 35% em outras frações. Entretanto, as condições de preparação de moagem utilizadas foram diferentes das utilizadas comercialmente.

Em outro estudo ABBAS *et al.*(1985), obtiveram dados contraditórios da pesquisa acima mencionada. Concluíram que a limpeza e moagem não foram efetivas, o farelo apresentou a maior concentração e a farinha a menor. O DON não foi destruído no assamento de produtos derivados elaborados com farinha de trigo integral provenientes desses grãos.

NEIRA *et al.*(1997), avaliaram a influência do processo de panificação na contaminação inicial de DON. Foram analisadas 92 amostras de 4 lotes de oito diferentes tipos de produtos numa panificadora de baixa tecnologia. Os produtos finais, assim como as correspondentes farinhas, massas e massas fermentadas foram analisadas. As análises foram realizadas em CCD e a confirmação feita em cromatografia gasosa por captura de elétron. Os resultados mostraram uma correlação positiva entre o nível de contaminação inicial e a redução de DON após a fermentação.

WOLF-HALL *et al.*(1999), estudaram os efeitos das altas temperaturas e pressão no processamento de alimentos contaminados com DON. Em rações caninas à base de milho, elaboradas por extrusão a seco e a úmido, não houve redução significativa ($p<0,05$) na concentração de DON após o processamento. O procedimento que utilizou a autoclave mostrou uma redução de DON em 12%, sendo estável a altas temperaturas e pressão testadas. Nesse mesmo trabalho, foi estudada a metodologia analítica de imunoensaio para quantificação de DON, modificada pela adição de alfa amilase que melhorou em 26% a recuperação do método.

2.2.2.2- Toxicologia do DON

O DON induz efeitos toxicológicos e imunotóxicos em vários sistemas celulares de animais. O principal efeito tóxico na célula é a inibição da síntese proteica pela ligação aos ribossomos. Em animais, as ingestões baixa e moderada baixa podem causar um número de efeitos associados com redução da função imune. O principal efeito à baixas concentrações na dieta, parece ser a redução do consumo alimentar (anorexia), enquanto que grandes doses induzem ao vômito (emesis). O DON é conhecido por alterar a neuroquímica do cérebro. O sistema serotoninérgico parece desempenhar um papel na mediação do comportamento alimentar e resposta emética. À baixas doses o DON provoca mudanças hematológicas clínicas e

imunológicas que são transitórias e decrescem por mecanismos de compensação e adaptação estabelecidos pelo organismo (ROTTER *et al.*, 1996).

Os suínos são mais sensíveis ao DON que camundongos, galináceos e ruminantes, em parte devido a diferenças em seu metabolismo, sendo os machos mais sensíveis que as fêmeas. A capacidade do DON de alterar a função do sistema imune tem sido de particular interesse. Há grandes evidências que possa ser imunosupressor ou imunoestimulatório dependendo da dose e da duração da exposição. In vivo, o DON suprime a resposta normal imune a patógenos e simultaneamente induz efeitos autoimunes que são similares à nefropatia humana imunoglobulina A (IgA) (ROTTER *et al.*, 1996).

Outros efeitos incluem a superindução da produção de citocinas pelas células auxiliadoras T (in vitro) e a ativação de macrófagos. Embora esses efeitos sejam amplamente caracterizados em ratos, várias investigações com DON sugerem que os efeitos imunotóxicos são também extendidos a animais domésticos (ROTTER *et al.*, 1996).

THUVANDER *et al.*(1999), estudaram in vitro a exposição de linfócitos humanos à tricotecenos (T-2, DAS, NIV e DON). As 4 micotoxinas inibiram a proliferação de linfócitos , não havendo diferenças estatísticas significativas entre homens e mulheres. Mas, esse estudo revelou que a exposição combinada de tricotecenos pode apresentar efeitos de adição ou de antagonismo e que efeitos sinergísticos não foram descartados e deverão ser avaliados futuramente.

Estudos sobre o metabolismo de tricotecenos têm demonstrado que são rapidamente absorvidos pelo trato gastrintestinal, mas não existem dados quantitativos disponíveis. As toxinas são distribuídas amplamente pelo organismo sem acúmulo específico em um órgão ou tecido. Os

tricotecenos são transformados em metabólitos menos tóxicos. O DON é eliminado nas fezes e urina (WHO, 1990).

JOFFE apud MIROCHA *et al.*(1983), descreveu o efeito do DON em humanos: os pacientes sentem primeiramente uma sensação de queimadura na boca, esôfago e estômago, seguido por vômitos, diarréia e dor abdominal; em uma segunda fase há um acentuado decréscimo nos leucócitos, agranulopenia e linfocitose; num terceiro estágio, hemorragias petequiais se desenvolvem nas várias partes superiores do corpo e áreas necrosadas que se desenvolvem na garganta; no quarto estágio é a convalescência ou morte e, se os pacientes sobrevivem, pode demorar mais de 2 meses para a medula óssea voltar à sua capacidade normal de produção sangüínea.

Conforme pesquisado por SABINO (1996) no Brasil, a micotoxina mais estudada até 1995 foi a aflatoxina, onde há uma série de relatos em amendoim e subprodutos. A legislação brasileira para aflatoxinas nos alimentos permite uma concentração de 30ng/g para a somatória de aflatoxinas B1e G1; na Argentina, para amendoim, milho e subprodutos, o limite é 5ng/g da aflatoxina B1 ou 20ng/g como somatória das aflatoxinas B1,B2,G1 e G2, ausência da aflatoxina B1 em alimentos para bebês, 0,05ng/g para aflatoxina M1 no leite e 0,5ng/g M1 em produtos de leite e 30ng/g da aflatoxina B1 para alimentos à base de soja (RESNIK *et al.*,1995).

Os países integrantes do MERCOSUL (Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai) estabeleceram os limites máximos tolerados para aflatoxinas em leite, leite em pó, milho, farinha de milho, amendoim e pasta de amendoim, através da Resolução MERCOSUL/ GMC/ Res.nº 56/94. Esta resolução, além de estabelecer os limites máximos para as aflatoxinas definiu também os planos de amostragem e metodologia analítica. Para tricotecenos não há legislação (SABINO,1996).

No Brasil, vários autores pesquisaram DON em trigo e derivados (SABINO 1989, FURLONG *et al.*, 1995, SOARES VALENTE & FURLANI 1996, VIEIRA *et al.*, 1999) nenhum estudo mostrou o mesmo percentual de amostras positivas para DON, quando comparado ao da literatura internacional.

2.2.2.3 Ácaros Alergênicos

Alguns autores consideram que os artrópodes que habitam os produtos armazenados não causam perigos à saúde humana, sendo rotineiramente consumidos com aparente inocuidade. Entretanto, há exemplos reconhecidos onde o consumo ou a exposição dos alimentos aos artrópodes ou seus produtos podem ser um perigo potencial significativo a consumidores sensíveis (WIRTZ,1991).

Pesquisas sobre doenças alérgicas sugerem que os artrópodes podem ter uma maior significância na saúde humana do que havia sido previamente reconhecido. A alergia à baratas e a outros artrópodes foi documentada somente nas três últimas décadas. BERNTON *et al.*(1972) e BERNTON & BROWN (1970) apud BRENNER (1991), demonstraram que as baratas depositam quantidades mensuráveis de alérgenos durante o simples ato de atravessar um prato ou de mastigar um biscoito. Esses alérgenos são estáveis mesmo após exposição à 100 °C (água fervente) por uma hora. As alergias ou hipersensibilizações, são conhecidas por resultar de contato dérmico ou por inalação de materiais alergênicos. Sabe-se que a ingestão de alergenos também podem resultar em hipersensibilização.

A probabilidade de um artrópode desenvolver alergia está relacionada com muitos fatores, incluindo predisposição genética, fonte de alérgenos (espécies de artrópodes) e duração da exposição a eles. Asmáticos são os que correm maior risco. Dados recentes indicam que a maior parte das

alergias de asmáticos é causada por ácaros de casa (*Dermatophagoides* spp) seguida de alergias a baratas (BRENNER, 1991).

Os ácaros alergênicos são assuntos emergentes em segurança alimentar, OLSEN (1998) realizou uma revisão na literatura para a política regulatória do FDA na área de matérias estranhas em alimentos. Quatro espécies de ácaros contaminantes de alimentos foram reportados recentemente, pelo autor acima citado, ser causadores de reações alérgicas, incluindo anafilaxia, em indivíduos que consumiram alimentos infestados por ácaros. Os ácaros são os da poeira doméstica: *Dermatophagoides farinae* Hughes (Acarina: Pyroglyphidae), *Suidasia* sp prob. *pontifica* Oudemans (Acarina:Suidasiidae), *Tyrophagus entomophagus* Portus&Gomez (Acarina:Acaridae) e o ácaro dos bolores *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank)(Acarina: Acaridae).

2.2.3- Fatores que propiciam o desenvolvimento de fungos e a produção de micotoxinas

Os grãos armazenados formam um ecossistema artificial elaborado pelo homem, no qual mudanças nutricionais e na qualidade poderão ocorrer devido a interações entre fatores físicos, químicos e biológicos. Num armazém, os grãos são os produtores de energia e os animais que se alimentam destes grãos são os consumidores. A maior parte dos consumidores num armazém são insetos, ácaros, roedores e às vezes, aves e outros animais. Os decompositores incluem os fungos, bactérias, e outros microrganismos que transformam o material biológico em seus elementos originais (JAYAS *et al.*, 1997).

Os fungos, ácaros e insetos se reproduzem em pontos dentro do volume de grãos. O metabolismo desses organismos produz calor e vapor de água (FERTENSTEIN, 1966), tornando o ambiente ao redor desses pontos capaz de permitir a germinação e a formação de toxina por esporos

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

de fungos xerofílicos (MAGAN *et al.,* 1984). Isso é o princípio de uma reação em cadeia, que poderá resultar numa colonização por fungos, actinomicetos e bactérias. Esse tipo de deterioração pode ser controlada por aeração durante o armazenamento nos silos (SAUER & BURROUGHS, 1980) entretanto, poderá haver problemas durante o transporte de grãos, em navios.

2.2.3.1- Atividade de água

A água presente nos tecidos vegetais e animais pode se apresentar disponível (água livre) ou não disponível (água ligada). A experiência demonstrou que a água ligada pode estar mais fortemente ligada ou não aos constituintes do alimento, desta forma a água presente é importante para estabilidade do produto (CHEFTEL & CHEFTEL, 1989). Os produtos que não apresentam moléculas de água disponível tem Aw igual a 0, enquanto que a água pura apresenta Aw igual a 1.

Os grãos de trigo, por serem higroscópicos, têm a propriedade de ceder água ao meio ambiente ou absorver umidade do ar que os envolve. A umidade dos grãos permanece em equilíbrio com uma determinada umidade relativa, numa determinada temperatura. No ponto de equilíbrio, a pressão de vapor d'água dentro do grão é igual à do vapor d'água contida no ar. Quando os grãos e o ar não estão em equilíbrio, a umidade se movimenta da maior pressão para a de menor pressão, até estas se igualarem (FRANZOLIN, 1998).

A Umidade Relativa (UR) é a umidade de equilíbrio entre o ambiente e o produto. A atividade de água (Aw) é o fator mais significante na composição dos alimentos e está relacionada a água biológicamente disponível no grão e à umidade relativa (UR) do ar intergranular. Os grãos são misturados e combinados a partir da colheita para atingir um certo teor de umidade ou para atender a certas especificações (SAUER *et al.*, 1992)

Na prática, o teor de umidade dos grãos é expresso em termos de umidade absoluta do produto (SCUSSEL, 1998) e é utilizado pelas indústrias de moagem de trigo. O teor de umidade afeta os custos e é importante para o acondicionamento e preparação dos grãos para moagem. Uma das grandes responsabilidades de um gerente que manuseia a produção de farinha é reconhecer lotes de grãos de alto risco e saber como manejá-los para produzir estoques saudáveis de alimentos e reduzir perdas econômicas, baseado nessa informação (SAUER *et al.*, 1992).

A uniformidade da umidade do volume de grãos é um conceito, não um fato. O grande problema é conseguir amostras representativas desse volume de grãos. Na colheita, os grãos de diferentes locais em um único campo podem variar em conteúdo de umidade, e até uma mesma espiga pode conter grãos com diferentes teores de umidade (SAUER *et al.*, 1992).

2.2.3.2- Campo, Armazém e Transporte

O trigo é cultivado em climas secos e moderados, entre as latitudes 30° a 60° Norte e 27° a 40° Sul (ICMSF, 1988). Após a colheita no campo, os grãos são secos para diminuir o conteúdo de água evitando assim o desenvolvimento de fungos e o ataque de insetos. O ponto ideal é obtido quando o conteúdo de água for suficientemente baixo, para diminuir a atividade respiratória dos grãos, e assim o calor metabólico será dissipado tão rapidamente que não ocorrerá elevação da temperatura no volume total de grãos. Desta forma, os mesmos estarão estáveis por anos, e não sofrerão perda de peso ou deterioração microbiológica, se forem providos de boas condições de armazenamento (MOSSEL, 1988).

A colonização de grãos por microrganismos começa logo após a emergência da espiga e continua no armazenamento. Contudo, a colheita provoca uma profunda mudança nos fatores ecológicos que afetam o

crescimento microbiano e resulta em marcada mudança da microbiota (FONSECA, 1997).

Ajustes impróprios na colhedeira e debulhadeira podem causar danos mecânicos aos grãos. Este fato pode ser agravado se os grãos apresentarem teores de umidade muito altos ou muito baixos. Equipamentos que não são propriamente operados ou regulados podem danificar os grãos. Descarregadores pneumáticos devem ser propriamente projetados para minimizar quebras. O epicarpo do trigo pode ser danificado pelo frio, excessiva umidade, mudanças rápidas no conteúdo de umidade e aplicação de produtos químicos no campo. O epicarpo provê aos grãos uma proteção natural contra fungos invasores. Grãos quebrados, cortados e desgastados são locais ideais para o fungo iniciar o desenvolvimento. A falta de ajuste, também pode aumentar a quantidade de material estranho aos grãos. Os materiais estranhos tais como terra, sementes tóxicas e fragmentos de plantas podem funcionar como fonte de infecção, umidade e calor (JAYAS *et al.*, 1997).

As áreas de produção mundial de trigo nem sempre estão próximas aos mercados consumidores. Os grãos importados são transportados em navios, vindos de países tais como China, Canadá, Argentina, Países Árabes, EUA e outros. O transporte de grãos é realizado geralmente por navio, podendo chegar a seu destino deteriorados por fungos ou por insetos, se o transporte não for adequado (MOSSEL, 1988).

As condições do transporte marítimo de grãos pode resultar em crescimento de bolores e gerar calor e umidade no volume de grãos (MILTON & PAWASEY, 1988). A duração dessas viagens varia de acordo com a distância, tempo e fatores climáticos. Raramente duram menos que 3 semanas, em geral, em média 8 semanas. A duração da viagem pode ser estendida por vários outros fatores como: greves nos portos, burocracia de papéis, quebras mecânicas do navio, etc.(MOSSEL, 1988).

É mais fácil garantir a qualidade dos grãos nos silos, em terra, do que em embarcações marítimas onde a temperatura ambiente e a localização geográfica tenderão causar mudanças nas condições de estocagem dos grãos. Essas condições podem ser suficientes para iniciar uma deterioração que, uma vez iniciada, será difícil de ser controlada. Os grãos são transportados tanto de regiões frias para quentes, ou vice-versa, havendo variações que vão de 5 °C a 25 °C (DUNKEL, 1988).

Quando os grãos são carregados numa embarcação, suas temperaturas serão determinadas pela temperatura ambiente e a umidade média dos grãos. Por sua vez, a umidade média dos grãos é determinada pelo processo de secagem, ao qual os grãos foram submetidos. Bolsões de ar são aprisionados entre os grãos (ar intersticial) representando 40% do espaço total ocupado pela carga. Esse ar intersticial tenderá alcançar um equilíbrio com a temperatura e vapor da água do grão (DUNKEL, 1988).

Os grãos quebrados atingem o equilíbrio mais rapidamente que os intactos e estão sujeitos a uma invasão maior por fungos xerofílicos (SAUER & CHRISTENSEN, 1968).

A deterioração é dependente da Aw do sistema disponível na superfície do grão, que é por sua vez depende da temperatura e do conteúdo de água do grão. A Aw da superfície do grãos muda, enquanto que o equilíbrio de vapor de água é estabelecido entre os grãos e o ar, na função da temperatura desse ar (MOSSELL, 1988).

Por esses fatores, o armazenamento e transporte de grãos são pontos de controle dentro da cadeia produtiva do trigo, uma vez que a estocagem poderá ser longa. O processador de grãos deve estar alerta ao comprar o trigo, e se possível deve ter um histórico documentado com os seguintes dados: regiões de colheita, clima, índices pluviométricos,

companhia transportadora, condições climáticas no carregamento do navio, aplicações de praguicidas, fungicidas e acaricidas.

2.2.3.3- Sujidades Leves

Os Métodos Analíticos Oficiais da Association of Official of Analytical Chemists International (AOAC, 1995 a) definem como material estranho qualquer material diferente, não pertencente ao alimento, que possa estar nele contido, devido a ocorrência anormal ou de condições e práticas inadequadas durante a fase de produção, armazenagem ou de distribuição. Dentre as matérias estranhas estão as sujidades leves que são definidas como materiais mais leves que apresentam propriedades oleofílicas e são separadas do produto através de flutuação em uma mistura óleo-água. Exemplo: fragmentos de insetos, insetos inteiros, ácaros, pêlos de roedores e bárbulas de aves.

Uma das principais ameaças à qualidade dos grãos armazenados e a seus subprodutos são os insetos e ácaros, que têm se adaptado a esses ambientes relativamente secos. No passado, nossa sociedade foi condicionada a aceitar certos níveis de presença de insetos nos produtos alimentares, pois não havia o conhecimento dos contaminantes que poderiam estar nesses produtos e nos seus derivados. Isto ainda está presente em certas culturas, em algumas partes do mundo. Contudo, com o progresso da sociedade todo o suprimento alimentar tornou-se mais refinado (PEDERSEN, 1992).

Os ácaros e os insetos fazem parte do ecossistema de grãos armazenados. Essa população é difícil de ser quantificada por amostragem devido a distribuição não uniforme no volume de grãos. A população de artrópodes num ambiente ótimo de temperatura, umidade relativa e com alimento disponível, cresce exponencialmente (LAMB e LOSCHIAVO, 1981) até que fatores densidade-dependentes diminuam a população.

2.2.3.3.1- Insetos

Os insetos de grãos armazenados alimentam-se e desenvolvem-se à temperaturas de 8 a 41°C e umidade intergranular relativa (UR) em equilíbrio com o grão de 1 a 99%. Geralmente, o desenvolvimento e a multiplicação são ótimos perto de 30°C, 50-70%(UR) (JAYAS *et al.,* 1997).

Os insetos são uma causa importante de perda em grãos armazenados. Pela ovoposição e alimentação causam grandes avarias aos grãos e servem como vetores de disseminação de vários microrganismos, incluindo os fungos micotoxigênios. Em adição, contaminam o grão com seus excretas e pelo exoesqueleto dos corpos mortos, oriundos das ecdises. Durante a alimentação e reprodução, a atividade metabólica dos insetos pode aumentar os níveis de temperatura e umidade dos grãos, tornando-os adequados para o crescimento de fungos (DUNKEL, 1988).

As atividades combinadas dos insetos e fungos levam a avaria dos grãos, o que propicia outras infestações. A relação entre os insetos e fungos em ecossistemas de armazenamento é complexa. Definir e entender essa relação pode ajudar a prevenir perigos potenciais à saúde humana, assim como evitar perdas econômicas de produção. Por exemplo: os excretas produzidos por insetos podem servir não só como fonte de contaminação, como também de alimento para desenvolvimento microbiano (BLANK *et al.*, 1995).

Os insetos que infestam os grãos ou os equipamentos podem levar a presença de seus fragmentos na farinha. Estes fragmentos são indesejáveis e pela atual legislação (Portaria 74/94 da SVS do Ministério da Saúde, BRASIL 1994) existem limites de tolerância. Com fragmentos de insetos superiores ao limite tolerado, 75 fragmentos de insetos em 50g de farinha, ela é considerada avariada e indicadora da aplicação inadequada das Boas Práticas de Produção e Manejo de Grãos.

O armazenamento tem um papel importante nas condições higiênico-sanitárias dos grãos. Estoques saudáveis são obtidos por constantes monitoramentos, pois o trigo possui uma longa vida de armazenagem sendo difícil, produzir ou armazenar grãos sem infestação, mesmo nas melhores circunstâncias.

A identificação das espécies de insetos e o conhecimento de sua biologia e comportamento fazem parte das medidas de segurança. A aplicação de um determinado inseticida requer identificação da espécie, pois algumas são resistentes (PRATES *et al.*, 1998). Certas espécies infestam somente os grãos, outras infestam tanto os grãos como as farinhas, enquanto outras se alimentam somente de fungos. Este conhecimento é valioso para localizar a fonte de inseto problema e aplicar uma ação corretiva eficaz.

A maioria dos insetos encontrados nos grãos ou nas farinhas, são das Ordens Coleoptera (carunchos) e Lepidóptera (traças) que apresentam metamorfose completa. Esse ciclo de vida gera corpos mortos que podem estar presentes no alimento e contaminá-los (FOGLIAZZA & PAGANI, 1993).

2.2.3.3.2- Ácaros

Os ácaros compreendem um grande número de artrópodes incluídos na subclasse Acari da Classe Arachnida, à qual também pertence os escorpiões, as aranhas e os opilões. Uma das características básicas da Classe Arachinida é a presença de quelíceras como peças bucais. Outra particularidade morfológica é a ausência de antenas e a redução da segmentação do corpo, que pode ser reconhecido basicamente por conter um gnatossoma, anterior e um idiossoma, posterior (FLECHTMANN, 1989).

A maioria dos ácaros é ovípara, sendo os ovos postos ou agrupados; formas parasíticas são freqüentemente ovovivíparas, dando nascimento à

larvas. O ciclo evolutivo inclui um ou mais estágios imaturos ativos. O ciclo de vida dos ácaros consiste em:

ovo → pré-larva → larva → ninfa →protoninfa → deutoninfa → tritoninfa → adulto

A larva que nasce do ovo é hexápoda (exceto nos eriofídeos). Em seguida ocorrem até três estágios ninfais octópodes, podendo ser parcialmente substituídos por estágios inativos, queiscentes, os hipopus (FLECHTMANN, 1989). Esses estágios ocorrem em algumas espécies de ácaros e são resistentes à condições adversas de ambiente. Nesta fase ocorre a dispersão passiva por outros artrópodes ou pelo vento. A formação desse estágio é amplamente controlada por genética e pela interação do meio-ambiente, mas WHITE (1995), salienta que a dieta também desempenha um papel significativo.

Os ácaros desenvolvem-se à temperaturas de 2,5° a 41°C e umidade relativa (UR) de 42 a 99% com um ótimo de desenvolvimento e multiplicação perto de 30°C e 70-90% UR (JAYAS *et al.,* 1997).

Para WHITE (1995), os ácaros requerem um teor de umidade relativamente maior do grão para sobreviver e podem ser classificados em 4 grupos de acordo com a sua fonte alimentar. Os que se alimentam de:

- produtos armazenados,
- outros ácaros (predadores),
- fungos (fungívoros) e
- parasitas de roedores e aves que possam estar presentes nos produtos armazenados.

Os produtos armazenados são geralmente infestados por várias espécies de ácaros, insetos e microflora. Cada espécie tem seus requerimentos ambientais e características biológicas específicas. A média

de reprodução de ácaros varia e as populações flutuam irregularmente. Os fatores que afetam essas populações são complexos (BOCZEK, 1991).

2.2.3.4 - Fungos

O prejuízo causado por fungos é a maior causa da redução de qualidade, classificação e preço de grãos armazenados e seus produtos. Quando os insetos e roedores são controlados, os fungos ainda estarão causando danos. Quando os insetos estão presentes, os fungos associados podem contribuir nessa perda, mas mesmo que os insetos estejam mortos o dano por fungos pode continuar. Os fungos sempre estarão presentes; seus hábitos e características são bem conhecidos e as condições que promovem ou permitem seu desenvolvimento têm sido estabelecidos dentro de limites precisos. A segurança alimentar e a perda econômica causadas por fungos são prevenidas pela manutenção das condições que os mantenham fora de crescimento. Os princípios das boas práticas de armazenamento são bem conhecidos, e uma vez seguidos, as perdas serão mínimas mesmo em ambientes ou regiões de alto risco (SAUER & BURROGHS, 1980).

Os fungos desenvolvem-se a temperaturas de -2°C a 55°C e umidade relativa de 70 a 90% com uma temperatura ótima perto de 30°C e umidade relativa em torno de 80%. Há uma variação considerável nas condições ótimas para espécies diferentes (JAYAS *et al.,* 1997).

Os fungos são organismos eucariotos cujos núcleos são dispersos em um micélio (conjunto de hifas) contínuo ou septado. Não possuem plastos ou pigmentos fotossintéticos e sua nutrição é obtida por absorção. São saprófitos, parasitos facultativos ou biotróficos. São os microrganismos mais tolerantes à baixas disponibilidades de água nos grãos e por isso são importantes causas de deterioração. Eles não causam somente perda da matéria seca, através de utilização das reservas de carboidrato, mas também causam destruição do germe e das qualidades funcionais, por sua

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

habilidade de produzir toxinas e, talvez, pela utilização ou alteração de proteínas, lipídeos e outras reservas, diminuindo o valor nutricional e digestibilidade dos grãos (FONSECA, 1997).

Os fungos são capazes de se desenvolver em todos os tipos de alimentos: cereais, carnes, leites, frutas, vegetais, sementes, gorduras e derivados desses produtos. O desenvolvimento fúngico pode resultar em diversos tipos de alterações: odor e sabor estranhos, toxinas, descoloração, podridão e formação de propágulos patogênicos e alergênicos. Entretanto, o aspecto mais importante da alteração por fungos é a formação de micotoxinas. Mais de 400 micotoxinas são conhecidas atualmente; as aflatoxinas são as mais estudadas (FILTENBORG *et al.*,1996).

Os fungos fitopatogênicos podem apresentar frutificações de duas naturezas, a teleomórfica ou sexuada e a anamórfica ou assexuada. Na maioria das vezes, para cada espécie existe uma forma anamórfica e uma forma teleomórfica.

Até recentemente, os fungos eram considerados como um fator estético da alteração dos alimentos, apesar do *Claviceps purpurea* ter sido ligado a doenças humanas a mais de 200 anos e a ação tóxica de macrofungos ser bem conhecida. Cientistas japoneses reconheceram a natureza tóxica do arroz amarelo há 100 anos atrás, levando 70 anos para relacionar esse fato a um fungo. Na antiga URSS a aleucia tóxica alimentar (ATA) matou milhares de pessoas entre 1944-47, e a toxicidade só foi relacionada com em 1950 (PITT & HOCKING, 1997).

Em 1960, a famosa doença ´Turkey X´ matou 100.000 perus jovens na Grã-Bretanha e vários outros desastres associados evidenciaram a importância dos fungos comuns deteriorantes, que poderiam produzir toxinas significantes. Desde então, uma onda interminável de fungos toxigênicos e

compostos potencialmente tóxicos foram descobertos (PITT & HOCKING, 1997).

Um ponto importante a salientar é que a pesquisa de fungos toxigênicos somente pode ser realizada se baseada em uma identificação exata dos microrganismos responsáveis. A taxonomia e nomenclatura (sistemática) é a base vital do sistema da ciência biológica (PITT & HOCKING, 1997).

Os métodos de isolamento e taxonomia de fungos vinculados a alimentos tem sido testados nos últimos 10 anos e avaliados por grupos internacionais, almejando recomendar procedimentos que deverão ser utilizados internacionalmente. Há 3 grupos de trabalho:

1. ICPA - International Commission of Penicillium and Aspergillus;
2. ICTF International Commission on the Taxonomy of Fungi, Committee for Fusarium;
3. ICFM - International Commission of Food Mycology

O trabalho desses grupos tem levado a uma revisão significante das espécies dentro dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* e um consenso foi alcançado para diversas espécies (PITT & HOCKING, 1997).

Mais de 150 espécies de fungos filamentosos e leveduras tem sido reportados em grãos de cereais. O trigo, milho e a cevada parecem ser os mais afetados pelas toxinas dos fungos do gênero *Fusarium* e essas três culturas constituem 2/3 da produção mundial de cereais (MILLER, 1994a).

Os fungos que atacam as culturas vegetais têm sido divididos historicamente em 2 grupos distintos; os primeiros incluem aqueles que invadem o grão e produzem suas micotoxinas antes da colheita, que são os fungos de campo; o segundo grupo, os quais se tornam problemáticos após a colheita, são conhecidos como fungos de armazenamento. Contudo, a

fonte original de fungos em ambas circunstâncias é o campo (MILLER, 1994b). Esta terminologia permite uma maneira fácil de distinguir fungos encontrados antes da colheita e aqueles que se desenvolvem no armazenamento, porém há limitações (FONSECA, 1997).

A invasão pelos fungos antes da colheita é governado primariamente pela interação planta hospedeira-fungo, pelo refinamento da prática de agricultura adotada e por outras interações biológicas (ex.: insetos); enquanto que o desenvolvimento do fungo pós-colheita é governado por fatores da colheita (nutrientes), físicos (temperatura, umidade) e fatores bióticos (insetos, competição em ecossistema).

Quatro tipos de fungos toxigênicos podem ser identificados:

1- Patógenos de plantas tal como *F. graminearum*
2- Fungos que desenvolvem e produzem micotoxinas em plantas senescentes ou estressadas, tais como *F. moniliforme* e *A. flavus*
3- Fungos que colonizam inicialmente a planta, predispondo a mercadoria à contaminação de micotoxinas após a colheita, ex.: *A. flavus* .
4- Fungos que são encontrados no solo e em material da planta deteriorado que ocorrem em grãos em desenvolvimento no campo só se proliferam em armazéns se as condições de armazenagem permitirem, ex.: *P. verrucosum*, *A. ochraceous*.(MILLER, 1994a).

2.2.3.4.1- Fungos no trigo -Gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* Link contém patógenos de plantas importantes e espécies produtoras de micotoxinas, resultando em situações onde as plantas infectadas por esses patógenos, tornam-se tóxicas ao homem e aos

animais. Conseqüentemente, a avaliação do risco à saúde humana e animal deve ser estudada (MARASAS,1994).

As principais espécies de *Fusarium*, produtoras de toxinas são, *F. nivale, F, culmorum, F. poae, F. sporotrichioides, F. oxysporum, F. avenaceum, F. tricinctum, F. solani, F. scirpi, F. moniliforme, F. proliferatum e F. graminearum* (FONSECA, 1997).

LUTEY e CHRISTENSEN (1963), relatam que os fungos de campo como *Fusarium* podem permanecer nos grãos por 4 anos. Podem ser reduzidos ou eliminados dos grãos armazenados a um teor de umidade de 12 a 14% e temperaturas de 20°-30°C sem trazer injúria aos grãos.

O termo *Fusarium* "head blight" ("scab") é referente a uma doença do trigo e de outros grãos, causados por várias espécies de fungos do gênero *Fusarium* (MILLER, 1994a). O *Fusarium graminearum* é o patógeno predominante causador dessa doença que produz a micotoxina desoxinivalenol, DON. É o isolado mais freqüente nos EUA (MERONUCK, 1997).

Esses fungos sobrevivem e multiplicam-se em cereal infectado. A doença espalha-se através dos ascosporos e conídeos. Durante tempos úmidos, esses fungos produzem uma massa de esporos (esporodóquio) que se espalha no ar e nos grãos em tempos de chuva. Grandes quantidades de esporos são liberados nos dias chuvosos e nos 2 dias seguintes após a chuva. A doença progride rapidamente à 25°C quando altos níveis de umidade existir por mais de 36 horas. O período latente aumenta com temperaturas mais baixas, 7-8 dias a 15°C, 4-5 dias a 18°C -20°C e 2-3 dias a 25°C. As anteras são os sítios mais importantes da infecção inicial (MERONUCK, 1997).

Quando infectado, o grão produzido é de qualidade pobre, levando a um prejuízo econômico para o produtor. Nas piores áreas afetadas, a única escolha é destruir os grãos no campo sem colhê-lo. O ponto final de uma epidemia de "head blight" é a produção de desoxinivalenol (DON) nos grãos. Conseqüentemente, uma modesta epidemia pode produzir uma cultura que contenha micotoxinas acima dos níveis seguros para o consumo humano e animal (MILLER, 1994a).

O impacto econômico dessa doença tem sido devastador na cultura de trigo no noroeste de Minnesota, nos EUA. Foi estimada uma perda de cerca de US$1 bilhão de dólares em 1993 e US$ 550 milhões de dólares em 1994 na região de Red River (MERONUCK, 1997).

Embora as doenças causadas por *F. graminearum* no trigo e milho tenham sido as mais estudadas, esse fungo nem sempre é causador da doença em todas as regiões onde os cereais crescem. Há uma variabilidade ano a ano das espécies isoladas e da patogenicidade apresentada, conforme demonstra o QUADRO 2 (MILLER, 1994b).

As principais espécies, listadas em ordem decrescente de patogenicidade são *F. graminearum, F. culmorum, F. crookwellense e F. avenaceum.* A variação regional e anual da patogenicidade das espécies são afetadas pela temperatura, das condições mais frias às mais quentes, a ordem das espécies encontradas é: *F. culmorum, F. crookwellense,F. avenaceum e F. graminearum.*

As espécies menos patogênicas, incluindo *F. sporotrichioides, F.poae e F. nivale,* ocorrem sob condições mais frias. Em geral, somente *F. graminearum* e *F. culmorum* produzem sintomas visuais significativos. O *F. graminearum* apresenta 2 biotipos:

a) forma o ascomiceto *Giberella zea* ;
b) forma assexuada associada a terras secas de produção de trigo

QUADRO 2 - Patogenicidade e micotoxinas isoladas de *Fusarium* de grãos de trigo (MILLER, 1994b).

Espécies	Patogenicidade	Micotoxinas
F. graminearum	Alta	DON ou NIV, ZEA
F. culmorum	Alta a moderada	DON e ZEA
F. crookwellense	Baixa a moderada	NIV, ZEA
F. avenaceum	Baixa	Moniliformina
F. acuminatum	Baixa	Acuminatina
F. sporotrichioides	Baixa	T-2 e HT-2
F.poae	Muito baixa	Diacetoxiscirpenol
F. equiseti	Muito baixa	Diacetoxiscirpenol

2.2.4- Moinhos

Os moinhos produzem farinhas de características variadas. A farinha para bolo possui características diferentes da farinha que se utiliza em pão ou macarrão, por exemplo. Dentro de cada especificação, a farinha deve ser produzida uniformemente. A maior necessidade da indústria é a manutenção da uniformidade do produto, conseguida através da mistura de trigos de procedências diversas. Desta forma, a seleção dos grãos e seu armazenamento são fases essenciais para uma boa qualidade da farinha.

Na moagem tem-se como objetivo a separação do endosperma (amido) do grão da casca e do germe, com a pulverização subseqüente do endosperma. A separação do amido é possível devido as suas propriedades físicas diferentes daquelas da fibra do epicarpo e do material oleoso do germe.

A casca contém um alto conteúdo de fibras e o endosperma é friável; o germe devido à sua natureza oleosa, escama-se quando passado entre rolos macios. As diferentes partes obtidas do grão diferem em densidade, possibilitando sua separação por correntes de ar. As diferenças de

friabilidade entre a casca e o amido são aumentadas pelo acondicionamento do trigo, que envolve a adição de água antes da moagem, fazendo com que a casca se enrijeça e o endosperma fique macio. O processo de moagem compreende uma redução gradual do tamanho da partícula, primeiramente entre rolos de quebra enrugados e depois em rolos de redução macios. A separação é empírica e não quantitativa. O processo de moagem resulta na produção de muitos tipos de farinha .

A produção de farinha branca envolve a seleção e a mistura de trigos, limpeza, acondicionamento, quebra, tamização , purificação e redução.

2.2.4.1- *Recepção*

A chegada de trigo ao moinho se dá por caminhão basculante ou carreta. O caminhão é pesado com a carga e procede-se a descarga, retirando-se a lona e abrindo o compartimento traseiro da carroceria. O trigo cai numa moega que alimenta um arrastador. A caçamba do caminhão é levantada para que todo trigo seja descarregado. Com o caminhão vazio faz-se nova pesagem e por diferença tem-se o valor da carga de trigo.

Uma vez recebido o trigo ele segue para a pré-limpeza onde esta é removida com vibração em plano inclinado e por peneiração. Passa por um imã e através de um arrastador o trigo é levado para o silo em que será armazenado.

Balança $\Rightarrow$ Imã $\Rightarrow$ Pré-limpeza $\Rightarrow$ Silo (trigo sujo)

2.2.4.2- *Limpeza*

O trigo recebido contém muitas impurezas. Máquinas especiais removem essa impurezas mais finas. A limpeza envolve primeiramente o uso de peneiras, correntes de ar e discos separadores. Isso é seguido por máquinas polidoras a seco nas quais o trigo é forçado contra um ferro

perfurado e jogado por batedores fixados em um tambor giratório. Esse tratamento remove material estranho na fenda do grão e escova a camada pilosa.

2.2.4.3- *Acondicionamento*

Esse é um processo de adição de água. Trigos duros são levados a umidade 15-16% e trigos macios a 14-15%, permitindo-se que o trigo descanse por 16-18 horas para uma resistência máxima segura da casca e um amaciamento do endosperma amilífero. A quantidade de água e o tempo de acondicionamento variam com os diferentes tipos de trigo. A quantidade de água adicionada aumenta com o decréscimo da umidade do grão, com a vitricidade e com o volume do grão. Ao sair desta fase o trigo encontra-se em condições ideais para moagem e foi considerado no presente trabalho como trigo lavado.

2.2.4.4- *Moagem*

A primeira parte do processo de moagem é realizada em rolos enrugados. Cada estágio possui 2 pares de rolos, os quais giram em direções opostas com velocidades diferentes de aproximadamente 2,5:1. Nos rolos de primeira quebra há usualmente 10-12 rugas por polegada. Esse número aumenta para 26-28 rugas no quinto rolo de quebra.

Como os rolos giram rapidamente em direção opostas, as bordas das rugas do rolo mais rápido atravessam aqueles que são mais lentos produzindo uma ação de tosqueamento e trituração do trigo com uma corrente de ar que passa entre eles. Os primeiros rolos são espaçados para que o trigo seja triturado levemente e somente pequena quantidade de farinha é produzida. Após tamisação, o material mais grosseiro é transportado para os segundos rolos de quebra.

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Os segundos rolos são ajustados um pouco mais juntos do que os primeiros, assim o material é triturado mais finamente e mais partículas do endosperma são liberadas. Esse processo de moagem e tamisação é repetida acima de 6 vezes. O material que vai sendo moído contém cada vez menos endosperma. Após a última quebra, os fragmentos maiores consistem em lascas do pericarpo do trigo. Eles são passados através de um espanador de farelo de trigo, que remove a farinha ainda aderida.

Após cada estágio de moagem, o material é triturado e transportado para os tamises (plansifteres) que são caixas largas ajustadas em série e que possuem movimentos giratórios, que apresentam uma trama grosseira e progressivamente se tornando mais fina até que as últimas sejam de seda e bem finas. O processo resulta em separação de 3 classes de material:

1. fragmentos grosseiros, que vão alimentando a próxima quebra até restar somente pericarpo;
2. farinha, ou partículas finas, que passam através de tamises mais finos;
3. partículas granulares intermediárias, que são chamadas "meddlings".

Esses materiais são enviados para uma mesa densimétrica de separação e voltam ao processamento ou são enviados para a cela de armazenamento de farinha.

3.OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a aplicabilidade do sistema APPCC na indústria de moagem de trigo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Estudo da metodologia analítica para farinha de trigo integral para determinação de sujidades leves,

- Ocorrência de insetos e ácaros existentes em trigo nacional e argentino, e na farinha de trigo integral,

- Ocorrência de fungos em trigo nacional e argentino, e na farinha de trigo integral,

- Ocorrência de DON na farinha de trigo integral.

4- MATERIAIS E MÉTODOS

4.1- MATERIAL

Foram utilizados, neste trabalho, amostras de grãos de trigo (*Triticum* aestivum , L), provenientes da Argentina safras de 1996 e 1997, do Brasil (Paraná) safra de 1997 e farelo e farinha obtidos da quebra desses grãos.

4.1.1- Amostragem

A população alvo de estudo foram as produções diárias realizadas por uma indústria de moagem de trigo, situada na cidade de São Paulo com capacidade de moagem de 15 toneladas/hora. Tal indústria é composta por 2 diagramas de moagem, um com capacidade de 9ton./hora e outro de 6 ton./hora, denominados moinhos A e B respectivamente. A parte amostrada por esse trabalho foi referente ao moinho B.

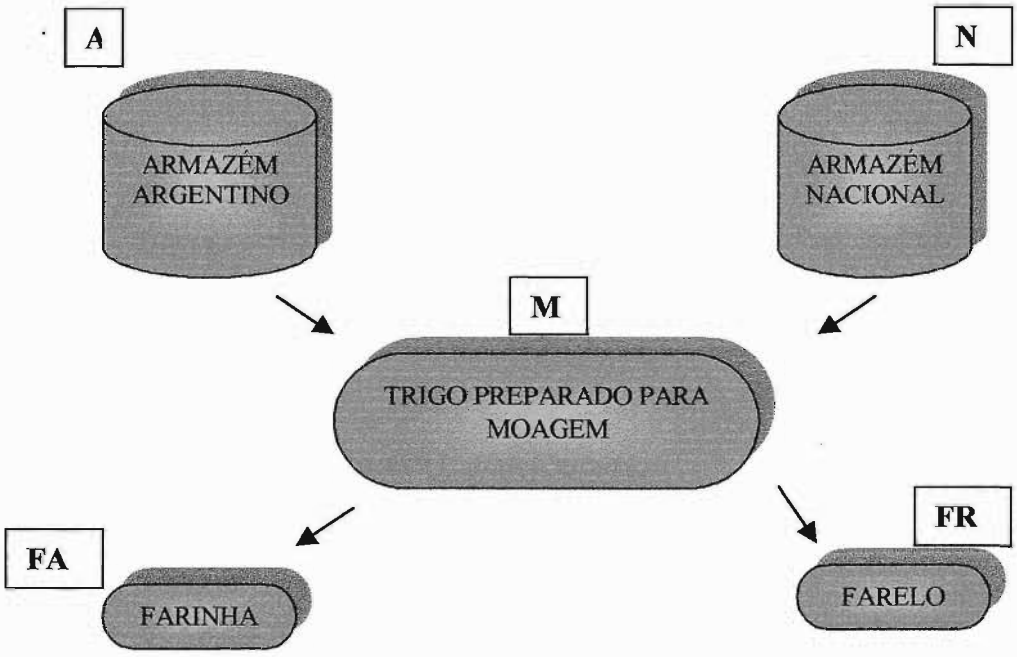


FIGURA 3- Representação esquemática de cada ponto de coleta para amostras com trigos de duas procedências (Nacional e Argentino).

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Cada produção, foi definida como uma amostra, e cada amostra está composta por sub-amostras constituídas por grãos de trigo sujos e limpos, e farinha de trigo integral. A amostragem teve como objetivo coletar amostras mais representativas possíveis da massa de grãos, uma vez que a contaminação dessa massa de grãos, farinha e farelo ocorre de modo não uniforme. As Figura 3 e 4 mostram esquematicamente os pontos de coleta de amostras de trigos com mistura e sem mistura de trigos respectivamente.

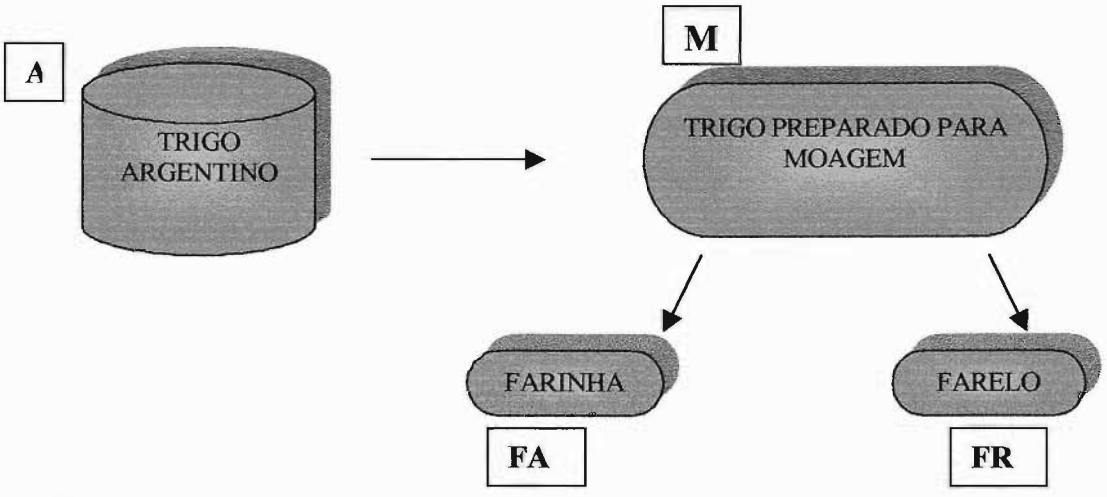


FIGURA 4- Representação esquemática de cada ponto de coleta para amostras com trigo de uma única procedência.

4.1.1.1- Pontos de Coleta

A N

Saída do trigo do armazém (os grãos são guardados segundo procedência e safra), o ponto foi escolhido para avaliar as condições dos armazéns onde o trigo pode ficar armazenado por um período máximo de 40 dias .

M

Entrada para moagem, neste ponto o trigo já passou pelas duas limpezas mecânicas e foi acondicionado. Cada procedência tem seu acondicionamento próprio em pulmões de espera diferentes. A coleta foi efetuada no dosador onde a mistura de produção já realizada para obter a farinha com padrão de qualidade especificado.

FA **FR**

Farinha branca e farelo: optou se por coletar no final da moagem, a farinha de trigo e o farelo antes da entrada na cela de armazenamento.

Em cada ponto de coleta foi utilizado um balde de polipropileno com tampa, com capacidade de 35 L. A cada hora era retirado 1 Kg de trigo e colocado no balde. Após 8 horas de produção o conteúdo do balde foi homogeneizado e retirou-se 1Kg de trigo que era acondicionado em saco plástico transparente estéril para embalar alimentos, etiquetado, com informações prestadas pela indústria quanto à data de produção, procedência do trigo, safra, umidade e coletor (funcionários da indústria, foram os coletores durante a produção).

As amostras foram levadas, em caixa isopor, para o laboratório no mesmo dia da realização da coleta, onde foram divididas em quantidades suficientes para cada determinação em duplicata, como mostra a Figura 5. Embaladas em saco plástico transparente e etiquetadas e guardadas em freezer doméstico até o momento da análise.

FIGURA 5- Representação esquemática da distribuição das sub-amostras de trigo no laboratório.

4.1.1.2- Obtenção da farinha e trigo integral

A farinha de trigo integral foi preparada no laboratório, Figura 6, na seguinte proporção: 75g de farinha branca + 25g de farelo. Estes foram colocados em um recipiente plástico estéril e homogeneizados por 5 minutos com movimentos circulares e verticais. Após a homogeneização, as amostras foram divididas, de maneira asséptica, para as analises microscópica, análise microbiológica e análise de micotoxina. As amostras foram acondicionadas em saco plástico transparente, etiquetadas e congeladas em freezer doméstico até o momento das análises.

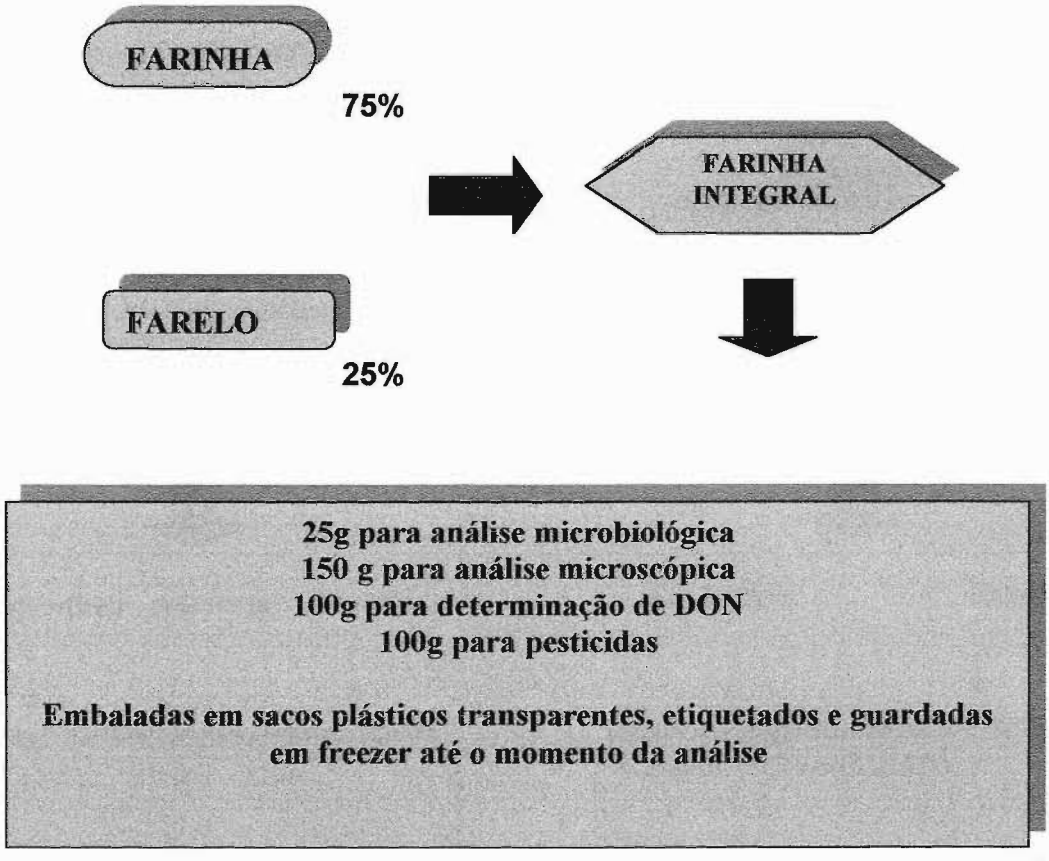


FIGURA 6- Confecção da farinha de trigo integral e número de determinações realizadas em laboratório

Foram colhidas 30 produções de farinha. Estas foram escolhidas aleatoriamente durante o período de outubro de 1997 a março de 1998. Cada produção levava dois dias para se completar e era composta por trigos, farinha e farelo.

4.1.1.3- População amostrada

A população amostrada total ficou constituída conforme a Figura 7:

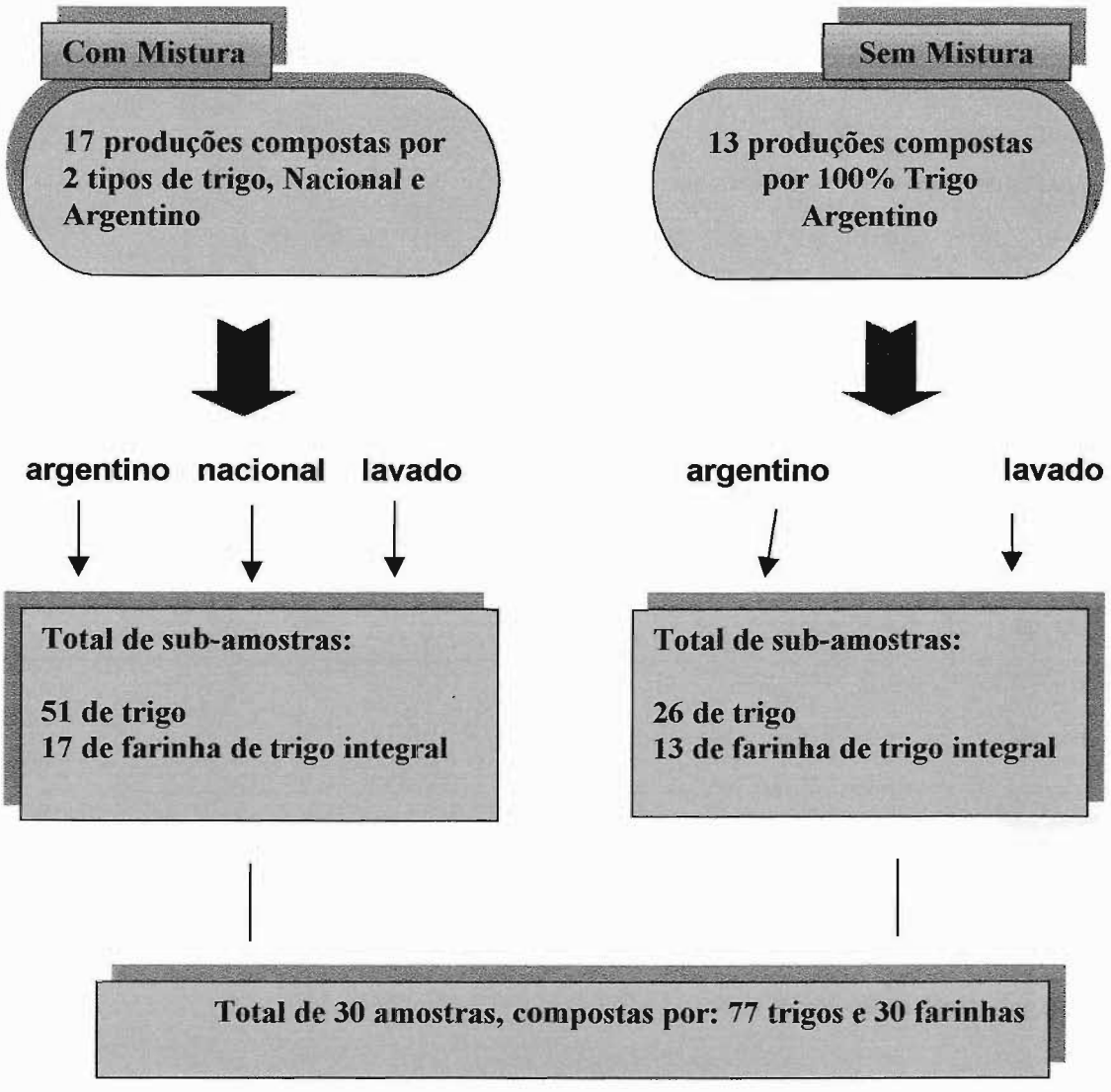


FIGURA 7- Composição da população amostrada

4.2- MÉTODOS

4.3- TRIGO

4.3.1- Análise Microscópica

Pesquisa de matéria estranha externa: extração de sujidades leves externas ao grãos - Método da Flutuação. A análise foi realizada pelo método oficial n°950.86 descrito na A.O.A.C Internacional 1995b.

4.3.1.1- Identificação de insetos.

Os insetos isolados, montados em coleção a seco e alguns espécimes mantidos em álcool 70%, foram identificados segundo as chaves: BOOTH *et al.* (1990), BORROR & DELONG (1988), HALSTEAD (1986) e PACHECO & DePAULA (1995). Os insetos foram enviados ao Instituto de Biociências no Departamento de Zoologia da Universidade de São Paulo e confirmada a identificação pelo Prof. Dr. Sérgio Antonio Vanin. O inseto da ordem Siphonáptera foi identificado pela Dra. Celuta Helena Paganelli.

4.3.1.2- Identificação de ácaros.

Os ácaros isolados, montados em lâmina permanente e alguns espécimes mantidos em álcool 70%, foram identificados segundo as chaves FLETCHMANN (1989), KRANTZ (1978) e HUGDES (1976)

4.3.2- Análise Microbiológica

A pesquisa para fungos foi efetuada empregando-se o método preconizado pelo FDA/AOAC Bacteriological Analytical Manual, enumeração de fungos em Alimentos Técnica do plaqueamento direto, 7ª ed. (1992).

4.3.2.1- Identificação dos fungos

Os fungos foram identificados diretamente ao microscópio-estereoscópico com aumento de 10X a 40X e através de lâminas examinadas ao microscópio óptico com aumento variando de 100X a 1000X. Segundo as metodologias de GELLI *et al.*(1990), SAMSON *et al.* (1995), PITT and HOCKING (1997).

4.4- FARINHA de TRIGO INTEGRAL

4.4.1- Análise Microscópica

Pesquisa de matéria estranha: Extração de sujidades leves - método de Flutuação. Análise realizada pelo método oficial n°993.26 da A.O.A.C. International, 16ª edição, p.16. 1995c em primeira ação. Realizada em duplicatas e com modificação do método.

Modificação:

Retirada a etapa onde é utilizado o refluxo de solvente na fase de desengorduramento da farinha. Empregada a fervura, em chapa aquecedora, da farinha em béquer de 2L, com mesmo volume de álcool isopropílico, tampado com vidro relógio. Para tal modificação o método foi validado no laboratório de Microscopia Alimentar do IAL/SP.

4.4.1.1- Estudo da metodologia empregada para isolamento de sujidades leves

A farinha de trigo integral é digerida em solução ácida, sem efeito no exoesqueleto dos insetos ou nos pêlos de mamíferos contaminantes. Tais elementos são oleofílicos e podem ser separados dos não oleofílicos dos alimentos pela atração da fase oleosa numa mistura óleo-água. A fase

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

oleosa foi então extraída, filtrada e examinada microscopicamente para tais contaminantes.

Para verificar o método modificado foi elaborado um estudo intralaboratorial, comparando-o aos dados do trabalho realizado por GLAZE e BRYCE, 1994 (interlaboratorial) que teve como objetivo conhecer o desempenho do método que está publicado como primeira ação na Official Methods da AOAC (1995).

Foram analisadas 18 amostras de 50g de farinhas de trigo integral, por 2 analistas independentemente. As amostras foram contaminadas em 3 níveis para fragmentos (5, 15 e 30 fi/50g) de insetos e 3 níveis para pêlo de roedor (5,10 e 15 pêlos /50g). Os padrões foram elaborados no próprio laboratório, segundo a técnica descrita por BRICKEY (1968), utilizados *Sitophilus oryzae* a praga mais abundante do trigo que deu origem a farinha, como verificado em estudo anterior, e pêlos de roedor *Mus musculus* (KENT, 1994) obtidos no biotério do IAL para contaminação de amostras. O padrão microanalítico foi armazenado em gelatina segundo a técnica de FREEMAN (1982), colocados no início da digestão ácida da farinha.

4.4.2- Análise Microbiológica

A análise microbiológica foi realizada, empregando técnica preconizada no Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods (APHA) 3ª ed. (MISLIVEC *et al.,* 1992)

4.4.3- Metodologia para quantificação de desoxinivalenol

O método empregado para análise foi o descrito por SABINO *et al.*(1989). A determinação da concentração do padrão foi feita por espectrofotometria de absorção na região UV de acordo com AOAC (1995), sendo que o padrão foi dissolvido sob agitação vigorosa em acetato de etila.

A absorbância (A) foi medida em 260nm, o peso molecular e absortividade molar (E) de DON utilizadas foram 296 e 1410, respectivamente. Para auxiliar a confirmação, foi realizada também a co-cromatografia, superpondo alíquotas de padrão nas alíquotas dos extratos das amostras no desenvolvimento do cromatograma. O limite de quantificação é de 110 ng/g.

4.5- ANÁLISE ESTATÍSTICA

No trabalho foi realizada a análise descritiva dos dados. Foram construídos gráficos "Boxplots" ou desenhos esquemáticos segundo BUSSAB & MORETTIN 1985, no programa MINITAB Release 11.12 (Minitab Inc.).

Os desenhos esquemáticos foram utilizados para avaliação dos dados quanto à posição, dispersão, assimetria, caudas e dados discrepantes. A posição central dos valores foi dada pela mediana (traço que divide a caixa do desenho esquemático em 2 partes). Os asteriscos nesses gráficos representam os dados mais afastados, dados discrepantes, que não se encaixam no conjunto de dados. O primeiro quartil Q_1 é representado pela base da caixa, o segundo quartil Q_2 é a mediana e o terceiro quartil é o topo da caixa.

A média, representada nos desenhos pelo círculo vermelho, e o desvio padrão não foram utilizados porque são estatísticas afetadas, de forma exagerada, pelos valores extremos. Esses valores extremos foram calculados obedecendo o seguinte critério: dados menores que Q_1-3/2(Q_3-Q_1) e dados maiores que Q_3+3/2 (Q_3-Q_1).

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- TRIGO

5.1.1- Estudo Preliminar

Anteriormente à realização das coletas de amostras, foi elaborado um estudo para verificar a incidência da população de artrópodes existentes em alguns equipamentos da indústria. A coleta foi pontual e realizada na parada da produção, com a abertura dos equipamentos para limpeza e sanitização em maio de 1997. Os equipamentos que transportavam o trigo estavam infestados pelas seguintes espécies de insetos: *Tribolium confusum* (Col.:Tenebrionidae), *Alphitobius diaperinus* (Col.:Tenebrionidae), *Gnathocerus cornutus* (Col.:Tenebrionidae), *Rhizopertha dominica* (Col.:Bostrichidae), *Sitophilus oryzae* (Col.:Curculionidae), *Cryptolestes pusillus* (Col.:Cucujidae), *Carpophilus* sp (Col.:Nitidulidae), Hym:Pteromálidae, sendo importante mencionar a identificação da pulga do rato, *Xenopsyla cheops* (Siphonaptera:Pullicidae), encontrada num dos equipamentos. Os ácaros presentes pertenciam às Ordens Mesostigmata, Prostigmata e predominantemente a Astigmata, dentro dessa ordem a família Acaridae foi a mais freqüente, as formas foréticas desses ácaros estavam presentes em vários equipamentos. Os equipamentos continham espaços mortos de difícil acesso para limpeza, onde permaneciam grãos altamente infestados e de onde foram retiradas as amostras.

A Tabela 1 dispõe os resultados do levantamento de insetos realizado e mostra a predominância da espécie *Sitophilus oryzae*. METCALF & FLINT (1962) apud in PACHECO & DE PAULA (1995) consideram o *Sitophilus oryzae* uma espécie cosmopolita, supostamente oriunda da Índia disseminada pelo mundo por grãos infestados transportados em navios. É uma praga primária, isto é, ataca o grão íntegro, desenvolvendo-se também em produtos de cereais processados. Esta é uma espécie muito importante porque infesta os grãos internamente produzindo os fragmentos de insetos na farinha de trigo (MILLS & PEDERSEN,1992).

TABELA 1- Ocorrência de insetos nos pés de elevadores, separador a disco e rosca.

Equipamentos / Insetos	PE/ 9	PE/ transila-gem	PE/5	PE/ 10	PE/16	Rosca	Separa dor a Disco 3	Separa dor a Disco 4
Col.:Curculionidae								
Sitophilus oryzae	8	270	9	21	0	0	12	150
Col.: Bostrichidae								
Rizopherta dominica	1	15	3	0	0	0	0	0
Col.: Tenebrionidae								
Tribolium confusum	0	0	4	5	0	0	0	0
Alphitobius diaperinus	0	1	0	10	0	0	0	0
Gnatocerus cornutus	0	1	0	0	0	0	0	0
Col.: Cucujidae								
Crytpolestes pusillus	0	5	10	7	2	0	0	0
Hym.: Pteromalidae	0	0	5	0	7	0	0	0
Siphonátera:Pullicidae								
Xenopsylla cheops	0	1	0	0	0	0	0	0
Ácaros	+	incont.	-	incont.	incont.	45	2	-
Larvas	_	-	+	+	-	-	-	-
Pelo de roedor	_	-	-	+	+		3	
Fragmento de larvas	-	incont.	incont.	incont.	incont.	5	incont.	-
Fragmento de inseto	+	incont.	incont.	incont.	incont.	5	-	-

PE: pé de elevador; incont. = incontáveis; + presença; - sem observação

5.1.2- Ocorrência de sujidades leves

Os teores médios de umidade encontrados nas sub-amostras de trigo foram: 12,8%, 13,1% e 15,6 % para argentino, nacional e lavado respectivamente. Os trigos argentinos utilizados foram das safras 1996 e 1997, para produções dos anos de 1997 e 1998 respectivamente, significando trabalhar com uma matéria prima de no mínimo 1 ano de armazenagem, sendo que a safra de 1996 apresentou teor de umidade média de 12,5% e a de 1997, 13,1%. Para o trigo nacional foi utilizada a

safra do próprio ano de produção e com procedência do Estado do Paraná, das cidades de Cornélio Procópio, Cambará, Andirá e Rolândia. A Tabela 2 apresenta a distribuição de tipos de sujidades encontradas nas sub-amostras de trigo.

TABELA 2- Número e percentual de sub-amostras de trigo com presença de sujidades leves.

	TRIGO ARGENTINO		TRIGO NACIONAL		TRIGO LAVADO	
Sujidades leves	nº	%	nº	%	nº	%
Coleópteros	9	30	5	29	5	17
Ácaros	27	90	9	53	23	77
Thisanopteros	26	87	12	71	28	93

5.1.2.1- Insetos

a)- Thinanópteros

Entre as 3 categorias de sujidades leves, nossos resultados mostraram alta freqüência para presença de insetos da ordem Thisanoptera, que são pragas de campo, que infestam partes da planta; são pequenos (0,5-2,0 mm) e geralmente sugadores. Poucas espécies são predadoras de pequenos artrópodes e muitas se alimentam de esporos de fungos (BORROR & WHITE, 1970). Sua freqüência nas sub-amostras de trigo foi: 87%, 71% e 93% para argentino, nacional e lavado, respectivamente.

A análise dos dados através da Tabela 3, apresentou para trigos argentino e lavado a mesma média e mediana amostrais, enquanto que o trigo nacional apresentou média e mediana inferiores: 0,8 e 0,5.

TABELA 3- Análise descritiva para insetos Thisanópteros em sub-amostras de trigo argentino (ARG), nacional (NAC) e lavado (LAV).

Trigo	N	Media	Mediana	Min	Max	Q_1	Q_3
ARG	30	1.483	1.500	0.000	3.500	0.500	2.000
NAC	17	0.824	0.500	0.000	3.000	0.000	1.500
LAV	30	1.517	1.500	0.000	4.000	0.500	2.000

Q_1 primeiro quartil; Q_3 terceiro quartil

Pelas estatísticas apresentadas e pela Figura 8 pode-se perceber certa homogeneidade e inexistência de dados discrepantes, estando média e mediana próximas. Pode-se supor que tais insetos morrem durante a secagem dos grãos permanecendo aderidos ao epicarpo, não se reproduzindo e portanto apresentando menos variações populacionais. Os dados demonstram que a fase de limpeza não contribuiu para a eliminação desses insetos, acontecendo esse efeito na moagem uma vez que não houve detecção de fragmentos desses insetos na farinha de trigo integral.

Quanto ao maior percentual desses insetos para o trigo lavado, poder-se-ia supor que o processo de limpeza e de acondicionamento dos grãos, devido a ação mecânica e elevação da umidade, favorece ao desprendimento dos insetos antes aderidos ao epicarpo.

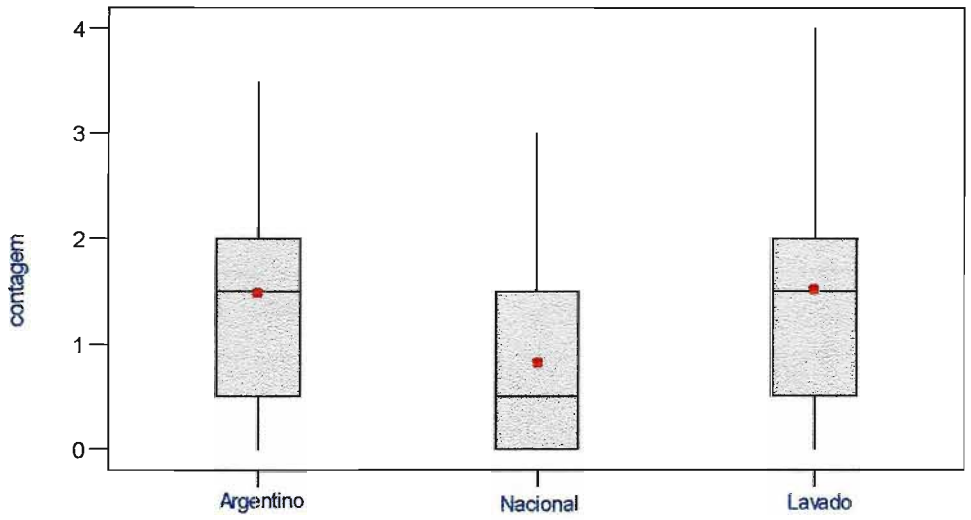


FIGURA 8- Desenho esquemático para thisanópteros em sub-amostras de trigo: argentino, nacional e lavado.

b)- Coleópteros

A categoria menos freqüente foi insetos da Ordem Coleoptera: 30%, 29% e 17% para trigo argentino, nacional e lavado respectivamente. No trigo argentino foram detectadas as seguintes espécies: *Sitophilus oryzae, Cryptolestes pusillus, Rhizopertha dominica* e *Gnatocerus cornutus*. Para o trigo nacional: *Sitophilus oryzae* e *Cryptolestes pusillus* e para trigo lavado: *Cryptolestes pusillus*, *Sitophilus oryzae,* micro-himenópteros predadores de *Sitophilus* spp, além de pupas de *Rhizopertha* e de *Sitophilus*

Alguns insetos da Ordem Coleoptera são pragas inevitáveis de campo, infestam o grão internamente com seus ovos, sendo difícil a sua detecção e conseqüentemente sua separação dos grãos sadios.

Da análise descritiva dos dados, Tabela 4 não houve variação nas medianas amostrais entre o trigo sujo e lavado, levando a crer que a

população de insetos já estava controlada sugerindo Boas Práticas de Produção (BPM) e Controle de Pragas.

TABELA 4- Análise descritiva para insetos Coleópteros em sub-amostras de trigo argentino (ARG), nacional (NAC) e lavado (LAV).

Trigo	N	Media	Mediana	Min	Max	Q_1	Q_3
ARG	30	0.2333	0.0000	0.0000	1.5000	0.0000	0.5000
NAC	17	0.2353	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.5000
LAV	30	0.0833	0.0000	0.0000	0.5000	0.0000	0.0000

Q_1 primeiro quartil e Q_3 terceiro quartil

Na Figura 9 há dados discrepantes em certas amostras de trigo argentino e lavado, supondo que a população desses insetos pode representar em certas ocasiões crescimento populacional. O trigo nacional não apresentou nenhum dado discrepante.

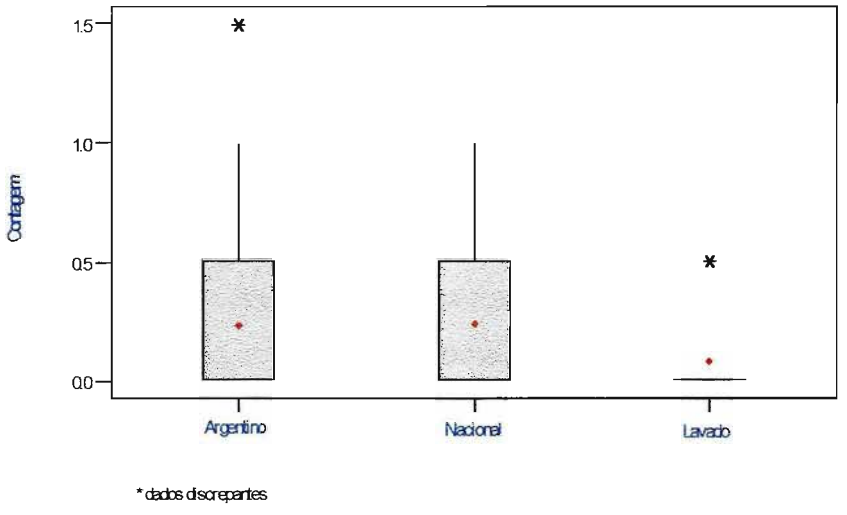


FIGURA 9- Desenho esquemático para coleópteros em sub-amostras de trigo.

Os equipamentos mostraram-se altamente infestados por esses insetos. A presença deles no trigo poderia ter vindo de incrementos populacionais desses equipamentos. Por tal motivo o monitoramento da população de insetos é importantíssima para a manutenção de bons estoques.

A relação entre o número médio de insetos encontrados por amostra, ou o percentual de amostras com insetos provê 2 medidas de uniformidade da população de insetos distribuída numa dada área. Assim, HAGSTRUM *et al.*,(1998, 1988, e 1985) e LIPPERT & HAGSTRUM (1987) demonstraram equações que são utilizadas para calcular a densidade populacional com amostradores apropriados para grãos.

Atualmente há no mercado "softwares" que gerenciam estoques de trigos, onde a quantidade de insetos encontrados em armazéns estão relacionados com sua espécie, temperatura e tempo de armazenagem. São os "expert systems" que são modelos matemáticos para predizer quando insetos e fungos se tornarão problemáticos na fase de armazenamento, e sugere estratégias alternativas para sua prevenção (FLINN & MUIR, 1995).

A aplicação de técnicas para controle de insetos, tanto química como de outra natureza é dependente de conhecimentos que permitam a identificação das pragas presentes. O emprego inadequado de pesticidas pode acarretar em reaplicações resultando maiores custos e a presença de resíduos químicos no produto final, tendo como conseqüência grave o desenvolvimento de resistência de insetos aos inseticidas. No Brasil, foi reportado o fracasso do inseticida deltametrina no controle da *Rhizopherta dominica*, em unidades armazenadoras para proteção dos grãos (LORINI & GALLEY, 1999).

Pouco se sabe sobre as interações entre as micotoxinas, e entre pesticidas-micotoxinas em ambiente de armazém. DALCERO *et al.*, 1995

avaliaram os efeitos dos pesticidas sob micotoxinas de *Alternaria* em meio de cultura e em sementes de girassol. Diferentes comportamentos foram observados, que variavam dependendo de qual inseticida ou fungicida fora considerado e também do substrato utilizado. Vários efeitos foram observados, desde sem efeito, estimulação e inibição.

A detecção de insetos nos grãos é importante principalmente na recepção do trigo. Cada indústria deve avaliar nesse instante o grau de infestação do seu trigo, garantindo dessa maneira as condições fitossanitárias do produto na entrada da indústria.

5.1.2.2- Ácaros

Do total de sub-amostras de trigo 77% continham a presença de algum tipo de ácaro. A presença entre os trigos ficou assim distribuída: 90%, 53% e 77% para argentino, nacional e lavado respectivamente. A Tabela 5 mostra a análise descritiva para ácaros em trigos, e a Figura 10, evidenciam o caráter não normal da curva de distribuição, com assimetria à esquerda e dados discrepantes que poderiam ser explicados, em hipótese, por explosões populacionais desses artrópodes.

TABELA 5- Análise descritiva para ácaros em sub-amostras de trigo argentino (ARG), nacional (NAC) e lavado (LAV).

Trigos	N	Média	Mediana	Min	Max	Q_1	Q_3
ARG	30	4.98	2.50	0.00	38.50	1.00	6.63
NAC	17	0.71	0.00	0.00	6.50	0.00	0.75
LAV	30	3.38	1.50	0.00	27.50	0.38	3.75

Q_1 primeiro quartil e Q_3 terceiro quartil

As medianas amostrais mostram que houve uma redução na contagem de ácaros no trigo lavado, levando a crer que essa fase do processamento teve efeito em diminuir a infestação por ácaros. No trigo argentino os ácaros estavam distribuídos em 76% da família Tarsonemidae e 63% da Acaridae. No trigo nacional a família Tarsonemidae representou 17% e a Acaridae 36%, o trigo lavado seguiu a tendência semelhante ao argentino, mas com redução do percentual de 57% para Tarsonemidae e 40% para Acaridae.

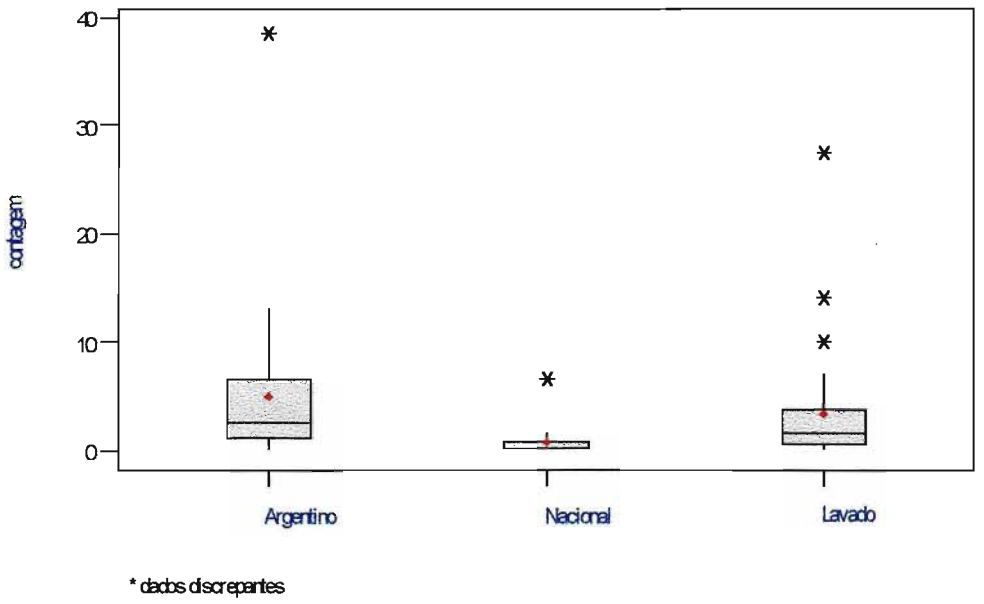


FIGURA 10- Desenho esquemático da distribuição de ácaros para trigos argentino, nacional e lavado.

SINHA *et al.*(1969) estudaram a armazenagem de trigo durante 8 anos, analisaram seus resultados através de uma análise multivariada, correlacionando 11 componentes principais com 32 variáveis, através do método de Harman à um nível de significância de 0,01. Esses autores verificaram que o tempo de armazenamento dos grãos foi o componente mais importante, apresentando fortes correlações com a redução da

germinabilidade, com o decréscimo de fungos de campo, com aumento da infecção por fungos do gênero *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Absídia* e com a infestação por ácaros do gênero *Tarsonemus*. O estudo indicou que o ácaro *Tarsonemus,* foi o único artrópode que mostrou relação próxima com o número de grãos infectados por fungos, e que sua abundância nos grãos seria regulada pela interação complexa entre variáveis ambientais tais como: teor de umidade, temperatura e a profundidade que se encontravam na massa dos grãos e também a certos fungos que se correlacionavam com o tempo, como o *Aspergillus* spp.

Segundo SINHA & WALLACE, 1973 os fungos, ácaros e insetos se desenvolvem em pontos da massa dos grãos onde o teor de umidade está acima de 12%. Desses focos, ácaros, insetos e fungos se espalham gradualmente através dos grãos, sempre em nichos favoráveis quanto a temperatura e umidade relativa, sendo que a microflora e fauna geralmente é dominada por ácaros.

Foi demonstrado por FRANZOLIN *et al.*, 1999 num estudo em condições controladas, a habilidade de ácaros da espécie *Tyrophagus putrescentiae* (Acari:Acaridae) em carregar os esporos de fungos de *Aspergillus flavus* aderidos ao seu corpo e no seu aparelho intestinal, demonstrando que a presença do fungo contribuiu para o crescimento dos ácaros. Em troca, o ácaros difundiram seus esporos viáveis através dos grãos.

Nossos resultados mostraram que a média de infecção geral dos trigos foi: 98% para o argentino, 93% para o nacional e 94% para o lavado. No trigo argentino a predominância da infecção fúngica nos grãos foi de 79% para o gênero *Aspergillus* spp, como ver-se-à a seguir, e mostraram a predominância do ácaro da família Tarsonemidae nesse mesmo trigo, que apresentou maior período de armazenagem. Estes dados vêm em concordância com os autores referidos anteriormente.

5.1.3- Ocorrência de fungos

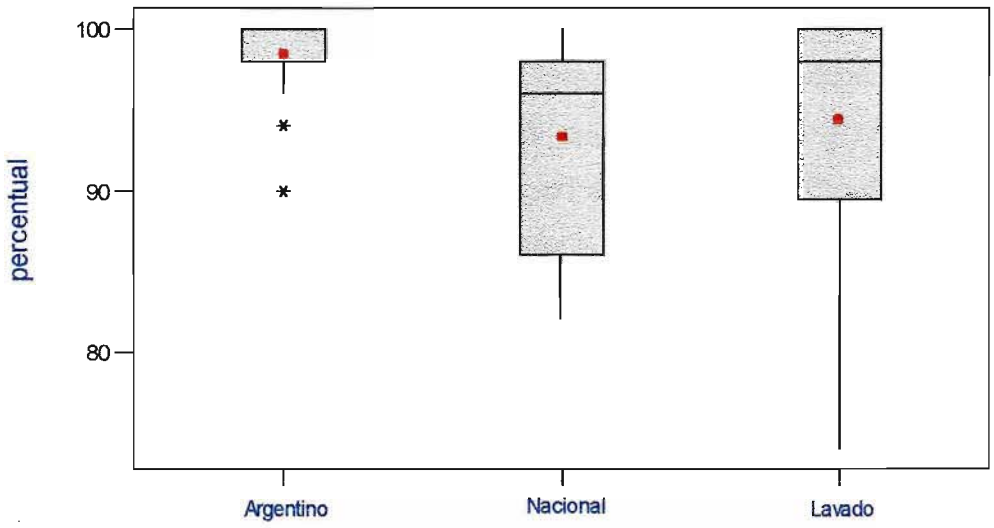
A população de fungos encontrada nos grãos de trigo está representada descritivamente na Tabela 6. Os dados evidenciam que a alta contaminação do epicarpo não foi diminuída pelo processo de limpeza a que os grãos foram submetidos.

TABELA 6- Análise descritiva para infecção geral de fungos em grãos em sub-amostras de trigo argentino (ARG), nacional (NAC) e lavado(LAV).

TRIGOS	N	Media	Mediana	Min	Max	Q_1	Q_3
ARG	30	98.47	100.00	90.00	100.00	98.00	100.00
NAC	17	93.29	96.00	82.00	100.00	86.00	98.00
LAV	30	94.47	98.00	74.00	100.00	89.50	100.00

Q_1 primeiro quartil e Q_3 terceiro quartil

Na Figura 11, está representada em forma de desenho esquemático os dados obtidos. Os grãos de trigo apresentaram infecção fúngica média de: 98% para argentino, 93% para nacional e 94% para lavado, confirmando assim a alta infecção do epicarpo.

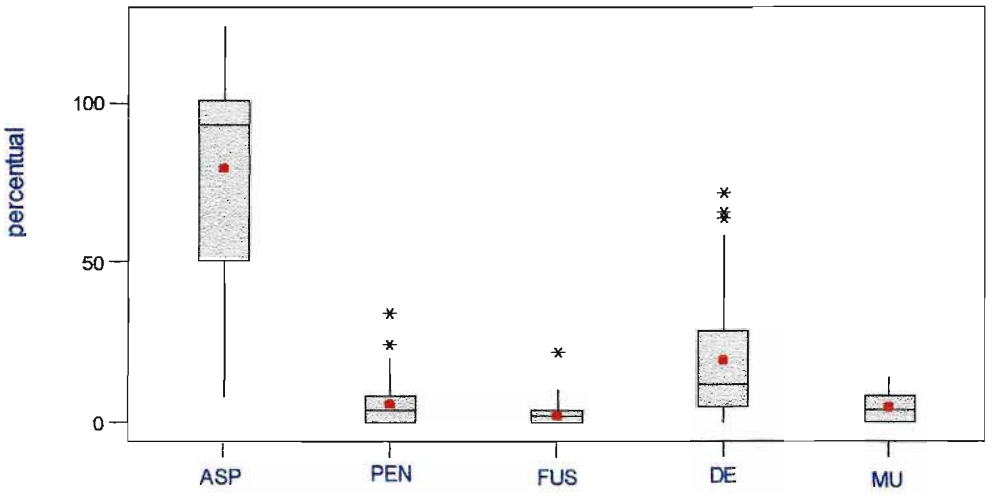


*dados discrepantes

FIGURA 11- Desenho esquemático para infecção geral de fungos para grãos de trigo argentino, nacional e lavado.

A infecção geral nos dá noção da contaminação vinda dos armazéns para trigos argentino e nacional e no pulmão de espera onde se encontrava o trigo lavado. Nessa última fase, pensava-se que poderia haver crescimento de fungos, uma vez que o trigo com umidade média de 15,3% permanece um período que pode variar de 14 a 18 horas de espera para moagem, entretanto, pelos dados obtidos, não se observou desenvolvimento significativo, ao contrário as media e mediana mantiveram-se estáveis, permitindo supor que o tempo de espera não favoreceu o crescimento dos fungos.

Dos grãos argentinos contaminados, os fungos do gênero *Fusarium* spp representaram em média 2,9%. Outros fungos encontrados em média foram: grupo *Aspergillus* spp 79,3%, ressaltando que não houve separação entre os fungos do gênero *Eurotium* spp e *Aspergillus* spp, Dematiaceous 19,7%, *Penicillium* spp 5,8% e Mucorales 4,7%. A Figura 12 mostra a distribuição do percentual de gêneros de fungos dentro do trigo argentino.



* dados discrepantes

FIGURA 12- Desenho esquemático para infecção para trigo argentino, *Aspergillus* (ASP), *Penicillium* (PEN), *Fusarium* (FUS), Dematiaceous (DE) e Mucorales (MU).

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Dos grãos nacionais infectados estavam assim distribuídos em média: *Fusarium* spp 2,7%, *Aspergillus* spp, 40,2%, Dematiaceous 35,1%, Mucorales 3,9% e *Penicillium* spp 3,0%. Os dados representados através da Figura 13 mostram a distribuição do percentual de fungos dentro do trigo nacional

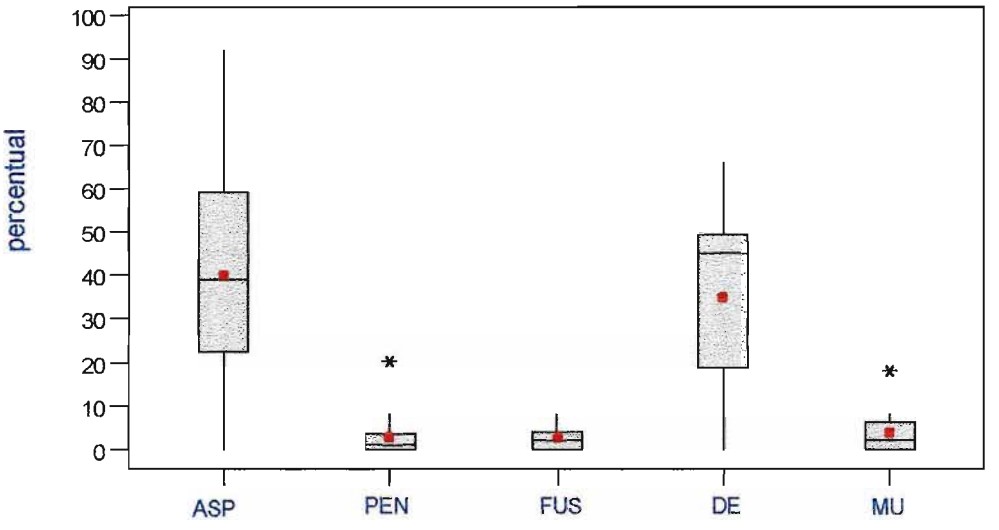
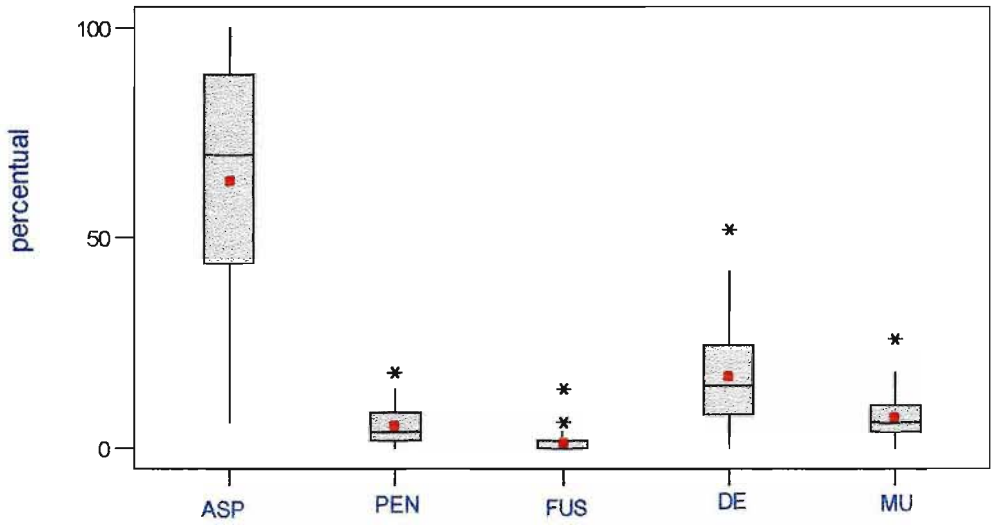


FIGURA 13- Desenho esquemático para infecção para trigo nacional, Aspergillus (ASP), *Penicillium* (PEN), *Fusarium* (FUS), Demaciaceous (DE) e Mucorales (MU).

Para os grãos lavados, a freqüência de fungos foi assim distribuída em média: *Fusarium* spp 1,5%, *Aspergillus* spp 63,9%, Dematiaceous 17,1%, Mucorales 7,8% e *Penicillium* spp 5,4%. A Figura 14, mostra a distribuição do percentual de fungos dentro do trigo lavado.



* dados discrepantes

FIGURA 14- Desenho esquemático para infecção para trigo lavado, *Aspergillus* (ASP), *Penicillium* (PEN), *Fusarium* (FUS), Dematiaceous (DE) e Mucorales (MU).

De acordo com SAUER *et al.*(1992) a presença de fungos do gênero *Alternaria* spp no epicarpo dos grãos de trigo evidencia boas condições de armazenamento, pois esses fungos de campo indicam teoricamente que o frescor da colheita ainda está presente. Mas, se durante o tempo de armazenamento o percentual de *Alternaria* decrescer e o percentual de *Aspergillus* subir evidenciará problemas incipientes.

Nossos dados mostram que ao se comparar a micobiota dos grãos argentinos e nacionais nota-se que a população de Dematiaceous é maior no trigo nacional, um trigo com vida de armazém menor que a do argentino, o que vem em concordância com os autores anteriormente citados. Entre a população de *Aspergillus* spp havia muitos dos grupos *glaucus*, *candidus*, *niger*, *flavus* e *ochraceus*, comparativamente à outros fungos estavam em maior percentual. Dentre os fungos Dematiaceous alguns gêneros foram

identificados: *Nigrospora* sp, *Scopulariopsis* sp, *Alternaria* sp, *Ulocladium* sp, *Scytalidium* sp.

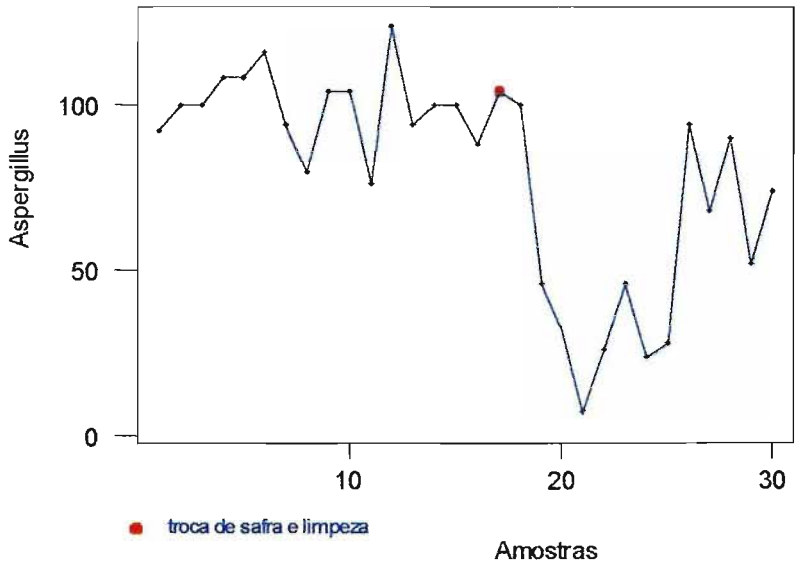
O trigo argentino por ter um tempo mais longo de armazenamento apresentou infecção maior por fungos do gênero *Aspergillus* que vem em concordância com vários autores (MILLER, 1994a; SAUER *et al.*, 1992). Ainda de acordo com diversos autores pesquisados por PITT & HOCKING (1997), as espécies mais comuns encontradas em cereais secos são as espécies de *Eurotium* spp e *Aspergillus penicillioides.* Segundo esses mesmos autores esses gêneros citados são dominantes em condições tropicais, mais do que fungos do gênero *Penicillium.*

PEREIRA (1994) analisou grãos de trigos nacional da safra de 1992 das localidades de Não-me-Toque e Vista Alegre, Rio Grande do Sul e similarmente encontrou o *Aspergillus glaucus* com maior freqüência entre os fungos isolados. Ainda encontrou: *A. flavus, A. candidus, A. ochraceous, Fusarium spp, Cladosporium spp, Alternaria spp, Dreschelera spp, Penicillium spp*, sendo esse gênero o de menor freqüência, *Rhizopus spp e Trichoderma spp*

SALGADO & CARVALHO (1980) realizaram um levantamento qualitativo de fungos associados com milho, trigo e arroz de várias regiões do Brasil. Nesse levantamento, foram isolados com mais freqüência espécies do gênero *Aspergillus*, *Fusarium* e *Diplodia*, e com menor freqüência espécies do gênero *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Curvilaria*, *Tricoderma* e *Mycelia sterila.*

CASTRO *et al.*(1995), relataram os efeitos da fosfina no controle de insetos e no desenvolvimento de fungos. Uma redução do crescimento da população de fungos foi observada em trigos com Aw de 0,80 e 0,85 inoculadas com fungos da espécies *Eurotium chevalieri* e *Aspergillus flavus.*

A limpeza geral das instalações do moinho, ou a troca de safra, podem ter influenciado a população de fungos, como está demonstrado na Figura 15. Os fungos do gênero *Aspergillus* e a população de Dematiaceous tiveram comportamento opostos anterior e posterior a sanitização.



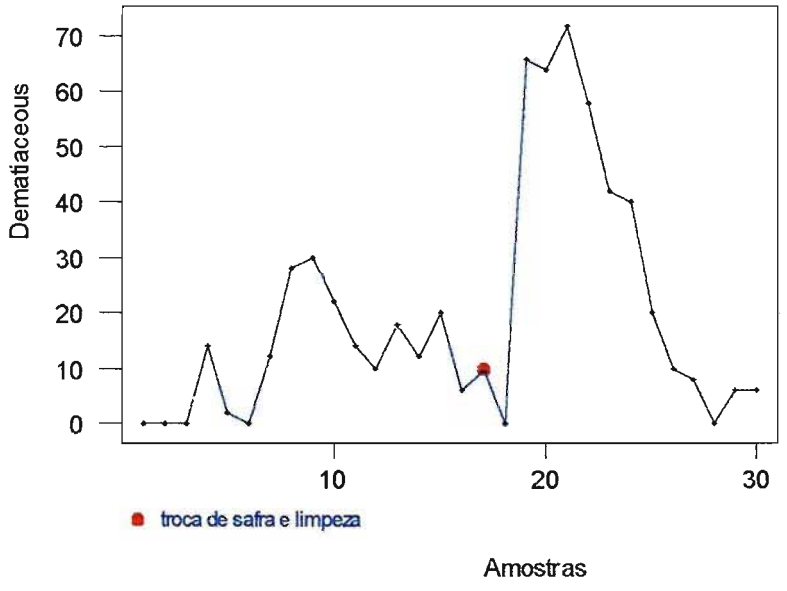


FIGURA 15- Comparação da população de fungos Dematiaceous e *Aspergillus* spp em sub-amostras de trigo argentino, após limpeza geral do moinho, durante o período de coleta de amostras.

5.1.3.1-Fusarium

A maioria das espécies de *Fusarium* invadem as sementes em desenvolvimento e noutros tecidos da planta no campo, causando problemas antes da colheita. Porém, continuam a crescer se as sementes colhidas são armazenadas com altos teores de umidade ou se forem acidentalmente molhadas. A extensão da invasão é influenciada pela: quantidade de inóculo, infestação de invertebrados, injúria causada por outros fungos, resistência da planta, injúrias mecânicas, nutrição mineral da planta e temperatura (MILLS, 1989).

Na Tabela 7, a média encontrada para fungos do gênero *Fusarium* spp nos trigos foi: 2,9% para o argentino, 2,7% para o nacional e 1,6% para o lavado. Houve uma variação maior nos trigos argentinos enquanto que para nacional os dados foram mais homogêneos. Não houve homogeneidade de variância dos dados para comparação da médias.

TABELA 7- Análise descritiva de *Fusarium* spp (FUS) em trigos argentino (ARG), nacional (NAC) e lavado (LAV).

FUS	N	Média	Mediana	Min	Max	Q_1	Q_3
ARG	30	2.933	2.000	0.000	22.000	0.000	4.000
NAC	16	2.750	2.000	0.000	8.000	0.000	4.000
LAV	30	1.567	0.000	0.000	14.000	0.000	2.000

Q_1 primeiro quartil e Q_3 terceiro quartil

Segundo MILLS (1989), o modo de infecção e transmissão de algumas espécies de *Fusarium* talvez envolva certos insetos da Ordem Thisanoptera, e certa espécie de ácaro. No presente trabalho, foi observado uma alta infestação por insetos da Ordem Thisanoptera, por ácaros e os trigos apresentaram várias espécies de *Fusarium* .

A Figura 16 mostra o comportamento dos fungos do gênero *Fusarium* ao longo do tempo. Pode-se notar que o maior pico desse fungo aconteceu após a limpeza do moinho que ocorreu juntamente com a troca de safra, entre as amostras 17 e 18, e cujo teor de umidade em média foi maior na safra de 1997 com 13,1% e a de 1996 12,5%.

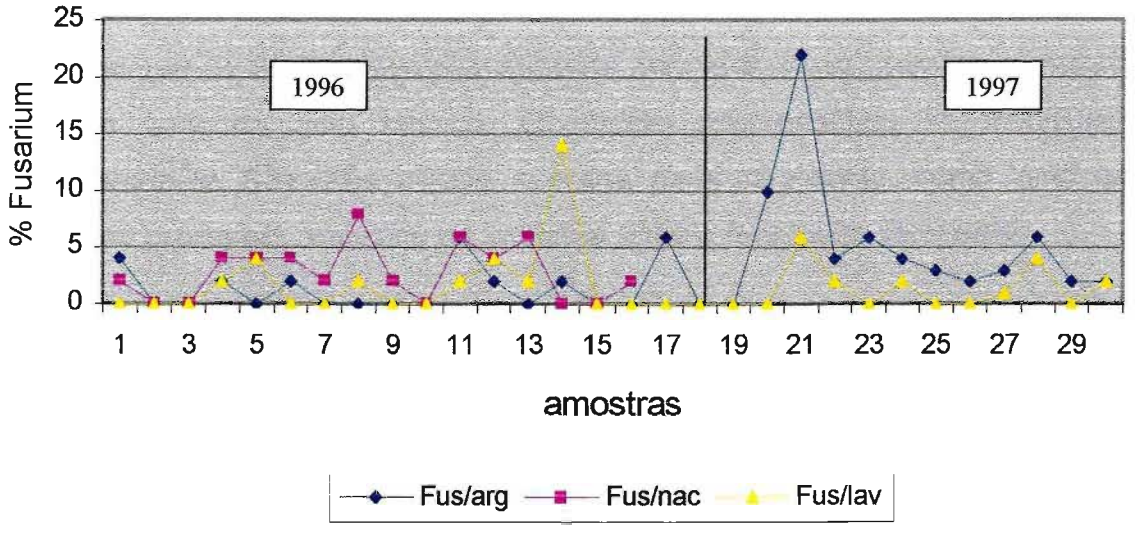


FIGURA 16- Distribuição da contagem de isolados de *Fusarium* spp nos trigos argentino, nacional e lavado.

Após a limpeza do moinho somente foi utilizado trigo argentino como matéria prima para obtenção de farinha. O gráfico acima sugere que houve um maior percentual no isolamento de linhagens de fungos do gênero *Fusarium* spp na safra de 1997 que indicava uma umidade média maior.

5.2- FARINHA de TRIGO INTEGRAL

5.2.1- Metodologia modificada para o isolamento de sujidades leves

A técnica empregada foi a de extração de sujidades leves, por flutuação, método oficial n°993.26 da A.O.A.C. (1995b) em primeira ação. Optou-se por modificar a fase de desengorduramento, utilizando-se a fervura em béquer de 2L tampado com vidro de relógio e não o aparelho de refluxo como sugerido pela técnica. O padrão microanalítico foi modificado utilizando-se *Sitophilus oryzae* a praga mais abundante, como visto em estudo preliminar realizado na indústria onde a farinha foi produzida.

A Tabela 8 mostra os resultados obtidos do presente trabalho e do estudo interlaboratorial da AOAC realizado por GLAZE & BRYCE (1994). Nossos resultados mostraram que a exatidão e a precisão para fragmentos de insetos nos três níveis de contaminação foram melhores quando comparados aos resultados da AOAC. Esse resultado era esperado uma vez que o estudo intralaboratorial apresenta menor variabilidade dos dados com relação ao interlaboratorial, evidenciando por esses dois parâmetros estatísticos, que a modificação introduzida no método não afetou o seu desempenho, quanto a recuperação de fragmentos de insetos. Os coeficientes de variação mantiveram-se inferiores aos do estudo realizado pela AOAC, indicando bom desempenho do método.

Para pêlos de roedor, a exatidão não foi boa, ficando em níveis inferiores quando comparados ao estudo da AOAC. O analista B obteve recuperações mais baixas para os níveis de contaminação 10 e 15. A precisão do método foi satisfatória, exceto para o analista B no nível 15. Esses fatos podem ser explicados, em hipótese, pela quebra do agitador magnético durante a realização do estudo que foi substituído pela agitação manual, mantendo-se o tempo de agitação.

TABELA 8- Comparação do desempenho do método para análise de sujidades leves em farinha de trigo integral.

FRAGMENTOS DE INSETOS					
Contaminante em 50g	**Analista**	**Média**	**Recuperação %**	**SD**	**RSD** %
5	**A**	4,8	96,6	0,4	8,3
	B	4,8	96,6	0,4	8,3
	AOAC	4,7	94,0	0,8	16,0
15	**A**	14,2	94,4	1,6	11,3
	B	14,2	94,4	0,8	5,6
	AOAC	12,6(13,8)*	85,9 (91,9)	1,1 (1,9)	8,9 (10,8)
30	**A**	28,3	94,3	2,1	7,4
	B	28,2	94,0	1,5	5,3
	AOAC	25,9	86,2	3,6	14,0

PÊLOS DE ROEDOR					
Contaminante em 50g	**Analista**	**Média**	**Recuperação %**	**SD**	**RSD %**
5	**A**	3,8	76,0	1,0	26,3
	B	4,0	80,0	0,9	22,5
	AOAC	4,8 (4,4)	95,0 (87,4)	1,4 (1,5)	29,8
10	**A**	8,8	88,0	1,3	14,7
	B	6,5	65,0	1,4	21,5
	AOAC	9,1 (9,0)	90,7 (90,0)	1,2	13,5 (13,0)
15	**A**	12,0	80,0	1,4	11,7
	B	9,0	60,0	2,8	31,1
	AOAC	14,4 (14,1)	96,0 (94,0)	1,2 (1,0)	8,3 (6,9)

*entre parênteses –resultado de uma terceira parte

**valor retirado de 6 replicatas.

Como já demonstrado por BRICKEY (1965), a agitação magnética é o ponto crítico na recuperação de sujidades leves nos alimentos, e entre os vários tipos de agitação há diferenças nos resultados. O analista A procedeu a marcha analítica utilizando a agitação magnética em todos os níveis de contaminação, entretanto, obteve resultados inferiores aos do estudo da AOAC, levando a crer que a agitação magnética utilizada não foi suficientemente adequada para recuperação dos pêlos de roedor.

5.2.2- Ocorrência de sujidades leves

5.2.2.1-Insetos

A origem dos fragmentos de insetos presentes na farinha de trigo advém da contaminação interna dos grãos de trigo por insetos coleópteros. Esses insetos atacam os grãos no campo e se procriam internamente, dificultando a diferenciação entre grão carunchado e sadio, não sendo possível eliminá-los, até certo ponto, durante as fases de processamento. A Figura 17 mostra que 100% das amostras continham fragmentos de insetos. Esses, admitidos por lei, são oriundos de pragas inevitáveis do trigo.

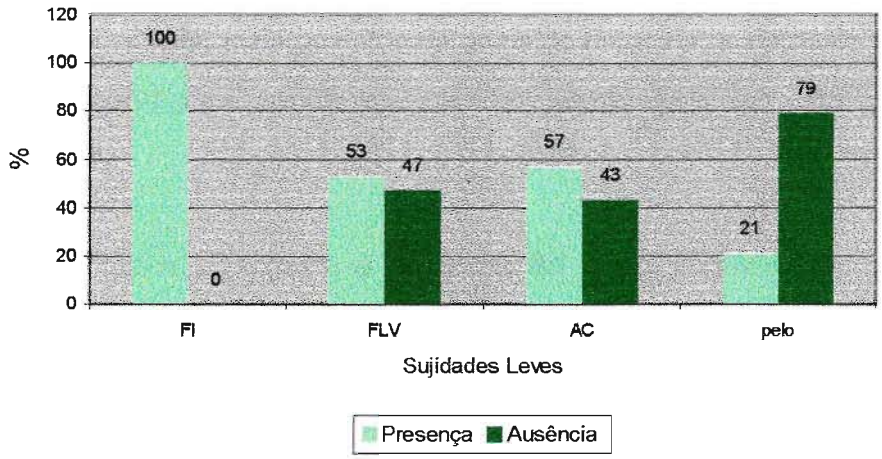


FIGURA 17- Freqüência de presença e ausência para sujidades leves encontradas nas sub-amostras farinha de trigo integral: fragmentos de insetos (FI), fragmentos de larvas (FLV), ácaros (AC) e pêlo de roedor.

A atual legislação em vigor (Portaria 74/94 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, BRASIL 1994) permite para farinha de trigo 75 fragmentos de insetos em 50 g de produto. Esses insetos não estão associados à enfermidades ou males que possam colocar em risco a saúde

humana, dentro desse limite estabelecido. Através do número de fragmentos de insetos pode-se avaliar as condições sanitárias da indústria, uma vez que os estoques devem ser saudáveis. As sub-amostras de farinha de trigo integral analisadas, não apresentaram número superior ao limite permitido pela atual legislação brasileira.

Entretanto, pode haver casos em que a farinha seja considerada imprópria ao consumo por conter fragmentos de insetos que são vetores de patógenos como alguns insetos da Ordem Díptera (moscas), Ordem Blattodea (baratas) que vivem em áreas de esgotos, lixos, etc. e apresentar número de fragmentos de insetos inferiores ao permitido por lei. A simples presença desses insetos vetores já compromete o produto final. Nas farinhas, o tamanho dos fragmentos de insetos pode indicar se estes tiveram origem pré ou pós-moagem. A presença do inseto pós-moagem demonstrará falta de condições sanitárias, mesmo sendo este um dos insetos ditos inevitáveis.

A Figura 18 mostra a comparação entre a presença de insetos da Ordem Coleoptera presentes nas sub-amostras de trigo com o nível de fragmentos de insetos encontrados na farinha de trigo integral. A média de fragmentos de insetos foi de 18,3 e mediana 17,8 por 50g de farinha. Os resultados obtidos na farinha de trigo integral parecem ser homogêneos, sem dados discrepantes. Nos equipamentos e trigos também houve a presença de fragmentos de insetos em todas as amostras.

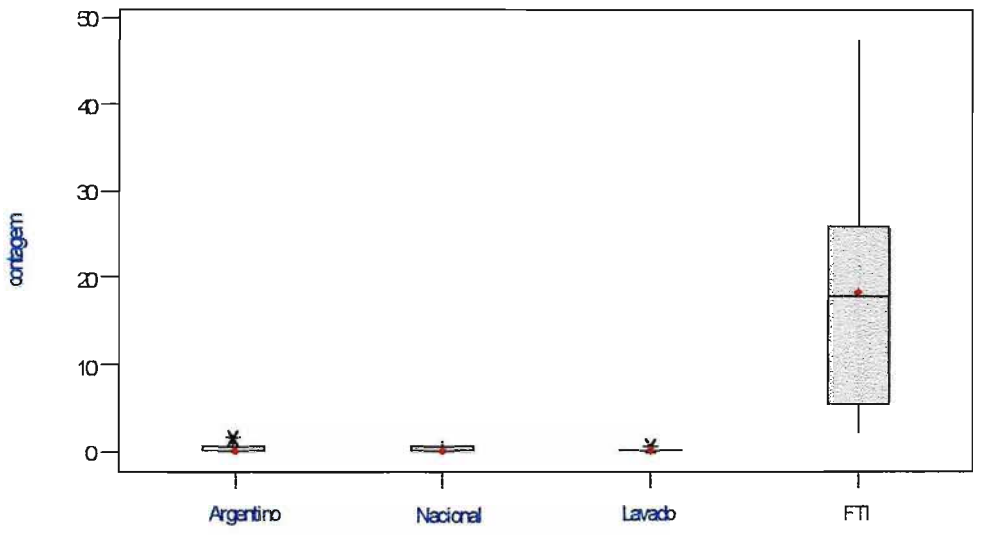


FIGURA 18- Desenho esquemático para comparação entre a freqüência de coleópteros em trigos: argentino, nacional, lavado com fragmentos de coleópteros em farinha de trigo integral (FTI).

A Figura 19 mostra o comportamento da freqüência de fragmentos de insetos presentes na farinha de trigo integral em relação ao tempo de coleta. Durante os cinco meses de produção não representou nenhum risco para atingir o limite crítico (representado pelo valor numérico da legislação - 75 fragmentos de inseto em 50g de farinha). A freqüência de fragmentos de insetos estava em declínio quando se realizou a sanitização do moinho e em ascensão após .Este fato poderia ser explicado, em hipótese, pela dissolução de focos de insetos existentes e que seriam transferidos para outros locais de difícil acesso na limpeza, mas que após o início da moagem com o fluxo contínuo de farinha na tubulação seriam carreados para o produto final. Após 5 produções o nível de fragmentos de insetos diminuiu.

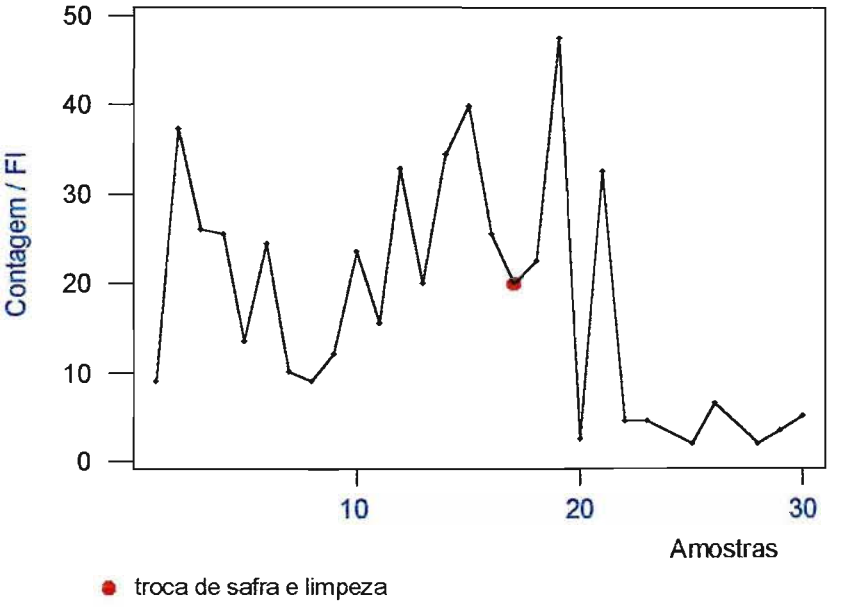


FIGURA 19- Freqüência de fragmentos de insetos nas amostras de farinha de trigo integral, em relação a limpeza do moinho.

A Figura 20 mostra que a moagem de uma forma geral conseguiu reduzir a freqüência das matérias estranhas e parece ter adicionado outros dois componentes que estiveram presentes somente nos equipamentos: os pêlos de roedor cujas média e mediana foram 0,6 e 0,0 e fragmentos de larvas com média e mediana de 0,9 e 0,3 respectivamente. Em uma das sub-amostras de farinha de trigo integral, houve a detecção média de 10 larvas inteiras. Há necessidade de uma investigação mais detalhada da moagem e transporte de farinha e farelo para uma informação mais precisa quanto a presença de pêlos de roedor. Nas sub-amostras de trigo estes contaminantes não apareceram, lembrando que a metodologia para recuperação está abaixo do alcance dessa metodologia.

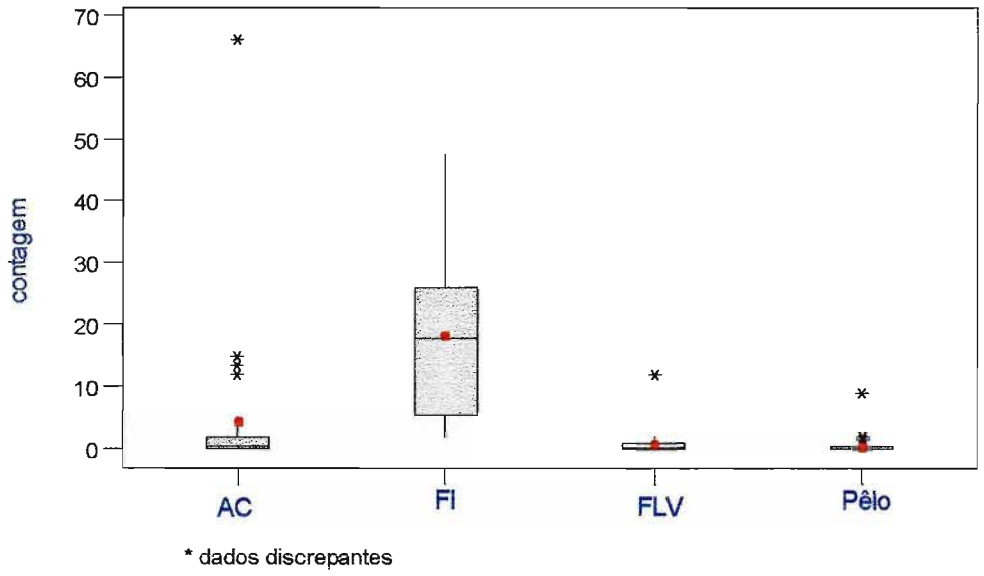


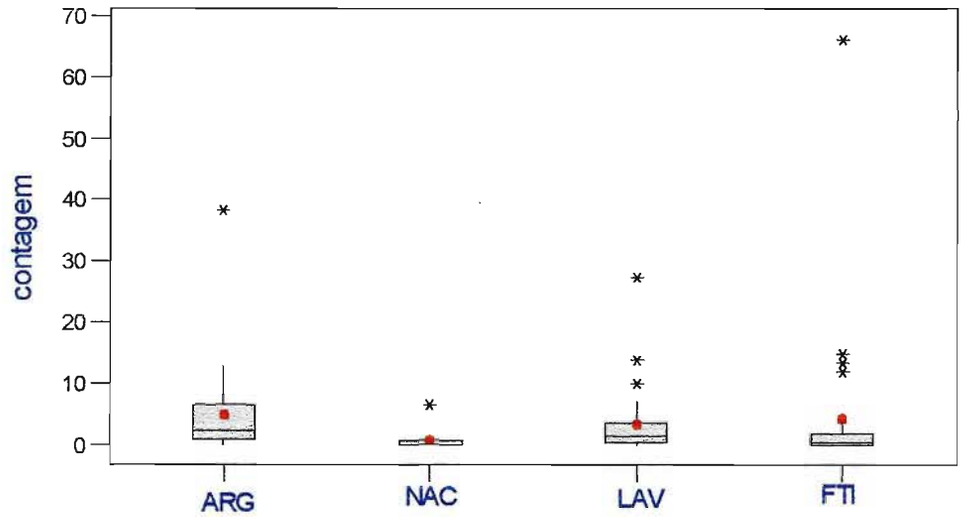
FIGURA 20- Desenho esquemático para distribuição de sujidades leves: ácaros (AC), fragmentos de insetos (FI), fragmentos de larvas (FLV) e pêlos de roedores em farinha de trigo integral.

Pêlos estranhos de qualquer natureza não devem estar presentes no alimento; a identificação é importante para avaliar a significância sanitária do material isolado, que poderá variar desde a contaminação fecal do animal no alimento até ser um contaminante acidental (VAZQUEZ, 1993)

Não há uma ação que se possa erradicar a infestação por roedores ou aves. As indústrias adotam o Controle Integrado de Pragas (CIP) que é um processo de decisões, onde as possíveis soluções são colocadas frente aos problemas de cada indústria com o objetivo de prover soluções seguras, efetivas e economicamente viáveis. Praticamente, o custo-benefício é a maior consideração num programa CIP (FRANTZ & DAVIS, 1991).

5.2.2.2- Ácaros

Os ácaros se apresentam em 57% do total de amostras de farinha de trigo integral. A Figura 21 mostra os níveis médios de ácaros comparando as sub-amostras de trigo e de farinha de trigo integral. A farinha de trigo integral examinada apresentou média e mediana de 4,5 e 0,5 respectivamente. Nessa mesma figura vemos que há dados discrepantes que representam o aumento da população. Em todas as fases do processamento mostraram dados discrepantes.



* dados discrepantes

FIGURA 21- Desenho esquemático para ácaros na produção de farinha de trigo integral: trigo argentino (ARG), trigo nacional (NAC), trigo lavado (LAV) e farinha de trigo integral (FTI).

Esses dados discrepantes podem ser explicados por aumento populacional desses artrópodes, pela surgimento de ambientes ótimos de temperatura e umidade relativa e fonte nutricional adequada. Tal população continuará a crescer até que outros fatores decline essa população.

Nesses picos populacionais na farinha de trigo integral foi observado o aparecimento de ácaros fêmeas com produção de ovos que pertenciam a família Acaridae, assim como os encontrados nos equipamentos, ao contrário dos ácaros encontrados no trigo argentino cuja predominância eram da família Tarsonemidae.

As Figuras 22 e 23 apresentam a distribuição da contagem de ácaros ao longo da coleta de amostras de farinha integral e trigo argentino, respectivamente. Nesses pontos de picos populacionais notou-se o aparecimento de ácaros fêmeas com grande produção de ovos. A limpeza geral do moinho parece ter tido influência sobre a população de ácaros. A maior contagem foi detectada antes da limpeza, tanto para trigo como para farinha sendo reduzidas a seguir. A limpeza foi realizada entre as amostras 17 e 18 que coincidiu com as trocas de safra do trigo argentino (1996/1997)

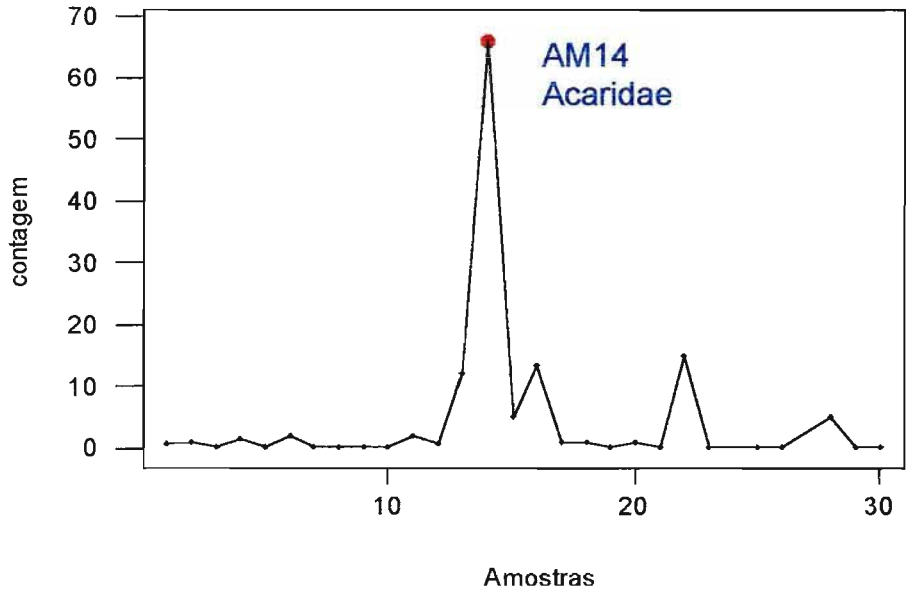


FIGURA 22- Distribuição de ácaros nas sub-amostras de farinha integral ao longo da coleta de amostras, com pico populacional na amostra de número 14.

Os resultados obtidos evidenciam que a contaminação da farinha integral não foi a mesma apresentada no trigo argentino, isso leva a crer que essa contaminação tenha sido oriunda das condições ambientais de produção. Nos equipamentos os ácaros da família Acaridae eram predominantes. Por ser muito complexo o diagrama de moagem, haveria vários pontos onde deveriam ser monitorados, para determinação exata da do local da contaminação.

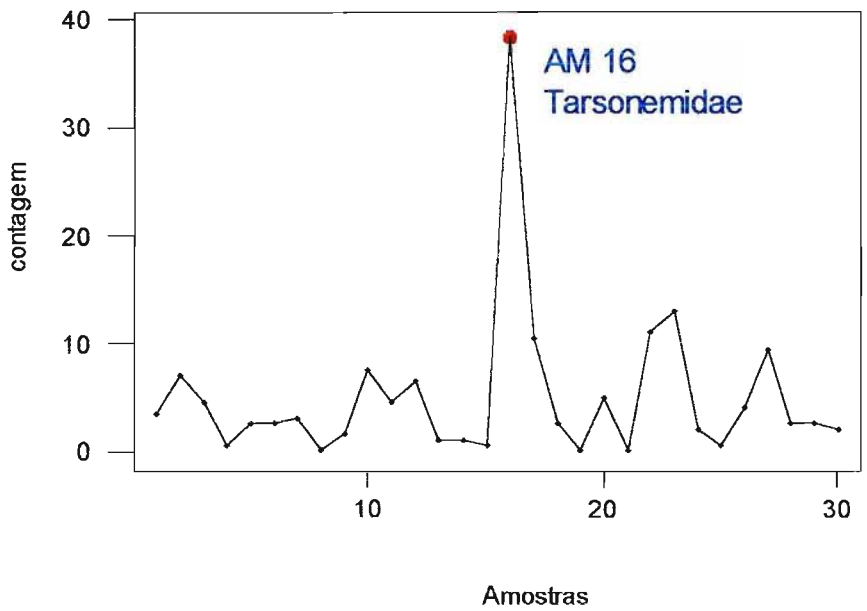


FIGURA 23- Distribuição de ácaros nas sub-amostras de trigo argentino ao longo da coleta de amostras, com pico populacional na amostra de número 16.

Algumas espécies desses ácaros de armazém, encontrados na farinha e nos equipamentos são alergênicos para indivíduos susceptíveis, como demonstrado em estudo realizado por WARNER *et al.*(1999), ARMENTIA *et al.*(1997), causando doenças ocupacionais em trabalhadores na indústria de cereal. De acordo com WARNER *et al.*(1999), a relação da densidade de

ácaros e níveis de anticorpos IgE contra ácaros de armazéns e de poeira domiciliar estão significantemente associados.

Até recentemente, não se suspeitava que a ingestão de ácaros pudesse causar doenças mais sérias. Era bem conhecido o poder potencial como alergênicos pelas vias respiratórias e pela via dérmica. Entretanto, BLANCO *et al.*,(1997), relataram que a ingestão de alimentos contaminados com ácaros pode induzir reação anafilática sistêmica em pacientes com alergia a ácaros.

OLSEN em 1998 num trabalho de revisão, relatou quatro espécies de ácaros que são contaminantes emergentes de alimentos. Foram causadores de reações alérgicas mediadas por IgE, incluindo anafilaxia, em indivíduos que consumiram o alimento contaminado. As espécies de ácaros são as mesmas da poeira domiciliar *Dermatophagoides farinae* (Acarina: Pyroglyhidae), *Suidasia* sp (Acarina: Acaridae) e o ácaro do fungo *Tyrophagus putrescentiae* (Acarina: Acaridae) e *Tyrophagus entomophagus* (Acarina: Acaridae). Nossos resultados mostraram que a família Acaridae foi o maior contaminante na farinha de trigo integral.

GROB & LAUTENSCHLAGER (1998), relataram um pequeno surto pelo ácaro da espécie Pyemotes (Acarina: Acaridae). Este ácaro causou dermatite em 16 pessoas, a maioria delas trabalhadores de armazéns. Nossos trabalho também encontrou esse tipo de ácaro na farinha. Esses ácaros também estiveram presentes em nossos dados.

Dentre as sub-amostras de farinha de trigo integral 57% continham ácaros, estando condenadas pela Portaria já citada anteriormente, que por ser omissa, permite a condenação por qualquer número. É preocupante a presença de ácaros nas amostras de farinha de trigo integral. Para uma discussão completa com relação a legislação dever-se-ia ter um

conhecimento mais detalhado sobre a Acaralogia, sua significância na saúde humana e com isso melhorar o conhecimento para a segurança alimentar.

A análise microscópica de farinhas (ou de outros produtos) deve ter como objetivo a identificação dos insetos, ácaros e pêlos. Isso só é conseguido pelo estudo entomológico, padrões de referência existentes no laboratório e de bibliografia especializada. Os profissionais devem conhecer os diversos tipos de processamentos de alimentos, equipamentos utilizados e suas instalações para que assim em conjunto com inspetores sanitários possam chegar as evidências de contaminações presentes nos alimentos. Somente a prática, o dia-a-dia é que moldará esse profissional. A atuação conjunta de inspetores sanitários e pesquisadores é importantíssimo, formando um time para o esclarecimento das condições higiênicas insatisfatórias e o aperfeiçoamento da produção de alimentos de forma segura, que é o desejo de todas as partes envolvidas: produtor, consumidor e governo.

5.2.3- Ocorrência de Fungos

Na farinha de trigo integral não foi isolada nenhuma espécie de *Fusarium*. As farinhas apresentaram incidência de bolores abaixo do esperado como demonstrado na Tabela 9, sugerindo que o processo de moagem influenciou na micobiota original do epicarpo. Nenhuma farinha de trigo integral apresentou níveis de contaminação acima do limite estabelecido pela legislação em vigor (alínea a do inciso VII da Portaria 451/97 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, BRASIL 1997), colocando a expectativa de alta contaminação oriunda do epicarpo sem fundamento.

TABELA 9- Número e percentual de sub-amostras com presença de fungos.

Farinha de Trigo Integral		
Gênero de fungos	**n**	**%**
Aspergillus spp	17	56,6
Penicillium spp	24	80,0
Outros fungos	20	66,6

O gênero *Penicillium* foi o contaminante mais expressivo com um percentual de 80,0%. Uma proposição de avaliação futura seria comparar as 30 amostras de farinha de trigo comum com 30 de farinha de trigo integral para verificar se os bolores sofreram alguma modificação com a adição do epicarpo.

Nossos resultados estão de acordo com PITT & HOCKING (1997), onde os autores relataram que a incidência de fungos encontrados no trigo são refletidos na farinha e nos seus subprodutos. O autores observaram que o número de fungos de campo que são isolados da farinha são menores do que aqueles presentes no trigo antes da moagem. O número de espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* são dominantes, sendo isto reflexo do grau de esporulação que esses fungos apresentam. Os fungos de campo produzem relativamente pouco esporos.

5.2.4- Ocorrência de desoxinivalenol

A farinha de trigo integral é um produto obtido utilizando todas as partes do grão. O trigo está associado aos tricotecenos, principalmente ao DON. Inúmeros autores relatam a incidência de DON no trigo, inclusive no trigo argentino, e seus subprodutos (FILTENBORG *et al.*, 1996; FRISVAD *et al.*, 1995; FURLONG *et al.*, 1994; MILLER, 1994a,b ;TANAKA *et al.*, 1988.)

A literatura menciona que a contaminação fúngica e conseqüentemente a produção de micotoxinas ocorre mais freqüentemente nas porções externas dos grãos. Uma maior extração na obtenção de farinhas aumenta a possibilidade desses contaminantes químicos (VIEIRA *et al.*, 1999), por conseguinte, poder-se-ia pensar que a farinha de trigo integral, pela adição do epicarpo conteria maiores concentrações de micotoxinas.

Nossos resultados apresentaram somente uma amostra contaminada com DON e na concentração de 231ng/g. Este trabalho utilizou 30 lotes de farinha integral, produzidas num período de 5 meses, com a utilização de 2 safras de trigo argentino. Várias linhagens de fungos do gênero *Fusarium* spp foram isoladas. Entre elas *F. graminearum* e *Giberella zea.* Na amostra que apresentou positiva para DON continha dois tipos de linhagens : *Fusarium poae* e outra não identificada.

SIGIURA *et al.*(1990), demonstraram que a presença de isolados de *G.zea* produzem tanto desoxinivalenol e nivalenol. De acordo com a literatura especializada, para produção de DON há necessidade do grão estar numa Aw maior que 0,90 e deve haver choque térmico de temperatura e uma umidade relativa alta do ambiente (WETTER *et al.*,1999; MEIRELES *et al.*, 1994). Assim sendo, esse tricoteceno somente será produzido no campo.

Segundo SABINO *et al.*(1989), a ocorrência de desoxinivalenol foi verificada em 50 amostras de milho e 70 de trigo e seus produtos (farinha, refeição, etc.) adquiridas em centros comerciais da cidade de São Paulo ou de amostras enviadas ao Instituto Adolfo Lutz devido à suspeita de intoxicação de animais. Somente 2 amostras (1refeição de milho e 1ração) apresentaram desoxinivalenol na mesma concentração (183ng/g).

FURLONG *et al.*,(1995) estudaram a incidência de micotoxinas e fungos em trigos armazenados no Estado do Rio Grande do Sul. Amostras de trigo colhidas de 1988 a 1990 e armazenadas em unidades armazenadoras desse estado, foram analisadas em 1990 para 14 micotoxinas. Somente 3 amostras (safra de 1990) continham DON a uma concentração de 0,40 μg/g .

No Brasil, na região sul do Rio Grande do Sul entre 1995 e 1996 foi estudada a ocorrência de micotoxinas e características físico-químicas de farinhas comerciais (comum, especial e integral). As micotoxinas detectadas foram a ochratoxina A e zearalenona nas concentrações de 12 e 26 ng/g respectivamente e os teores de umidade e cinzas podem estar relacionados com a ocorrência de micotoxinas (VIEIRA *et al.*, 1999).

SOARES-VALENTE & FURLANI (1996) realizaram um levantamento para 14 micotoxinas em trigo e seus derivados comercializados em Campinas no Estado de São Paulo. Os resultados foram negativos para todas as micotoxinas, inclusive DON.

Na Argentina, a cultura do trigo é economicamente significativa. A ocorrência natural de DON e de zearalenona em amostras de trigo das províncias de Buenos Aires e Santa Fé foram avaliadas em levantamento conduzido de 1985 a 1992. DON foi detectado em todas as amostras. A média variou anualmente em ng/g: **1985**-570,9; **1986**-329,5; **1989**-47,5; **1990**-145,8; **1991**-54,7; **1992**-75,3. Foram detectadas 3-Acetyyl DON em 22 amostras e zearalenona em 78 amostras (QUIROGA *et al.* 1995).

RESNIK *et al.*(1995), na Argentina, estudaram a contaminação de trigo na principal zona produtora, representando 123000 toneladas (amostras colhidas durante a colheita de 1986/1987). O estudo mostrou que zearalenona esteve presente em 29% das amostras (50-1800 μg/Kg), desoxinivalenol DON em 64% (90-2400ng/g), e outros tricotecenos .

PACIN *et al.*(1997) sugerem que, quando as condições meteorológicas favorecem a contaminação, é necessário realizar controle rigoroso antes do armazenamento. Esses autores observaram a ocorrência de DON em trigo argentino em algumas regiões entre 1993/94. O trigo contaminado continha de 100 a 9250 ng/g de DON .

GONZALEZ *et al.*(1999), verificaram a contaminação natural por DON realizada num total de 60 amostras. Os níveis de contaminação nas amostras positivas variaram de 26 a 6400 ng/g.

Portanto, nossos resultados vêm de acordo com os autores nacionais citados, que tem pesquisado DON em trigo e derivados. Em contraste com outros países que têm apresentado níveis de DON constantes como na China, Rússia, Polônia. TANAKA *et al*, 1988 examinaram amostras de cereais vindos de 19 países e encontraram 87 trigos contaminados por DON (média de 488ng/g).

5.3- O SISTEMA APPCC E A FARINHA DE TRIGO INTEGRAL

O sistema APPCC depende das informações produzidas por estudos epidemiológicos, que identificam os perigos potenciais e importantes, identificando os fatores de risco que representam(BARTLETT & JUDGE, 1997).

As doenças veiculadas por alimentos e os males causados por alimentos contaminados são um dos maiores problemas do mundo contemporâneo. As doenças são de natureza tóxica ou infecciosa e são causadas por resíduos de pesticidas, micotoxinas, metais tóxicos ou microrganismos patogênicos (NOTERMANS & HOOGENBOON-VERDEGAAL, 1992)

Estudos toxicológicos mostram que o DON tem efeitos que estimulam e suprimem a função imune, inibem a síntese de RNA e DNA e induzem a produção de citocinas. Casos de intoxicação aguda em humanos e animais têm sido caracterizados pela síndrome do choque multi-sistêmico, com sinais clínicos que incluem: irritação dérmica, náusea, vômito, diarréia, hemorragia e lesões hematológicas tais como, leucopenia e anemia. Muitos mecanismos estudados não são conclusivos e dependem ainda de mais estudos como a o potencial de DON em causar doenças crônicas como a nefropatia do tipo IgA em humanos (ROTTER *et al.*, 1996).

KUIPER-GOODMAN (1985), estimaram a ingesta diária tolerável para adultos e crianças em 3,0μg DON/Kg e 1,5μg DON/Kg de peso corpóreo, respectivamente. No Canadá, a legislação recomenda 2ppm de DON em trigo mole sujo e para grãos destinados a alimentação infantil 1ppm. Nos USA foram estabelecidos níveis recomendados de tolerância: 1ppm para farelo, farinha e germe de trigo destinados ao consumo humano. No presente trabalho , na farinha de trigo integral estudada, a contaminação por DON foi de 1:30 e em concentração menor que a recomendada em diversos países, 231 ng/g.

Na Figura 24 está representado o fluxograma do processamento da indústria estudada, indicando os referidos PCCs:

1-) PCC químico, desoxinivalenol, que somente será controlado na recepção, uma vez que os Princípios Gerais de Higiene Alimentar sejam seguidos,

2-) PCC biológico os ácaros contaminantes de alimentos causadores de reações alérgicas. Estes deverão ser controlados nos equipamentos uma vez que nesses pontos a população foi a de maior ocorrência.

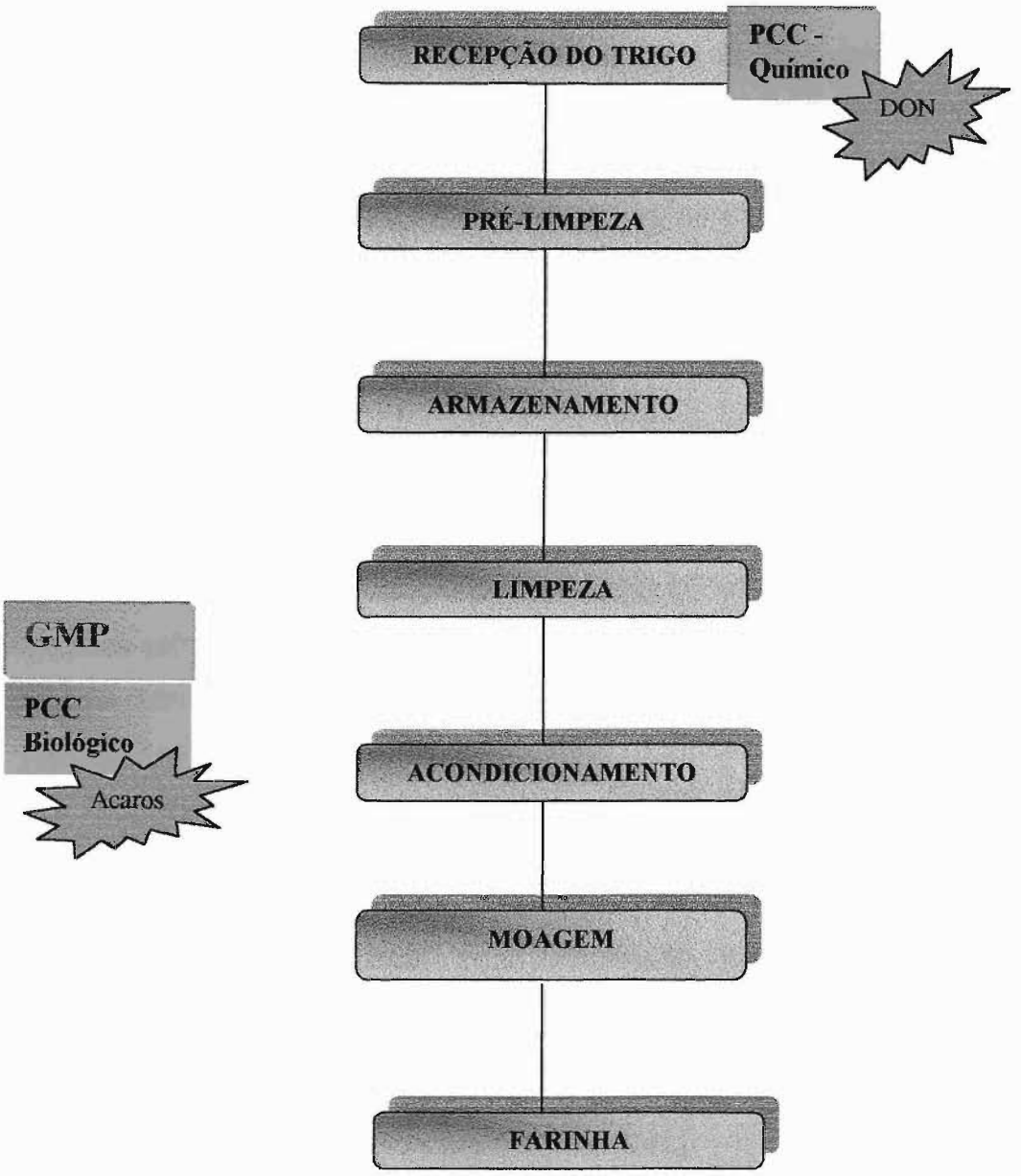


FIGURA 24- Fluxograma de produção de farinha de trigo integral e a identificação dos PCCs (Ponto Crítico de Controle) para DON e para ácaros alergênicos.

Considerando que a aplicação do sistema APPCC tem conotação preventiva e que os resultados de monitoramento de PCC devem permitir uma ação rápida, sugerimos os "kits" de imunoensaio, que dessa maneira oferecem resultados confiáveis para o gerente, que deverá destinar os grãos conforme sua qualidade ou a compra de grãos de trigo certificados pelas cooperativas de origem, para níveis para DON estipulados pela indústria. Cabe lembrar aqui que existem no mercado "kits" para várias micotoxinas em um único teste.

O comprador deve estar alerta, uma vez que a produção desse tricoteceno depende de condições ambientais e climáticas, ocorrendo com freqüência em zonas de produção argentina em concentrações variáveis de safra para safra. Ele poderá estabelecer como limite crítico os estudos sobre a ingesta diária de KUIPER-GOODMAN(1985).

No sistema APPCC, na recepção, deverá haver uma planilha de registros da entrada do trigo no moinho, com os dados da certificação dos trigos ou com os dados analíticos de DON nas amostras selecionadas. Esta planilha, perante a fiscalização, é um documento importantíssimo pois é o controle da produção frente a um determinado perigo, desde que todas os princípios do sistema APPCC sejam cumpridos como a própria verificação do sistema APPCC.

Quanto ao exame de artrópodes encontrados conclui-se que a presença destes pode contribuir para o aparecimento de condições ótimas para o desenvolvimento de fungos toxigênicos e até levar a produção de micotoxinas. Este não é o caso do DON, uma vez que as informações disponíveis na literatura mostram que sua produção nos grãos está relacionada a condições climáticas particulares, como a ocorrência de dias muito quentes e noites muito frias, esse choque térmico parece ser o iniciador da produção de DON.

Como os ácaros também podem ser agentes de doenças, causando enfermidades (OLSEN, 1998), é recomendável que essa população seja controlada na farinha e comparada com os ácaros de ambiente de trabalho no moinho. Segundo nosso estudo, os ácaros da família Acaridae foram os encontrados predominantemente no ambiente de trabalho (equipamentos). Sugerimos um controle da farinha que poderá ser estabelecido internamente pelo produtor resultante da sua prática, com a respectiva identificação dos ácaros presentes. Todos os resultados deverão fazer parte de uma planilha de registros. Essas análises poderão ser terceirizadas e o laudo da empresa prestadora de serviço estará registrado certificando para a indústria que ela está trabalhando dentro de um critério de segurança alimentar e que seu produto está isento de responsabilidade até determinada etapa de produção, ou ampliará até o distribuidor do produto.

O controle de artrópodes e fungos estão relacionados com as Boas Práticas de Produção (GMP) que abraça princípios fundamentais e procedimentos para projetar um ambiente adequado para produção de alimento com qualidade aceitável. Os governos, a indústria de alimentos e o Comitê do Codex Alimentarius em Higiene de Alimentos desenvolveram os requisitos básicos para essas práticas. Um controle da população de insetos, ácaros e ratos se faz necessário através de um Controle Integrado de Pragas.

No mercado há "softwares" que auxiliam no gerenciamento e na tomada de decisões sobre a infestação de insetos nos estoques de grãos de trigo. Também auxiliam em como amostrar e identificar insetos existentes. Modelos computacionais de crescimento de população permitem a esses programas predizerem a futura população, assim como analisa a degradação de inseticidas, os efeitos da fumigação e o resfriamento da massa de trigo pela aeração. Demonstram graficamente a tendência da população, sendo importantes no controle de bons estoques.

Esse estudo é parte da avaliação de perigos nessa classe de produtos. É indicativo das diretrizes a serem seguidas na aplicação do sistema APPCC e é útil como norteamento para fiscalização e gerenciamento de perigos. Todos os estabelecimentos que comercializam alimentos têm a responsabilidade primária pela segurança alimentar. O desenvolvimento e a implementação do sistema APPCC é a maneira responsável de garantir a segurança do alimento oferecido para consumo.

6- CONCLUSÕES

No estudo da metodologia analítica para extração de sujidades leves em farinha de trigo integral conclui-se que:

- Para o isolamento de fragmentos de insetos, a modificação da metodologia apresentou coeficientes de variação melhores que o estudo interlaboratorial da AOAC. Quando comparamos o analista A e B o segundo obteve dados mais precisos embora a exatidão foi igual para ambos.

- Para o fator pêlos de roedor a performance do método mostrou se abaixo da esperada, com coeficientes de variação inferiores ao estudo interlaboratorial da literatura. Foi observado que a agitação magnética teve influência na recuperação desse contaminante biológico e portanto considerada um ponto crítico na marcha analítica.

Pelos resultados obtidos no presente estudo, em moinho localizado na cidade de São Paulo com capacidade de moagem para 15 ton./h, e no período analisado de outubro de 97 a março de 98, utilizando trigos provenientes da Argentina e do Brasil podemos concluir que:

- Os equipamentos mostraram alta infestação por ácaros, sendo a família Acaridae predominante, e por insetos coleópteros com predominância da espécie *Sitophilus oryzae* .

- A população de insetos da Ordem Coleoptera estava controlada nos trigos, e a da Ordem Thisanoptera foi encontrada em maior quantidade nos trigos estudados, sendo que o processamento provocou sua eliminação na farinha de trigo integral.

- 90% das sub-amostras de trigo argentino apresentaram ácaros, sendo a família Tarsonemidae predominante, 53% das sub-amostras de trigo nacional apresentaram ácaros sendo a família Acaridae predominante.

- Os resultados relativos ao trigo lavado permitem concluir que a contaminação por ácaros não foi eliminada na limpeza.

- Os ácaros presentes na farinha de trigo integral pertenciam a família Acaridae, com presença de fêmeas grávidas nas maiores freqüências, evidenciando a existência de focos na tubulação por onde passa o produto, sugerindo que a contaminação da farinha teve origem no processamento da farinha de trigo integral.

- Os fungos do gênero *Aspergillus* foram os de maior ocorrência nos trigos e o gênero *Fusarium* os de menor ocorrência, não sendo este último detectado em nenhuma das farinhas analisadas. O gênero *Penicillium* foi predominante nas farinhas integrais. Esses resultados sugerem que o processo de moagem modificou a microbiota existente nos grãos.

- A ocorrência de DON nas farinhas integrais mostrou-se baixa, na proporção de 1:30, e vem de acordo com vários autores nacionais.

- O ponto crítico de controle para o tricoteceno DON é a etapa de recepção, onde deverão ser verificados através de estudo estatístico apropriado.

- O ponto crítico de controle para ácaros alergênicos é a manutenção da GMP para o controle da população desses ácaros no produto final.

- Pelo estudo conclui-se que o sistema APPCC se ajusta a este segmento da indústria, onde a característica do produto, como baixa Aw, não é uma garantia de segurança por si só. Há outros fatores que devem ser

analisados pela indústria como compra, transporte, armazenagem de trigos e GMP. Os registros e controles destes deverão ser realizados como garantia da segurança do alimento por parte da indústria.

7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, H.K., MIROCHA, C.J., PAELOSKY, R .J., PUSCH, D.J. Effect of cleaning, milling, and baking on deoxynivalenol in wheat. **Appl. Environ. Microbiol.,** Whashington, v. 50, n.2, p. 482-486. 1985.

ARMENTIA, A., MARTINEZ, A., CASTRODEZA, R., MARTINEZ,J., JIMENO, A., MENDEZ, J., STOLLE, R. Occupational allergic disease in cereal workers by stored grain pests. **J. Asthma**, Baltimore, v.34, n.5, p. 369-78, 1997

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Method of Analysis of AOAC.** 16 ed., Washington, 1995a, p: 1-4

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Method of Analysis of AOAC.** 16 ed., Washington, 1995b, p.16 e 17.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Method of Analysis of AOAC.**16 ed., Washington, 1995c p.14 .

BARTLETT, P.C. & JUDGE, L.J. The role of epidemiology in public health. **Rev. Sci. Tech**. New York, v.16, n.2, p. 331-6, 1997.

BERNTON, H.S., Mc MAHON, T.T., BROWN, H. Coackroach asthma. British Journal of the diseases of the chest, v.66, n.1, p. 61-66. 1972. Apud BRENNER, R.J. Commentary on Heath Considerations: Overt and Insidious Implications of Food Pests and Health. In: GORHAM, J.R. ed. **Ecology and Management of Food-Industry Pests** (FDA Techinical Bulletin 4) Association of Official Analytical Chemists, Arlington.

BERNTON, H.S., BROWN, H. Insect allergy: The allergenicity of the excrement of the cockroach. Annals of allergy. V. 28, n.11, p. 543-547.1970. Apud BRENNER, R. J. Commentary on Heath Considerations: Overt and Insidious Implications of Food Pests and Health. In: GORHAM, J.R. ed. **Ecology and Management of Food-Industry Pests** (FDA Techinical Bulletin 4) Association of Official Analytical Chemists, Arlington.

BHAT, R.V; RAMAKRISHNA, Y.; BEEDU, S.R., MUNSHI, K.L Outbreak of tricothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould-damaged wheat products in Kashmir Valley, India **The Lancet**, London, v:I, n 8628, january, p. 35-37. 1989.

BLANCO, C., QUIRALTE, J., CASTILLO, R., DELGADO, J., ARTEAGA, C., BARBER, D., CARRILLO,T. Anaphylaxis after ingestion of wheat flour contaminated with mites. **J. Allergy Clin. Immunol.,** St Louis, v. 99, n. 3, p. 308-13. 1997.

BLANK, G., GOSWAMI, N., MADRID, F., MARQUARDT, R. R., FROHLICH, A.A. Evaluation of Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) **J. stored Prod. Res.,** Elmsford, v.31, n.2, p. 151-155, 1995.

BOCZEK, J. Mite Pests in Stored Food. In: GORHAM, J.R. ed. **Ecology and Management of Food-Industry Pests** (FDA Techinical Bulletin 4) Association of Official Analytical Chemists: Arlington, p.57-79,1991.

BOOTH, R.G., COX, M.L. and MADGE, R. B. - **IIE Guides to insects of importance to man. 3.Coleoptera**. Cambridge- The Natural History Museum. 384p. 1990.

BORROR, D.J & WHITE, R.E. **A Field Guide to Insects.** Houghton Mifflin Company: Boston.1970. 404 p.

BORROR, D.J., DeLONG, D.M. **Introdução ao Estudo dos Insetos**. Edgar Blucher: São Paulo. 1988, 653p.

BRASIL 1994 Ministério da Saúde . Portaria 74/94 de 03-08-94. **Diário Oficial da União** Brasília, n°147, pp.11640-11642. 1994 Seção 1. [Nesta portaria estabelece novos limites para fragmentos de insetos para farinha de trigo e seus derivados, em substituiçãoa antiga portaria DINAL/MS n°1, de 04 de abril de 1986.]

BRASIL 1993. Ministério da Saúde. Portaria 1428 de 26-11-1993. **Diário Oficial da União,** Brasília, n°229, p18415-18419,1993, Seção 1. [Regulamenta a inspeção sanitária de alimentos através da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle e das Boas Práticas de Produção]

BRASIL 1997. Ministério da Saúde. Portaria 451 de 1997. **Diário Oficial da União,** Brasília, n°, p,1997, Seção 1. [Aprova o regulamento técnico e princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos.]

BRENNER, R.J. Commentary on Heath Considerations: Overt and Insidious Implications of Food Pests and Health. In: GORHAM, J.R. ed. **Ecology and Management of Food-Industry Pests** (FDA Techinical Bulletin 4) Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, p.483-488, 1991.

BRICKEY, P.M. Jr. Extraneous Materials in Ground Cocoa Bean Products. **J. Assoc. Anal. Chem.,** Arlington v. 48, n.3, p.543-545, 1965.

BRICKEY, P.M., GECAN, J.S., THRASHER, J.J., EISENBERG, W.V. Analytical Entomology of Foods and Drugs. **J. Assoc. Anal. Chem.,** Arlington, v.51, n.4, 1968.

BUSSAB, W.O. & MORETTIN, P.A. **Estatística Básica** 4ª edição, São Paulo: Atual, 1985

CAMPBELL-PLATT, Editorial: Food Control and its impact on Food Safety. **Food Control,** Oxford, v.8, n.1, p. 1-3, 1997.

CARDINALI, S., LUPIERI, I. Food Quality Assurance: The Italian Situation With Respect To The Norms of European Union. **Italian J. of Food Science**, Torino, v.VIII, n.3, p.131-142, 1996.

CARVALHO, L.E.- Rotulagem de Alimentos no Primeiro e no Terceiro Mundo. **Bol. SBCTA,** Campinas, *v.*24, n.3/4, p.111-121, 1990.

CASTRO, M.F.P.M., PACHECO, I. A., SOARES, L.M.V., FURLANI, R.P.Z. Phosphine Fumigation of Stored in-shell Peanuts for the Control of *A.flavus.* LINK e *A.parasiticus* SPEARE Growth and Aflatoxin Production. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v.26, n.4, p. 296-301, 1995.

CHEFTEL, J.C. & CHEFTEL, H. **Introduccion a la bioquímica y tecnologia de los alimientos**. Acríbia:Zaragoza, v.1, 1989, p.17-21.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento)- **Boletim Agropecuário**- maio/99 http//w.w.w. conab.gov. br/htm/abast/sana/avaria.htm. 1999.

DALCERO, A., CHULZE, S., TORRES, A., RODRIGUES, M., COMBINA, M. Effect of pesticides in *Alternaria alternata* mycotoxins production. **Mycotoxin Research.,** Mainz, v. 11, n. , p.69-74, 1995.

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

DELAZARI, I. **Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle**. FCF-USP . São Paulo. 1996. 33p.

DUNKEL, F.V. The relationship of insects to the deterioration of stored grainby fungi. **Int. J. of Food Microbiology**, Amsterdam, v.7, n.3, p.227-244, 1988.

FAO (Food and Agriculture Organization of The United Nations)- **Curso: Capacitação de Capacitadores na Aplicação do Sistema HACCP** (Análise de Perigos e Controle de Pontos Crítico). [São Paulo.1996 a. FAO. Seção 3,módulos 1-12].

FAO (Food and Agriculture Organization of The United Nations) **La utilización de los principios del analisis de riesgos y de los puntos críticos de control en el control de alimentos**. Estudio FAO Alimentacion y Nutricion n°58. Informe de una Reunión Técnica de Expertos de la FAO. Vancouver, (1994), Roma, 1996b.

FAO (Food and Agriculture Organization of The United Nations). **Food Quality and Safety Systems** - A training manual on hygiene and the Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) system, Roma, 1998.232p.

FDA/AOAC (Food and Drug Administration e Association of Official Analytical Chemists) **Bacteriological Analytical Manual-** Enumeração de fungos em Alimentos Plating Techinique for Foods. 7ª editon. 1992.

FDA (Food and Drug Administration). **HACCP: A State-of-the-Art Approach to Food Safety**. www.fda.gov (FDA/CFSAN FDA Backgrounder), 1997. 3p.

FERTENSTEIN, G.N. Biochemical changes during moulding of self-heated hay in Dewar flasks. **J. Sci. Food Agric.,** London, v.17, p.130-133,1966.

FILTENBORG, O., FRISVAD, J.C., THRANE, U. - Moulds in Food Spoilage - **Int. J. of Food Microbiol.,** Amsterdam, v. 33, p. 85-102, 1996.

FLECHTMANN,C.H.W. **Ácaros de importância agrícola**. São Paulo: Nobel. 1989.189p

FLINN, P.W. and MUIR, W.E. Expert Systems Concept. In: **Stored-Grain Ecosystems**. Jayas, D.S.; White, N.D.G.; Muir, W.E. editors. Marcel Dekker: New York. p.33-54.1995

FOGLIAZZA D., PAGANI, M. - Insect pests in stored foodstuffs in Italy- Part 1 : Coleoptera - **Técnica Molitoria,** p.937-951, 1993.

FONSECA, H. **Micotoxinas em Milho**. Parte 1 Anais do Simpósio sobre " Tecnologia da Produção de Milho" Fancelli, A.L., Dourado-Neto, D. (coordenadores). ESALQ/USP, 1997.174p.

FRANTZ, S.C & DAVIS, D.E. Bionomics and integrated Pest Management of commensal rodents In: In: GORHAM, J.R. ed. **Ecology and Management of Food-Industry Pests** (FDA Techinical Bulletin 4) Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia. p: 243-313.

FRANZOLIN, M.R. Interação entre *Aspergillus flavus* Link toxigênico e ácaro (Tyrophagus putrescentiae Schrank), em amostras de grão de milho. São Paulo, 1998, 130p. (Tese de doutorado-Instituto de Ciências Biomédicas-USP).

FRANZOLIN, M.R., GAMBALE, W., CUERO, R..G e CORREA, B. Interaction between toxigenic Aspergillus flavus Link and mites (Tyrophagus putrescentiae Schrank) on maize grains: effects on fungal growth and aflatoxin production. **Journal of Stored Products Research.,** Elmsford, v.35, n.3, p.215-224,1999.

FREEMAN, C.C. Techique for preparing spike elements for study samples of extraneous materials. **J. Assoc. Anal. Chem.,** Arlington, v.65, n.2, p. 277, 1982.

FRISVAD, J.C. Mycotoxins and Mycotoxigenic Fungi in Storage. In: **Stored-Grain Ecosystems**. Jayas, D.S.; White, N.D.G.; Muir, W.E. editors. Marcel Dekker: New York. p.251-288.1995

FURLONG, E.B., SOARES, L.M.V., LASCA, C., KOHARA, E.Y. Mycotoxins and fungi in wheat stored in elevators in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Food Additives and Contaminants,** London, v.12, n.5, p. 683-688, 1995.

GELLI, D.S., JAKABI, M., PORTO, E. Isolamento de Aspergillus spp aflatoxigênicos de produtos alimentícios. **Rev. Ins. Adolfo Lutz,** São Paulo, v.50, n. ½, p.: 319-323. 1990

GLAZE, L.E., BRYCE, J.R. Extraction of Light Filth from Whole Wheat Flour, Flotation Method: Collaborative Study.- **J. Assoc. Anal. Chem Int**. Arlington, v. 77, n.5, p.1150-1152, 1994.

GONZALEZ, H.H., MARTINEZ, E.J., PACIN, A., RESNIK, S.L. Relationship between Fusarium graminearum and Alternaria alternata contamination and deoxynivalenol occurence on Argentinian durum wheat. **Mycopathologia,** Den Haag, v.144, n.2, p.97-102, 1999.

GROB, M., LAUTENSCHLAGER, S. Grain Mites. A small epidemic caused by Pyemotes species. **Hautarzt,** Heidelberg, v.49, n.11, p. 838-43, 1998.

HAGSTRUM, D.W., FINN, P.W. and SUBRAMANYAM, Bh. Predicting insect dessity from probe trap catch in farm-stored wheat. **Journal of Stored Products Research,** Elmsford, v.34, n.4, p.251-262, 1998.

HAGSTRUM, D.W., MEAGHER, R.L. and SMITH, L.B. Sampling Statistics and Detection or Estimation of Diverse Populations of Stored-Product Insects. **Environmental Entomology**, College Park, v. 17, n.2, p.377-390, 1988.

HAGSTRUM, D.W., MILLIKEN, G. A., MERRILEE, S.W. Insect Distribution in bulk-stored wheat in relation to detection or estimation of abundance. **Environmental Entomology**, College Park, v. 14, n. 6, p. 655-661.1985

HART, L. P., BRASELTON, W.E. Jr. Distribution of vomitoxin in dry milled fractions of wheat infected with Giberella zeae. **J. Agric. Food Chem.**, London, v.31, n.3, p.: 657-9, 1983.

HALSTEAD, D.G.H. Keys for the identification of beetles associated with stored products. I- Introduction and key to families. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 22 p.163-203, 1986.

HUGDES, A. M. **Mites of stored food and houses**. 2ª ed. London. Min. Agriculture and Food, 1976.

INTERNATIONAL COMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Aplication of the Hazard analysis critical control point (HACCP) system to ensure microbiological safety and quality,** Oxford: Blackwell Scien.Publ., p.159-164, 1988

JACOBS, D. R. Jr. "Whole grain intake may reduce the risk of ischemic heart desease death in postmenopausal women: The Iowa Women Health Study" **American J. of Clinical Nutrition** , New York, v.68, n.2, p.248-57, 1998.

JAYAS, D.S., MUIR, W.E., WHITE,D.G. Engineering Aspects of Grain Storage for Quality maintaenance. In: **Proceedings International Wheat Quality Conference**, Steele, J.L and Chung, O. K .editors, Manhattan, 1997

JOFFE, A.Z. Mycotoxins, I.F.H. Purchase (Ed), Elsevier Sci. Publ. Co:Amsterdam. Apud MIROCHA, C.J., PAWLOSKY, R.A., CHATTERJEE, K., WATSON, S., HAYES, W. -Analysis for Fusarium Toxins in Various Samples Implicated in Biologicaal Warfare in Soootheast Asia.**- J. Assoc. Off. Anal.. Chem.,** Arlington, v.66, n.6, 1983.

KENT, N.L., EVERS, A.D. **Technology of Cereals**. 4 ed. Cidade: Pergamon, 1994. 334p.

KNABEL, S.J. Foodborne Illness: Role of Home Food Handling Practices. **Food Technology**, Chicago, v. 49, n.4, p. 119-131, 1995.

KRANTZ, G. W. **Manual of Acaralogy**. 2ª ed. Oregon State:University Book Stores. 1978. 509p.

KUIPER-GOODMAN, T. Potential human health hazards and regulatory aspects. In Mycotoxins a Canadian perspective, eds. P.M.Scott, H.L. Trenholm, and M.D Suttton, pp. 103-111, 1985. Apud: ROTTER, B. A., PRELUSKY, D.B., PESTKA, J.J. Toxicology of deoxynivalenol (vomotoxin). **J. Toxicol. Environ. Health,** Washington, v.48, n.1, p.1-34, 1996.

LAMB, R. J., LOSCHIAVO, S.R. Diet,Temperature, and logistic model of developmental rate for *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Can. Entomol**.,v.113, p. 813-818, 1981.

LEAL A. B. O trigo e o sonho. **Folha de São Paulo** . Edição nacional, seção opinião econômica . ed. de 12 agosto de 1995 .

LIPPERT, G.E., HAGSTRUM, D.W. Detection or estimation of insect populatios in bulk-stored wheat with probe traps. **J. of Economic Entomology,** College Park, v. 80, n. 3, p. 601-604. 1987

LORINI, I., GALLEY, D.J. Deltamethrin resistance in Rhyzopertha dominica (F.) (Coleoptera:Bostrichidae), a pest of stored grain in Brazil. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v.35, n.1, p.37-45, 1999.

LUPIEN, J.R The influence of Trade Agreements on the Food Industry in the Region -Food Standards Issue. **Bol. da SBCTA**, Campinas, v.30, n.2, p.106-111, 1996.

LUTEY, R.W., CHRISTENSEN, C.M. Influence of moisture content, temperature and length of storage upon survival of fungi in barley kernels. **Phythopatology,** Lancaster, v.53, p.713-717, 1963.

MAGAN, N., CAYLEY, G.R., LACEY, J. Effect of water activity and temperature on mycotoxin production by Alternaria alternata in a culture and on wheat grain. **Appl. Environ. Microbiol**., Washington, v.47, p.1113-1117,1984.

MARASAS, W.F.O. **Fusarium**. In: Foodborne desease handbook. Edited by: HUI, Y.H.; Gorham, J. R.; MURREL, K.D. e CLIVER, D.O. New York: Marcel Dekker, p. 521-573, 1994.

MATTERN, P.J. Wheat In: LORENZ,K.J., KULP, K. **Handbook of Cereal Science and Technology** -, New York: Marcel Dekker, 1991. 884p.

MEIRELES, M.C.A., CORRÊA, B., FISCHMAN, O., GAMBALE, W., PAULA, C.R., CHACON-RECHE, N.O., POZZI, C.R. Mycoflora of the feeds associated with equine leukoencephalomalacia(ELEM) outbreaks in Brazil. **Mycopathologia,** Den Haag, v.127, p. 183-188, 1994.

MERONUCK, R.A. Effect of Wheat Scab and Karnal Bunt on Quality - **International Wheat Quality Conference** J.L.Steele and O K.Chung, editors Manhattan 1997.

METCALF, C.L., FLINT, W.P. Destructive and usefulinsects:their habit and control. New York: London: Mc Graw Hill, 1962. 1087p. apud PACHECO, I. A. e De PAULA, D.C. **Insetos de grãos-armazenados-Identificação e biologia**. Fundação Cargill. Campinas, 228p. 1995.

MILLER, J.D. Epidemiology of Fusarium ear diseases of cereals (chapter 2) In: MILLER, J.D and TRENHOLM, H.M. ed. **Mycotoxins in Grains**. Saint Paul: Eagan Press. p. 19-36 1994a.

MILLER, J.D. Fungi and Mycotoxins in Grain: Implications for Stored Product Research **J.Stored Prod. Res.,** Elmsford, v.30, n.1, p.1-16, 1994b.

MILLS, J.T. Ecology of Mycotoxigenic Fusarium species on cereal seeds. **J. of Food Protection**, Ames, v. 52, n. 10, p. 737-742.1989

MILLS, R., PEDERSEN, J. **A Flour Mill Sanitation Manual.**, Minnsesota: Eagan Press, 3ed., 1992. 164 p.

MILTON, R.F., PAWASEY, R.K. Spoilage relating to the storage and transport of cereals and oil seeds. **Int. J. of Food Microbiology**, Amsterdam, v.7, n.3, p.211-217, 1988.

MIROCHA, C.J., PAWLOSKY, R.A., CHATTERJEE, K., WATSON, S., HAYES, W. -Analysis for Fusarium Toxins in Various Samples Implicated in Biologicaal Warfare in Sooutheast Asia.- **J. Assoc. Off. Anal.. Chem.** Arlington, v.66, n.6, 1983.

MISLIVEC, P.B.; BEUCHAT, L.R.; COUSIN, M.A. Yeasts and Molds (Cap. 16) In: **Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods**. 3ª ed. Editors Carl Vanderzant , Don F. Splittstoesser. APHA: Washington . 1992. p.239-249.

MOSSEL, D.A.A. Mould spoilage of cereals during transportation by sea from Latin America to Europe. Mechanisms, impact and management. **Int. J. of Food Microbiology**, Amsterdam, v.7, n.3, p.205-209, 1988.

MOTARJEMI, Y., KÄFERSTEIN, E., MOY, G., MIYAGAWA, S., MIYAGISHIMA, K. -Importance of HACCP for Public Health and Development- The role of the World Health Organization- **Food Control**, Oxford, v.7, n.2, p.77-85, 1996.

NEIRA, M.S., PACIN, A,M. MARTÍNEZ, E.J., MOLTÓ, S.L., RESNIK, S.L. The effects of bakery processing on natural deoxynivalenol contamination. **Int. J. of Food Microbiology**, Amsterdam, v.37, n.1, p. 21-25, 1997.

NOTERMANS, S., HOOGENBOOM-VERDEGAAL, A. Existing and emerging foodborne diseases. **Int. J. of Food Microbiology**, Amsterdam. v.15, n.3/4, p.197-205, 1992.

OLSEN, A. R. Regulatory Action Criteria for Filth and Other Extraneous Materials II Allergenic Mites: Na Emerging Food Safety Issue. **Regulatory Toxocology and Pharmacology,** Orlando, v.28, p.190-198, 1998.

PACHECO, I. A. e De PAULA, D.C. **Insetos de grãos-armazenados-Identificação e biologia**. Fundação Cargill. Campinas, 228p. 1995.

PACIN, A.M., RESNIK, S,L., NEIRA, M.S., MOLTÓ, G., MARTINEZ, E. Natural occurance of deoxynivalenol in wheat, wheat flour and bakery products in Argentina. **Food Additives and Contaminants**, London, v.14, n.4. p.327-331, 1997.

PEDERSEN, J.R. Insects: Identification, Damage and Detection In: **Storage** edited by SAUER, D.B. St Paul: Association of Cereal Chemists, p 435-489,1992.

PEREIRA, P.R.V.S. Comparação entre dois métodos para detecção de coleopteros adultos (Insecta: Coleoptera) e ocorrencia de fungos em trigo armazenado. Curitiba, 1994.62p. (Tese de Mestrado em Ciências Biológicas-UFPR).

PITT, J.I., HOCKING, A.D., **Fungi and Food Spoilage**. 2.ed., London: Blackie Academic & Professional, 1997. 450p.

PRATES, H.T., SANTOS, J.P., WAQUIL, J.M., FABRIS, J.D., OLIVEIRA, A.B., FOSTER, J.E. Inseticidal activity of monoterpenes aginst Rhyzophertha domonica (F.) and Tribolium castaneum (Herbst). **J. Stored Prod. Res.** Elmsford, v.34, n.4, p.243-249, 1998.

QUIROGA, N., RESNIK, S.L., PACIN, A., MARTINÉZ, E., PAGANO, A., RICCOBENE, J. e NEIRA, S. Natural occurence of tricotecene and zearalenone in argentine wheat. **Food Control**, Oxford, v.6, n ,p.201-204, 1995.

RCW CONSULTORES Panorama do trigo www//Rcwconsultores.com.br/trigo/ **Panorama-trigo**-htm. 1999.

RESNIK, S., COSTARRICA, M.L., PACIN, A. Mycotoxins in Latin America and Caribbean - **Food Control,** Oxford, v.6, n.1, p.19-28, 1995.

ROTTER, B.A., PRELUSKY, D.B., PESTKA, J.J. Toxicology of deoxynivalenol (vomotoxin). **J. Toxicol. Environ. Health**, Washington, v.48, n.1, p.1-34, 1996.

SABINO, M. **Micotoxinas**. Instituto Adolfo Lutz São Paulo, 1996, p 4-8. (apostila mimeografada).

SABINO, M., ICHIKAWA, A.H., INOMATA, E.I., LAMARDO, L.C.A. Determinação de deoxynivalenol em trigo e milho em grão por cromatografia em camada delgada. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v.49, n.2, p.155-159, 1989.

SABINO, M., RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Mycotoxin research in Brazil. **Ciência e Cultura**, v.45, n.6, p. 359-371.1993.

SALGADO, J.M, CARVALHO, P.C.T. Fungos toxigênicos associados à cereais. 1- Levantamento da micoflora associada a milho, trigo e arroz. **Rev. Microbiol**., São Paulo. V.11, n.2, p. 60-63, 1980.

SAMSON, R.A.; HOESKSTRA, E. S.; FRISVAD, J.C.; FILTENBORG, O. **Introduction to Food-Borne Fungi**. Baar, Centraalbureau voor Schimmercultures, 1995.

SANCHIS, V., SANTAMARINA, M.P. - Micotoxinas y micotoxicosis. Riesgos para la salud- **Revista Iberoamericana de Micologia,** Barcelona v.9, p.46-52, 1992.

SAUER, D.B., BURROUGHS, R. Fungal growth, aflatoxin production and moisture equilibration in mixtures of wet and dry corn. **Phytopathology.** Lancaster, v.70, p. 516-531, 1980.

SAUER, D.B., CHRISTENSEN, C.M. Germination percentage, storage fungi isolated from, and fatacidity values of export corn. **Phytopathology**. Lancaster, v.58. p.1356-1359,1968.

SAUER, D.B., MERONUCK, R.A., CHRISTENSEN, C.M. Microflora In: **Storage** of cereal grain and their products, edited by SAUER, D.B. St Paul: Association of Cereal Chemists, p 313-340,1992.

SCUSSEL, V.M. **Micotoxinas em Alimentos**,. Florianópolis:Insular, 1998, 144p.

SHIBAMOTO, T., BJELDANES, L.F. - **Introduction to Food Toxicology**. Academic Press:San Diego. p. 141-144. 1993.

SHOTWELL, O., BENNET, G.A., STUBBLEFIELD, R.D., SHANNON, G.M., KWOLEK, W.F., PLATTNER, R.D. Deoxynivalenol in Hard Red Winter: Relationship between toxin level and factors tha could be used in grading **J. Assoc. Off. Anal.. Chem.** Arlington, v.68, n.5, p. 954-957, 1985.

SIGIURA, Y., WATANABE, Y., TANAKA, T., YAMAMOTO, S., UENO, Y. Occurrence of Gibberella zeae strains that produce both nivalenol and deoxynivalenol. **Appl. Environ. Microbiol**. Washington, v.56, n.10, p. 3047-51.1990

SINHA, R.N., WALLACE, H.A.H., CHEBIB, F.S. Principal-component analysis of interrelations among fungi, mites ans insects in grain bulk ecosystems. **Ecology**, Brooklyn, v.50, n.4, p.536-547, 1969.

SINHA, R.N., WALLACE, H.A.H. Population dynamics of stored-product mites. **Oecologia,** Berl., v. 12, p. 315-327. 1973

SOARES VALENTE, L. M. & FURLANI, R.P.Z. Survey of Mycotoxins in wheat products sold in health food stores of the city of Campinas, State of São Paulo. **Revista de Microbiologia**, São Paulo. v.27, n.1, p.41-45. 1996.

SWEENEY, M. J., DOBSON, A.D.W. Mycotoxin production by *Aspregillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **Int. J. of Food Microbiology**, Amsterdam, v.43, p.141-158, 1998.

TANAKA, T. HASEGAWA, A., YAMAMOTO, S., LEE, US., SUGIURA, Y., UENO, Y. World contamination of Cereals by the Fusarium Mycotoxins Nivalenol, Deoxynivalenol, and Zearalenine. 1. Survey of 19 Countries. **J. Agric. Food. Chem.**, London, v.36, n., p.979-983. 1988.

THUVANDER, A., WIKMAN, C., GADHASSON, I. In vitro expousure of human lymphocytes to tricothecenes: individual variation in sensitivity and effects of combined expousure on lymphocyte function. **Food Chem. Toxicol.**, London, v.37, n.6, p.639-48, 1999.

VAIL, R. Fundamentals of HACCP. **Cereal Foods World**, Saint Paul, v. 39, p. 393-395, 1994.

VAZQUEZ, A.W. Hairs. In: **Principles of Food Analysis for filth, decomposition and foreign matter**. (FDA Technical Bulletin nº 1), AOAC/FDA. 1993. 286p.

VIEIRA, A. P., BADIALE- FURLONG, E., OLIVEIRA, M.L.M. Ocorrência de Micotoxinas e Características Físico-Químicas em Farinhas Comerciais. **Ciênc. Tecniol. Aliment.**, Campinas, v.19, n.2, p. 221-225, 1999.

VINK, C.G. HACCP in the EU. **Food Technology**, Chicago, v.49, n.3, p.36.1994.

WARNER, A., BOSTROM, S., KJELLMAN, N. I. M. Mite fauna in the home and sensitivity to house-dust and storage mites. **Allergy**, Copenhagen, v.54, n.7,p.681-690. 1999.

WETTER, M. T., TRUCKESS, M.W., ROACH, J.A., BEAN, A. Ocurrence and distribution of Fusarium graminearum and deoxynivalenol in sweet corn ears. **Food Additives and Contaminants**, London, v.16, n.3, p. 119-124, 1999.

WHITE, N.D.G. Insects,Mites and Inseticides in Stored-Grain Ecosystems. In: **Stored-Grain Ecosystem**, edited by JAYAS, D.S.; WHITE, D.G.N. e MUIR,W.E. New York:Marcel Dekker, p.123-167, 1995.

WIRTZ, A W. Food Pests as Disese Agents. In: GORHAM, J.R. ed. **Ecology and Management of Food-Industry Pests** (FDA Techinical Bulletin 4) Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, p:469, 1991.

WOLF-HALL, CE., HANNA, MA., BULLERMAN, LB. Stabilitiy of deoxynivalenol in heat-treated foods. **J. of Food Protection**, Ames, v. 62, n.8, p. 962-964.1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Library Cataloguing in Publication Data **Selected Mycotoxins: Ochratoxins, Tricothecenes, Ergot** (ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 105). World Health Organization: Geneva, 1990