

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Avaliação da presença de micotoxinas em caldo de cana-de-açúcar e sua
correlação com ataque por *Diatraea saccharalis*

Beatriz Leal Brandielli

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e
Bioquímica de Plantas

**Piracicaba
2023**

Beatriz Leal Brandielli
Farmacêutica

**Avaliação da presença de micotoxinas em caldo de cana-de-açúcar e sua correlação
com ataque por *Diatraea saccharalis***

Orientador:
Prof. Dr. **LAZARO EUSTÁQUIO PEREIRA PERES**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e
Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Brandielli, Beatriz Leal

Avaliação da presença de micotoxinas em caldo de cana-de-açúcar e sua correlação com ataque por *Diatraea saccharalis* / Beatriz Leal Brandielli - - Piracicaba, 2023.

84 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Micotoxinas 2. Cana-de-açúcar 3. *Diatraea saccharalis* 4. Açúcar I.
Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ivanildo e Luzia,
que foram pais da minha filha em minha ausência,
Aos meus tios (quase pais), Roberto e Marlúcia,
que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando e me ajudando em que fosse preciso,
Ao meu esposo Gustavo,
que sempre me incentivou e esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis desta jornada;
À minha filha Ana Laura,
que foi minha força, minha inspiração e minha maior motivação,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me sustentado até que aqui, mesmo em meio às minhas fraquezas.

Ao Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), pela oportunidade e por todo suporte a mim cedido durante o decorrer da pós-graduação.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, e ao Prof. Dr. Lázaro Eustáquio Pereira Peres, que por meio do programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas me acolheram e me proporcionaram conhecimento.

Ao Prof. Dr. Eduardo Micotti da Glória, por toda a dedicação, convívio e ensinamentos ao longo de dois anos, que me trouxeram crescimento e amadurecimento pessoal e profissional.

Ao meu amigo, Wladecir Salles de Oliveira, por ter sido o grande incentivador para que eu iniciasse estudos com micotoxinas em cana e por sempre estar de portas abertas para me ajudar a encontrar as melhores estratégias no decorrer da minha pesquisa.

À minha querida amiga, Noemia Aparecida de Souza, por compartilhar comigo tanta experiência e por me ensinar a realizar ajustes técnicos no decorrer da minha pesquisa e por estar sempre disposta a me ajudar, sempre solícita e com um grande sorriso no rosto.

Aos meus colegas do CTC que participaram e contribuíram para que este estudo fosse realizado: Victor de Souza Rodrigues, Marcio Aurélio Garcia Correia Tavares, Moisés Sarto da Rocha, Danilo Teresani, Maria Lorena Sereno e Francisco Cláudio da Conceição Lopes.

Aos funcionários do laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, por estarem sempre disponíveis para me auxiliar durante a pesquisa.

À minha família, meu pai, Ivanildo; minha mãe, Luzia, meu esposo, Gustavo e a minha principal fonte de inspirações: minha filha e minha estrela, Ana Laura. Gratidão por acreditarem em mim e por estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis.

À minha tia Marlúcia e ao meu tio Roberto, por todos os incentivos e conversas tão enriquecedoras durante o percurso da pós-graduação.

À minhas primas (irmãs) Eli e Shirlei, por todas as orações, conversas e por sempre estarem ao meu lado mesmo que separadas por um oceano (Shi te amarei daqui até a Espanha).

Ao Prof. Dr. David Henry Moon, por todas as discussões enriquecedoras e por todos os trabalhos compartilhados comigo durante o período de desenvolvimento da minha dissertação.

Ao Prof. Dr. Rick Mangureira, por todo suporte a mim cedido durante a realização das análises estatísticas do meu estudo.

À Seção de Apoio à Pós-Graduação (SAPG), na pessoa da Maria Solizete Granziol Silva, por sempre estar disponível para me auxiliar e esclarecer dúvidas acadêmicas durante o curso da pós-graduação.

BIOGRAFIA

BEATRIZ LEAL BRANDIELLI, nascida na cidade de São Paulo/SP, no dia 18 de abril de 1995, filha de Ivanildo Pedro da Silva e Luzia Leal de Souza. Casada com Gustavo Luis Brandielli e mãe de Ana Laura Leal Brandielli.

Farmacêutica, graduada pela Universidade Metodista de Piracicaba (UNIMEP), no ano de 2019 e especialista em cosmetologia e estética pela Universidade Anhembi Morumbi, com título obtido em 2023.

Atuou por 5 anos na área de regulamentação do Centro de Tecnologia Canavieira como Focal Point da Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) da instituição. Promoveu programas de capacitação e treinamentos para o desenvolvimento de atividades com cana-de-açúcar geneticamente modificada (OGM) e gerenciamento de projetos em contenção e liberações planejadas no meio ambiente da companhia.

No ano de 2021 ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Atualmente, é Analista de Registro e Compliance Sênior, na Syngenta Proteção de Cultivos.

EPÍGRAFE

“Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar.” (Josué, versículo 1, capítulo 9)

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT	10
LISTA DE TABELAS	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1. CANA-DE-AÇÚCAR.....	17
2.1.1. Contexto histórico e importância econômica da cana-de-açúcar no Brasil.....	17
2.1.2. Fisiologia da cana-de-açúcar	18
2.1.3. Subprodutos da Cana-de-açúcar	20
2.2. <i>Diatraea saccharalis</i>	22
2.3. Micotoxinas	24
2.3.1. Aflatoxinas	26
2.3.2. Fumonisinias.....	32
2.3.3. Zearalenona	36
2.3.4. Desoxinivalenol.....	38
2.3.5. Ocratoxina A	40
2.3.6. Toxina T-2	43
2.3.7. Micotoxinas em cana-de-açúcar	45
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
3.1. Materiais.....	47
3.1.1. Amostras avaliadas.....	47
3.2. Químicos e Reagentes	48
3.3. Métodos.....	49
3.3.1. Coleta e processamento das amostras	49
3.3.2. Extração de micotoxinas.....	50
3.3.3. Análise de micotoxinas	51
3.3.4. Análise estatística	53
4. RESULTADOS.....	55
4.1. Análise de micotoxinas no caldo	55

5. DISCUSSÃO	57
6. CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS.....	65

RESUMO

Presença de micotoxinas em caldo de cana-de-açúcar e a correlação associada ao ataque da planta por *Diatraea saccharalis*

A cana-de-açúcar é essencial para o agronegócio brasileiro, sendo o Brasil o maior produtor mundial. Na safra 2019/2020, o país produziu 9 milhões de toneladas de açúcar para o mercado interno e exportou mais de 18 milhões de toneladas, representando 18% da produção global. A broca da cana (*D. saccharalis*) é uma das principais pragas da cultura e causa prejuízos econômicos. Os danos causados pela praga podem facilitar a entrada de fungos produtores de micotoxinas, contaminando a planta e seus subprodutos. Neste estudo, foi avaliada a ocorrência de micotoxinas (aflatoxinas B1, B2, G1 e G2; fumonisinas B1 e B2; deoxinivalenol; toxina T-2; zearalenona, ocratoxina A) no caldo de cana e sua correlação com os danos causados por *D. saccharalis*. Foram analisadas 80 amostras de caldo utilizando a cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada a espectrometria de massas e, somente se detectou a contaminação com Ocratoxina A. As demais micotoxinas não ocorreram em níveis superiores ao limite de quantificação da metodologia de análise utilizada. A contaminação com ocratoxina A foi detectada em 51% das amostras, entretanto a contaminação não mostrou correlação direta com o ataque da broca. A presença da micotoxina é preocupante e pouco explorada na literatura. Novas pesquisas são necessárias para entender melhor essa contaminação e seus fatores. Este é o primeiro estudo a relatar a ocorrência de ocratoxina A no caldo de cana.

Palavras-chave: Micotoxinas, Cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*, Açúcar

ABSTRACT**Presence of mycotoxins in sugarcane juice and the correlation associated with plant attack
by *Diatraea saccharalis***

Sugarcane is essential for the Brazilian agribusiness, with Brazil being the world's largest producer. In the 2019/2020 harvest, the country produced 9 million tons of sugar for the domestic market and exported over 18 million tons, representing 18% of global production. The sugarcane borer (*Diatraea saccharalis*) is one of the main pests of the crop and causes economic losses. The damage caused by the pest can facilitate the entry of fungus producers of mycotoxins, contaminating the plant and its by-products. In this study, the occurrence of mycotoxins (aflatoxins B1, B2, G1, and G2; fumonisins B1 and B2; deoxynivalenol; T-2 toxin; zearalenone; ochratoxin A) in sugarcane juice was evaluated, and its correlation with the damage caused by *D. saccharalis* was assessed. 80 juice samples were analyzed using liquid chromatography coupled with mass spectrometry, and only contamination with Ochratoxin A was detected. The other mycotoxins did not occur at levels above the quantification limit of the analysis methodology used. Contamination with ochratoxin A was detected in 51% of the samples; however, the contamination did not show a direct correlation with borer infestation. The presence of the mycotoxin is concerning and has been poorly explored in the literature. Further research is necessary to better understand this contamination and its factors. This is the first study to report the occurrence of ochratoxin A in sugarcane juice.

Keywords: Mycotoxins, Sugarcane, *Diatraea saccharalis*, Sugar

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Limites Máximos Toleráveis (LMT) de DON em trigo e seus derivados, estabelecidos pela RDC nº 7/2011 e valores alterados pela RDC nº 138/2017.....	26
Tabela 2. Limites Máximos Toleráveis (LMT) de aflatoxinas em alimentos, estabelecidos pela RDC nº 07/2011.....	28
Tabela 3. Limites Toleráveis de AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2 definidos pelo Regulamento (UE). Nº 165/2010	30
Tabela 4. Limites Máximos Toleráveis (LMT) de fumonisinas em milho e seus derivados, estabelecidos pela RDC nº 7/2011.....	34
Tabela 5. Regulamento (CE). Nº 857/2005 – Valores para fumonisinas em milho, na EU.....	35
Tabela 6. Limites Máximos Toleráveis (LMT) de ZEA em alimentos, estabelecidos pela RDC nº 7/2011.....	38
Tabela 7. Limites Máximos Toleráveis (LMT) de Ocratoxina a em alimentos, estabelecidos pela RDC nº 7/2011.....	42
Tabela 8. Níveis de toxina T-2 e HT-2 para os cereais e produtos à base de cereais recomendados pela legislação europeia.....	44
Tabela 9. Detalhamento das amostras e tratamentos	48
Tabela 10. Níveis de Recuperação Aparente (R _A) para as micotoxinas estudadas.....	51
Tabela 11. Parâmetros de aquisição de dados do espectrômetro de massas.....	52
Tabela 12. Concentração mínima e máxima utilizada nos pontos das curvas de calibração..	53
Tabela 13. Níveis de contaminação por OTA nas amostras de caldo de cana.....	56
Tabela 14. Médias da concentração de micotoxinas dos níveis de tratamento sem dano e com dano.....	56

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2019), a cana-de-açúcar possui grande importância para o agronegócio brasileiro, sendo o Brasil o maior produtor mundial da cultura. É a partir da cana que são produzidos dois produtos importantes para a economia brasileira: o etanol e o açúcar. Na safra 2019/2020 cerca de 31 milhões de litros de etanol e 9 milhões de toneladas de açúcar produzidos pelo Brasil foram destinados ao mercado interno (UNICA, 2022b). Além disso, a base de dados AliceWeb, mantida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) aponta que, em 2019, o Brasil exportou 1,9 bilhão de litros de etanol (Brasil, 2019a) e mais de 18 milhões de toneladas de açúcar (Brasil, 2019b). Na safra 2019/2020, a produção mundial de açúcar foi de 165,5 milhões de toneladas, sendo o Brasil responsável por 18% de toda a produção mundial (USDA, 2021).

O processo de produção de açúcar envolve um processamento extensivo. Compreende etapas de extração do caldo, tratamento e concentração. Na etapa de tratamento, o caldo é peneirado e clarificado por meio de sulfitação para que sejam retiradas as substâncias que conferem coloração escura e matar microrganismos. No processo de concentração, o caldo é levado ao cozimento em elevadas temperaturas matando assim, microrganismos que possam ter resistido ao tratamento químico (EMBRAPA, 2021; Nunes, Finzer, 2019). Já o etanol, é produzido através da fermentação do açúcar por leveduras, seguida do processo de destilação (Cheavegatti-Gianotto *et al.*, 2011).

Segundo Cheavegatti-Gianotto *et al.* (2011), o açúcar bruto, que é obtido diretamente do processamento da cana-de-açúcar, é composto por 99,8% de sacarose e apenas 0,02% de impurezas. Mais recentemente, um estudo conduzido por Cheavegatti-Gianotto *et al.* (2018) sobre a segurança de ingredientes alimentícios purificados derivados de cultivos biotecnológicos, mostrou que o processamento da cana-de-açúcar é capaz de eliminar de forma efetiva DNA e proteína detectáveis do açúcar bruto ou refinado. É possível que esse processamento seja suficiente para eliminar outros possíveis compostos e contaminantes, como por exemplo as micotoxinas.

Em 2019, Iamanaka *et al.*, investigaram a presença de *Aspergillus flavus* e aflatoxinas em cana-de-açúcar e seus principais subprodutos, incluindo melaço, açúcar bruto, caldo e leveduras, coletados de diferentes locais no estado de São Paulo. Foram isoladas 226 cepas de *Aspergillus flavus* do total de amostras analisadas, e a maioria destes isolados (83,2%), foram provenientes das amostras de caldo. Em relação a contaminação por aflatoxinas, o estudo mostrou que todos os produtos, com exceção do açúcar, apresentaram alguma contaminação por aflatoxina. Segundo os autores a hipótese é que o tratamento térmico pelo qual o caldo é submetido para obtenção do

açúcar tenha reduzido a concentração de aflatoxina para níveis abaixo do limite de detecção da metodologia empregada neste trabalho.

Segundo estimativas da *Food and Agriculture Organization* (FAO), cerca de 25% dos alimentos no mundo podem estar contaminados com micotoxinas (WHO, 1999). Entretanto, é importante ressaltar que esse número pode ser uma estimativa conservadora e que a real prevalência de contaminação por micotoxinas pode ser superior a esse percentual. Um extenso estudo de revisão publicado em 2019 por Eskola *et al.* apontou que a prevalência global de alimentos contaminados por micotoxinas é de fato bem maior do que é considerado pela FAO. De acordo com resultados de estudos científicos revisados pelos autores, esse número pode variar de 25% a 100%, dependendo do tipo de alimento e da região geográfica em questão. Vale ressaltar que o número exato de alimentos mundialmente contaminados por micotoxinas é difícil de ser determinado devido à complexidade das cadeias de produção de alimentos, à variabilidade regional e à diversidade de micotoxinas e alimentos envolvidos. Outros trabalhos também têm apontado a presença de micotoxinas em cana-de-açúcar e seus subprodutos, como o bagaço e caldo, por exemplo (Hariprasad *et al.*, 2015). Um estudo realizado no Egito revelou a presença de aflatoxina B1 (AFB1) e fumonisina B1 (FB1), em amostras de caldo de cana coletadas, de vendedores locais de caldo cru, durante o verão e inverno (Abdallah *et al.*, 2016). Os autores apontaram que diversos fatores podem favorecer a formação de micotoxinas, como a própria colheita, tendo em vista que o corte do colmo modifica a fisiologia da planta e atua como mecanismo de entrada para bactérias e fungos patogênicos. Os autores também destacam que as aflatoxinas em cana-de-açúcar podem ser derivadas de ataques de fungos à camada externa das fibras, especialmente após invasão de insetos. No cenário brasileiro, um exemplo de possível praga responsável pelo ataque à canaviais é a broca da cana (*Diatraea saccharalis*), que de acordo com a Agência Embrapa de Informações Tecnológicas (AGEITEC, SD) é considerada uma das principais pragas da cana-de-açúcar.

A broca da cana é uma praga que preocupa produtores há muitos anos. Em 1965, um trabalho publicado por Gallo (1965), já demonstrava prejuízos significativos na produção de açúcar em decorrência do ataque da broca em canaviais. Estima-se que as perdas econômicas causadas pela praga ainda acarretam aos canaviais brasileiros prejuízos em torno de R\$ 5 bilhões por ano (Guiducci *et al.*, 2021).

Importante destacar que o fitopatógeno fúngico *Fusarium verticillioides*, produtor de fumonisinas (Perincherry, Lalak-Kanczugowska, Stepien, 2019), tem sido relatado como um fungo oportunista em cana-de-açúcar, uma vez que se aproveita dos danos ocasionados pela *D. saccharalis* para penetrar no colmo da cana e infectar a planta, resultando em danos adicionais à lavoura (Gallan, 2019).

Recentemente, um estudo de Franco *et al.* (2021), demonstrou que a infecção da cana-de-açúcar por *F. verticillioides* produz compostos orgânicos voláteis capazes de modificar o comportamento de *D. saccharalis* de forma a aumentar a probabilidade de o fungo ser disseminado na lavoura por insetos já contaminados. O estudo concluiu que o fungo não é apenas um oportunista, pois é capaz de manipular a planta hospedeira e o inseto ao longo de seu ciclo de vida de modo a promover a infecção e a disseminação nos canaviais.

Apesar de ter sido relatado a presença de *F. verticillioides* em cana, o trabalho não abordou aspectos relacionados à micotoxinas e até o momento, nenhum estudo foi conduzido para avaliar se os danos causados pela broca podem ainda estar relacionados a contaminação da planta por micotoxinas. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de micotoxinas em caldo de cana-de-açúcar e analisar se há diferenças dos níveis de contaminação de caldos provenientes de canas íntegras e canas acometidas por ataque da *D. saccharalis*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cana-de-açúcar

2.1.1. Contexto histórico e importância econômica da cana-de-açúcar no Brasil

Diversos autores descrevem a origem da cana-de-açúcar e as principais referências relatam que os primeiros cultivos ocorreram em regiões do sul e sudeste asiático, como Nova Guiné, Índia e China (CTC, 2019; Figueiredo, 2008), atingindo posteriormente o mediterrâneo (CTC, 2019; Rodrigues, Ross, 2020). O declínio da manufatura açucareira no entorno do Mediterrâneo, em 1453, possibilitou o monopólio da cultura pelos portugueses, que foram responsáveis por trazer a cana para a colônia que acabara de ser descoberta, denominada Brasil (Rodrigues, Ross, 2020). Desde então, o Brasil se tornou novo lar para a cana, que por longo período, movimentou a economia local (CTC, 2019, CEPEA/ESALQ, 2011).

De acordo com a literatura, os primeiros exemplares de cana chegaram ao Brasil entre 1502 e 1532, trazidos das ilhas do Atlântico, como a Ilha da Madeira, em Portugal (Corrêa, 1926). Acredita-se que a cana foi introduzida no país por Martim Afonso de Souza, que também foi dono do primeiro engenho construído em território brasileiro (Bueno, 2020), sendo precursor do cultivo comercial da Capitania de São Vicente, São Paulo, onde a indústria açucareira foi próspera nos primeiros anos de exploração (Figueiredo, 2008).

Entretanto, historiadores apontam que o primeiro centro açucareiro do Brasil, se implantou e floresceu na Capitania de Pernambuco, pertencente ao Donatário Duarte Coelho, que chegou ao Brasil em março de 1535 junto de sua família. Foi com seu cunhado, Jerônimo de Albuquerque, que ele iniciou as construções dos primeiros engenhos e abruptamente, expandiu a plantação e o cultivo de cana-de-açúcar em suas terras, com mudas originárias da Ilha da Madeira (Figueiredo, 2008; Museu da cana, 2022).

Nesse contexto, os canaviais e a produção de açúcar, se expandiram na região nordeste do país, mais especificamente em Pernambuco. Talvez, três aspectos importantes podem ter colaborado para tornar essa região o berço da cultura no país: a) o conhecimento do donatário Duarte Coelho sobre agricultura; b) características do solo e ambiente favorável para o cultivo da cana e, c) a localização geográfica mais próxima à Europa que a região de São Vicente que, como mencionado, também foi pioneira na produção de açúcar no Brasil Colonial (Museu da cana, 2022).

Bueno (2020) afirma que em 1628, cerca de 235 engenhos já estavam instalados no Nordeste brasileiro, e destaca que em 1637, a produção de quatro estados nordestinos (Pernambuco, Itamaracá, Paraíba e Rio Grande do Norte) ultrapassou algo em torno de 14.600

toneladas. Estima-se que no período colonial (de 1500 a 1822) a cana cultivada no Brasil tenha gerado aos cofres portugueses um faturamento duas vezes maior do que a renda obtida com a extração de ouro e quase cinco vezes maior do que a soma de todas as outras commodities agrícolas da época (ESALQ, 2022).

Atualmente, a cana-de-açúcar ocupa mais de 10 milhões de hectares de área de cultivo em todo o território brasileiro, sendo São Paulo o maior produtor do país (ÚNICA, 2023a). De acordo com a FAO (2022), o Brasil é considerado o principal produtor mundial da cultura. Além disso, a cana-de-açúcar também está entre as dez principais culturas de valor econômico do país. Em 2020, a produção de cana-de-açúcar foi a terceira na classificação da produção agropecuária, correspondendo a R\$ 60 milhões, ficando atrás somente do milho e da soja (IBGE, 2022).

Na safra 2020/2021, a produção brasileira de cana-de-açúcar foi de cerca 654,5 milhões de toneladas, sendo 45,8% destinados a produção de açúcar e 54,2% à produção de etanol, o que correspondeu a um total de 41,2 milhões de toneladas de açúcar e 29,7 bilhões de litros de etanol produzidos (CONAB, 2022a).

2.1.2. Fisiologia da cana-de-açúcar

Pela classificação botânica, a cana-de-açúcar pertence à família Poaceae e ao gênero *Saccharum* (EMBRAPA, 2015). Diola e Santos (2015, p. 25), definem que “as principais características dessa família são a inflorescência em forma de espiga, o crescimento do caule em colmos, as folhas com lâminas de sílica em suas bordas e a bainha aberta”. Além disso, a família Poaceae possui diversas espécies que foram importantes e precursoras de significativos programas de melhoramento mundiais. Até meados do século XX, no Brasil, se plantava os genótipos da espécie *S. officinarum*. Com isso, a propagação dessa espécie acompanhou a história da agroindústria canieira por longo período. Atualmente, a espécie não é mais cultivada, e o que se tem em cultivos comerciais são variedades híbridas (Figueiredo, 2008; Morais, *et al.*, 2015; Scarpari, Beauclair, 2008), conforme explicado pela EMBRABA:

As cultivares atuais de cana-de-açúcar são, em realidade, híbridos interespecíficos entre *Saccharum officinarum* L. e *S. spontaneum* L. Os híbridos foram resultantes de cruzamentos interespecíficos realizados na primeira metade do século XX entre *S. officinarum* e *S. spontaneum* e têm entre 100 a 130 cromossomos, sendo 80% derivados de *S. officinarum*, 10% de *S. spontaneum* e 10% de recombinantes das duas espécies. (EMBRAPA, 2015, p. 9).

A espécie *S. officinarum* é caracterizada pelo alto teor de sacarose acumulada no colmo, mas em contrapartida, possui baixa resistência às doenças. Neste contexto, produtores de cana, visando mitigar a alta susceptibilidade que a espécie apresentava por várias doenças (em especial, o

mosaico), iniciaram os primeiros programas de melhoramento por meio da hibridação entre diferentes espécies do gênero *Saccharum*. Desta forma, a denominação taxonômica atual para cultivares de cana é *Saccharum* spp. (Scarpari, Beauclair, 2008).

A cana-de-açúcar tem sua propagação vegetativa, por colmos ou toletes com gemas viáveis. A gema contém tecidos meristemáticos que podem dar origem a outra planta quando a dominância apical é quebrada, e estão localizadas na base do nódulo. Durante a dominância apical, ocorre produção hormonal de auxinas e com isso, os órgãos da gema e primórdios radiculares, se mantêm inativos. A disponibilidade de água após o plantio, gera a ativação enzimática e hormonal desencadeando o crescimento celular das gemas e das raízes, na zona radicular que contém primórdios radiculares (Diola, Santos, 2015; Casagrande, Vasconcelos, 2008).

Com a brotação dos toletes, inicia o ciclo de desenvolvimento da planta, que começa com a geração dos perfilhos, o crescimento da parte aérea e a maturação dos colmos (Thomas, 2016; Diola, Santos, 2015). Cerca de 20 a 30 dias após o plantio, inicia-se o processo de brotação. Durante esse período há um consumo energético originado da degradação de substâncias de estoque dos toletes, por meio de moléculas de O₂ liberadas durante a respiração celular. Para que ocorra o desenvolvimento da brotação, durante os primeiros 60 dias após o plantio, as substâncias de reservas dos toletes, como carboidratos, proteínas e lipídios, são essenciais. Com o desenvolvimento do sistema radicular, a dependência por esses estoques vai diminuindo gradativamente, uma vez que ocorre aumento da superfície de absorção de água e nutrientes e novas folhas são desenvolvidas como consequente (Diola, Santos, 2015).

Outro aspecto importante para que ocorra a brotação, é a disponibilidade de água no solo e a temperatura, sendo que para brotação, a temperatura basal deve estar em torno dos 12°C. Após o período de brotação, é iniciado o perfilhamento da planta, que começa cerca de 40 dias após o plantio e tem duração média de 120 dias. Na cana, esta é uma etapa bastante importante, pois é através da maturação dos perfilhos que se tem a formação dos colmos que refletirão em produtividade. Vários fatores são essenciais na etapa de perfilhamento, entretanto, a luz é um dos mais importantes, pois é necessária uma iluminação adequada para que as gemas vegetais basais sejam ativadas (Diola, Santos, 2015).

Como já dito, a água é um fator importante, pois sua ausência pode levar a inibição do crescimento e comprometimento da fotossíntese (Taiz *et al.*, 2016). Um solo com baixa disponibilidade de água pode retardar ou impedir a etapa de brotação das gemas, entretanto o excesso de água também pode ser um fator limitante para brotação, e com isso, a umidade adequada pode variar de acordo com a região e características do solo (Casagrande, Vasconcelos, 2008). De uma forma geral, durante o ciclo de amadurecimento, uma taxa de umidade entre 45 e 65%, é considerado ideal (Diola, Santos, 2015).

2.1.3. Subprodutos da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma das principais *commodities* brasileira e seus principais produtos industriais são o etanol e açúcar. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2022b), o Brasil fechou a safra 2021/2022 com uma produção de cerca de 35.049 milhões de toneladas de açúcar e mais de 26.784 bilhões de litros de etanol. Segundo a UNICA (UNICA, 2022a), em torno de 70% da produção nacional de açúcar é destinado ao mercado externo, representando quase 50% de toda exportação mundial do adoçante. Já o etanol, tem sua produção mais centralizada no mercado interno, tendo sido exportado apenas 5,92% de toda produção comercializada, na safra 2021/2022 (Neves *et al.*, 2022).

O processo para produção de açúcar passa por diversas etapas que constituem de fases pré-industrial e industrial. A fase pré-industrial, compreende o cultivo, a colheita, carregamento, transporte e descarregamento da cana-de-açúcar. A etapa industrial é iniciada pela lavagem e preparo da cana para a moagem, de forma a se obter o caldo. Essas etapas são importantes para assegurar melhor desempenho industrial. Após a moagem, o caldo extraído é submetido às etapas de tratamento e purificação para que possíveis impurezas presentes, como toxinas, microorganismos indesejáveis e outros contaminantes, sejam eliminados (Alcarde, 2022; UNICA, 2022b).

O tratamento do caldo constitui processos físicos (filtração), térmicos (aquecimento) e químicos (adição reagentes químicos) para que seja obtido o caldo clarificado. O caldo clarificado é evaporado para eliminação da água presente e levado ao cozimento para formação dos cristais de sacarose. Após o cozimento ocorre a formação de uma massa que é centrifugada de modo a separar os cristais, que são lavados com água quente e vapor. Por fim, o açúcar é submetido a secagem para que possa ser embalado e estocado até a comercialização (Alcarde, 2022; UNICA, 2022b; Flock, 2016).

Durante a fase pré-industrial, na etapa de cultivo, a cana-de-açúcar é exposta a diferentes insetos pragas, como a *D. saccharalis*, uma das principais pragas da cultura, conhecida popularmente como broca-da-cana, tendo em vista que perfura e penetra os colmos para se alimentar da polpa da cana, formando galerias no interior da planta (Gallan, 2019; Dinardo-Miranda, 2008). Os buracos abertos pela broca, podem atrair fitopatógenos (CTC, 2022) como *F. verticillioides*, e *Colletotrichum falcatum* (GALLAN, 2019; MATSUOKA, 2013). A contaminação dos canaviais por *F. verticillioides* está diretamente associado aos danos provocados por *D. saccharalis*, não sendo afirmado o mesmo para o *C. falcatum*.

Não há indícios da presença de *F. verticillioides* em canaviais desacompanhado da praga *D. saccharalis*, porém, já foi relatado *C. falcatum*, na ausência do inseto em outros países, como na Índia, Austrália, Tailândia, Fiji e Estados Unidos. A lagarta *D. saccharalis* propicia um ambiente ideal para colonização do *F. verticillioides*, sendo que, uma vez presente, mata as células do tecido vegetal por meio de seu sistema digestivo, e deposita este material morto nos caminhos deixados no colmo, favorecendo a ocupação do patógeno (Gallan, 2019, p.19).

Entretanto, apesar de ter sido relatado a presença de *C. falcatum* sem associação direta à *D. saccharalis*, a podridão vermelha, doença causada pelo fungo, é potencializada na presença de alto nível de infestação da planta, pela broca (Santos, 2008). Desta forma, pode-se correlacionar o ataque da lagarta com contaminações por fitopatógenos na cana-de-açúcar. Além de causarem doenças e danos diretos à planta, algumas espécies fúngicas produtoras de micotoxinas podem representar risco à saúde humana e dos animais (Zuccolotto, 2020).

A cana-de-açúcar é uma cultura que origina diversos produtos, que vão desde alguns mais artesanais até outros com maiores técnicas e processamentos. A variedade de subprodutos oriundos da cana, pode possibilitar que as micotoxinas cheguem aos seres humanos por diferentes fontes (Abdallah *et al.*, 2016). Alguns trabalhos foram conduzidos para investigar a presença de micotoxinas em açúcar. Entretanto, até o momento, em nenhum dos estudos foi detectado a presença destes metabólitos no produto final. As principais hipóteses para estes resultados estão relacionadas às diferentes etapas industriais empregadas pela indústria açucareira durante a produção do açúcar, como os tratamentos térmicos e químicos, que provavelmente levam a degradação de micotoxinas (Hariprasad *et al.*, 2015; Iamanaka, *et al.*, 2019).

No trabalho realizado por Iamanaka *et al.* (2019), avaliou-se no Brasil a ocorrência do fungo micotoxigênico, *Aspergillus flavus* e aflatoxinas em diversos subprodutos da cadeia produtiva da cana-de-açúcar. O estudo contemplou análises de solos canavieiros, partes da cana (colmos e cana moída), caldo, melaço, leveduras utilizadas no processo de fermentação e o açúcar. O trabalho demonstrou a ocorrência de cepas de *A. flavus* e aflatoxinas somente nas amostras de produtos que não são submetidos ao processamento industrial. A contaminação por cepas de *A. flavus*, foi detectada em 70% das amostras de caldo, 50% das amostras de solo e colmo, 10% das amostras de cana moída e em apenas 1,8% das amostras de levedura seca. Os pesquisadores concluíram que o processamento foi capaz de remover esses contaminantes, tendo em vista que não foram detectadas aflatoxinas ou a presença do fitopatógeno nas amostras de melaço, açúcar refinado e nas leveduras utilizadas no processo de fermentação do caldo para obtenção do etanol.

No Brasil, o consumo de caldo de cana, bebida conhecida popularmente como “garapa”, é um hábito cultural em diversas regiões do país, principalmente em locais de clima mais quente. Tradicionalmente, o comércio da bebida é realizado por vendedores locais que produzem o caldo de

forma totalmente artesanal, por meio do esmagamento da cana através de moendas, que é consumido *in natura*, sem nenhuma adição de conservantes ou tratamentos de limpeza e esterilização (Oliveira *et al.*, 2006).

Diversos trabalhos já foram conduzidos em diferentes regiões do país para avaliar o perfil microbiológico de caldos comercializados e, em todos foram encontrados algum grau de contaminação na bebida. Apesar de terem sido realizadas investigações microbiológicas, em nenhum dos estudos conduzidos pesquisou-se a ocorrência de fungos micotoxigenicos ou a avaliação de micotoxinas (Silva *et al.*, 2018; Rodrigues *et al.*, 2019; Prado *et al.*, 2010; Galvão *et al.* 2019). Até o momento, somente o trabalho de Iamanaka *et al.* (2019) avaliou esses parâmetros em amostras de caldo de cana oriundas de canaviais brasileiros. De todo modo, ainda existe a necessidade de novos estudos a respeito de micotoxinas em cana-de-açúcar e seus produtos.

O que se tem de mais recente, foram trabalhos conduzidos no Egito e na Índia. Nestes locais foi estudado a presença de micotoxinas em caldo de cana-de-açúcar consumido pela população (Abdallah, 2016; Hariprasad *et al.*, 2015). Abdallah *et al.* (2016), avaliou a presença de aflatoxinas em amostras de caldo coletadas de vendedores locais, no Egito e observou que 58% das amostras estavam contaminadas por AFB1 e 18% por aflatoxina G1 (AFG1). A concentração máxima destas micotoxinas foi 2,10 µg/Kg (AFB1) e de 1,34 µg/Kg (AFG1). Já no trabalho de Hariprasad *et al.* (2015), em amostras de caldo coletadas na Índia, foram encontradas concentrações mais altas para AFB1, onde o nível mais alto detectado foi de 6,5 µg/Kg.

Não há regulação para presença de aflatoxinas em sucos, entretanto, para amendoim não processado, com destinação direta à alimentação humana, o limite máximo de AFB1 permitido pela União Europeia (EU) é de 2,0 µg/Kg. Quando comparado os resultados encontrados nos trabalhos de Abdallah *et al.* (2016), e Hariprasad *et al.* (2015), com os limites máximos permitidos de AFB1 para amendoim cru, podemos avaliar um possível sinal de alerta para os dados apontados. Neste contexto, pela escassez de informações na literatura e a pouca pesquisa no mundo para entender e avaliar o risco de exposição de humanos à micotoxinas quando relacionado ao consumo de subprodutos da cana-de-açúcar, principalmente, os que não são submetidos aos processamentos industriais, a pesquisa nesse tema torna-se bastante relevante.

2.2. *Diatraea saccharalis*

Conhecida popularmente como broca-da-cana, *D. saccharalis* destaca-se por ser uma das principais pragas da cana-de-açúcar, pois ocasiona danos consideráveis nas lavouras, refletindo em significantes perdas econômicas ao produtor, tendo em vista que seus danos colaboram para a

diminuição de produtividade (Beckers, SD). Diversas estratégias são adotadas para seu controle, tendo em vista que está presente em todas as regiões canaveiras do Brasil (Dinardo-Miranda, 2008). Além da cana, a broca também é considerada uma praga importante para o milho, arroz e sorgo, culturas que também detêm de significativas perdas econômicas, decorrentes do seu ataque (VertuaN *et al.*, 2017; Canassa, 2021).

O desenvolvimento do inseto é holometabólico, ou seja, passa por quatro estágios de vida, iniciando pelo ovo, larva/lagarta, pupa e adulto (Canassa, 2021). O adulto é uma mariposa amarelo-palha e seu tempo de vida médio é de aproximadamente 5 dias. As asas anteriores possuem manchas escuras e as asas posteriores são brancas. As fêmeas apresentam asas com menos pigmentação e são maiores que os machos. Outro parâmetro que diferencia as fêmeas do macho, são cerdas presentes no último par de pernas do macho. A atração do macho ocorre por meio da liberação de feromônios pela fêmea, que após copular, deposita entorno de 200 a 400 ovos na folha, podendo também ovopositar na bainha (Dinardo-Miranda, 2008; Macedo, Macedo, 2004).

Os danos pelo inseto ocorrem na fase larval uma vez que, após a eclosão dos ovos, a lagarta perfura o colmo, geralmente pela região dos entrenós, por ser a parte mais mole, e adentra na planta. Na parte interna da cana, na medida que se alimenta da polpa do colmo, a lagarta vai abrindo galerias e pouco antes de entrar na fase de pupa, abre um orifício na casca para que a mariposa possa sair do colmo. O tempo médio para o ciclo completo do inseto pode variar de acordo com a temperatura, e gira em torno de 40 a 70 dias. A broca ataca canaviais em todos os ciclos de desenvolvimento da planta, apesar de ter menor incidência quando as canas ainda não possuem os entrenós formados (Dinardo-Miranda, 2008).

Seus danos refletem em perda de peso, refletindo em menor produtividade e morte da gema apical (coração morto), quando o ataque ocorre em canas mais jovens. Além dos danos diretos, as perfurações deixadas nos colmos se tornam mecanismo de entrada para microrganismo como *Fusarium* spp. e *C. falcatum*, que além de causarem doenças secundárias, como o complexo de podridões, também ocasionam inversão de sacarose, contaminam o caldo interferindo em sua qualidade, inibindo a fermentação, com consequente redução da produção de etanol, e com isso, tornam os processos industriais mais desafiadores (CTC, 2022; Dinardo-Miranda, 2008; Silva, 2016).

Um estudo conduzido em Piracicaba/SP, demonstrou, o *Fusarium* não ataca a cana como um fungo oportunista. O trabalho avaliou cepas de *F. verticillioides* e demonstrou que na verdade, o fungo libera compostos voláteis orgânicos que atraem as lagartas de *D. saccharalis* até às plantas que já estão contaminadas pelo fungo. Os pesquisadores avaliaram que os compostos liberados pelo fungo têm capacidade de modular o comportamento do inseto, fazendo com que somente insetos não contaminados procurem por plantas que estejam infectadas por *F. verticillioides*. Assim, quando

o inseto se alimenta da planta, o fungo entra na lagarta e a utiliza como “vetor” para se transportar até outra planta não infectada (Franco *et al.*, 2021).

Atualmente, diversos métodos de controle são adotados para *D. saccharalis*, como o emprego de métodos biológicos, principalmente pelo uso de *Cotesia flavipes* (EMBRAPA, SD); utilização de inseticidas químicos, como fipronil, triflumurom e clorantraniliprole (Brasil, 2003). Em 2017, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), aprovou o uso comercial da primeira variedade geneticamente modificada (GM) de cana-de-açúcar com gene que confere resistência a *D. saccharalis* (Brasil, 2017). A variedade, foi desenvolvida pelo CTC, que já lançou no mercado outras três cultivares transgênicas resistentes à broca (Brasil, 2022a).

Desta forma, com a adoção de variedades resistentes, além de assegurar canaviais livres da praga, também se espera que a ocorrência de fitopatógenos secundários, possivelmente associados aos danos ocasionados pelo inseto, tenham uma menor incidência de ocorrência, de forma a garantir maior rentabilidade econômica ao produtor e subprodutos com melhor qualidade.

2.3. Micotoxinas

As micotoxinas são compostos químicos produzidos no metabolismo secundário de determinadas espécies de fungos filamentosos, são potencialmente tóxicas ao homem e à animais (ZUCCOLOTTO, 2020). A descoberta destes metabólitos ocorreu na década de 1960, quando uma doença acometeu aves que após contaminadas, evoluíram para óbito rapidamente. Tal surto ocasionou a morte de cerca de 100 mil peruzinhos no Reino Unido, em um curto período. Com essas mortes inexplicáveis, investigações foram realizadas para constatar a possível causa (Fonseca, 1975).

O veterinário inglês William Percy Blount realizou um vasto estudo sobre a doença e reportou que as aves apresentavam sintomas característicos, como hiporexia, mobilidade reduzida, além de lesões hepáticas. Blount observou que o agravo poderia estar relacionado à algum fator alimentício, pois percebeu que quando era feita a troca da ração das aves, havia diminuição no quadro de animais mortos. A doença foi então denominada de “doença X”, pois diversas hipóteses de causa haviam sido descartadas não sendo possível chegar a uma conclusão. (Blount, 1961).

Foi a partir deste surto inexplicável que diversas pesquisas foram conduzidas para entender o que causaria a doença, até chegarem à conclusão de que as mortes eram ocasionadas por substâncias tóxicas, produzidas pelo fungo *A. flavus*, que estava presente no farelo de amendoim brasileiro, utilizado na alimentação animal. Foram descobertas quatro substâncias, que sob a luz ultravioleta, produziam fluorescência azul e verde, e com isso foram denominadas aflatoxinas “B1, B2” (“Blue”) e “G1, G2” (“Green”) (Fonseca, 1975).

Hoje já são conhecidas mais de 400 micotoxinas, sendo as mais importantes as aflatoxinas, principalmente B1 e B2, tricotecenos, como deoxinivalenol (DON), fumonisinas, sendo a fumonissina B1 (FB1) de maior relevância, ocratoxina A (OTA) e zearalenona (ZEA) (DORNINGER *et al.*, 2017; MASCARENHAS, 2018), produzidos principalmente pelos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* (ABDALLAH *et al.*, 2020). O que se tem como principal desafio, é buscar alternativas para controlar as micotoxinas nas diferentes matrizes alimentícias que se propagam (Bunzen, Haese, 2006; Celli *et al.*, 2009; Costa, Silva, Oliveira, 2013), tendo em vista que por se tratar de contaminantes de origem natural, não é possível erradicá-las completamente dos alimentos (Zuccolotto, 2020).

Além disso, durante todas as etapas da cadeia produtiva, os alimentos estão susceptíveis a contaminações, que podem ocorrer durante o cultivo, no período de pré e pós-colheita, no transporte e no armazenamento. Há anos a contaminação de produtos alimentícios é tratado como um problema de saúde pública a ser monitorado por meio de políticas e programas sanitários (Caldas, Silva, Oliveira, 2002).

A entrada das micotoxinas na cadeia alimentar pode ocorrer pela ingestão direta de um alimento que esteja colonizado por fungo micotoxigenico ou pela ingestão de um alimento processado, pois por serem compostos termoestáveis e altamente resistentes, durante o processamento industrial, pode-se conseguir eliminar o fungo presente, porém nem sempre é possível destruir a micotoxina que pode resistir a diversos métodos de processamento (Abdallah *et al.*, 2020; Zuccolotto, 2020).

Outro aspecto importante, é que uma mesma espécie fúngica pode produzir diferentes micotoxinas, como *Fusarium graminearum*, que produz desoxinivalenol (DON) e zearalenona (ZEA). De igual forma, uma mesma micotoxina pode ser produzida por diferentes fungos, como é o caso da FB1, que é produzida por *Aspergillus niger* e *F. verticillioides* (Abdallah *et al.*, 2020). Além disso, uma mesma matriz pode ser atacada por diferentes fungos micotoxigênicos, resultando em contaminação por multi-micotoxinas (Perrone, *et al.*, 2020). Além disso os níveis de micotoxinas nos alimentos podem variar em concordância com o tipo de matriz e pelas condições favoráveis para o fungo, como temperatura e umidade adequadas para seu desenvolvimento (Serra, 2005).

Diante da importância destes compostos tóxicos, vários países já definiram legislação para regular os limites máximos toleráveis (LMT) de micotoxinas nas principais matrizes onde já se tem histórico de sua ocorrência (LAMIC, 2022). Essas legislações são baseadas no Codex Alimentarius desenvolvido pela FAO e OMS na década de 1960, para conciliar normas alimentares no mundo, de forma a contribuir com o comércio internacional (CODEX, 2022).

No Brasil, até 2011 não havia regulamentação específica para micotoxinas em alimentos. Foi por meio da RDC Nº 7, de 08 de fevereiro de 2011, que o país estabeleceu os LMT para quatorze tipos de alimentos. A RDC estabeleceu os limites máximos para os grupos mais importantes de

micotoxinas, sendo aflatoxinas (B1, B2, G1, G2 e M1), Ocratoxina A (OTA), DON, fumonisinas (B1 e B2), patulina e ZEA. Em 2017, a ANVISA publicou no DOU a RDC Nº 138 que alterou os limites de DON em trigo e produtos de trigo prontos para ofertar ao consumidor. Com essa mudança, os LMT de DON foram reduzidos pela metade, conforme pode ser observado na **Tabela 1**.

Tabela 1. Limites Máximos Toleráveis (LMT) de DON em trigo e seus derivados, estabelecidos pela RDC nº 7/2011 e valores alterados pela RDC nº 138/2017.

Micotoxina	Alimento	LMT (µg/Kg) (RDC 7/2011)	LMT (µg/Kg) (RDC 138/2017*)
Desoxinivalenol (DON)	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada	2000	1000
	Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos decereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	1750	750

Fonte: RDC 07/2011 (BRASIL, 2011) e RDC 138/2017 (BRASIL, 2017).

Conforme demonstrado na **Tabela 1**, é possível visualizar que o Brasil tem adotado medidas para garantir a segurança alimentar, por meio de normas e regulamentos que se tornam mais rígidos, de forma a contribuir com a diminuição da ingestão de metabólitos tóxicos, como as micotoxinas, presentes em alimentos.

2.3.1. Aflatoxinas

As aflatoxinas são um grupo de metabólitos secundários produzidas principalmente por espécies do fungo *Aspergillus* spp., sendo as três principais espécies produtoras *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (Ramadan, Al-Ameri, 2022; Rocha, 2010; Zuccolotto, 2020). As aflatoxinas por sua vez, são enquadradas pelo *International Agency for Research on Câncer* (IARC), como agentes do grupo 1A, que corresponde às substâncias reconhecidamente carcinogênicas para humanos, e com isso é considerada um composto perigoso (IARC, 2002).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), as aflatoxinas são metabolizadas pelo fígado, onde tendem a se armazenar. No tecido hepático, promovem alteração da organização celular e causam danificações genéticas. Estes mecanismos justificam seu potencial carcinogênico pois, as alterações e danos podem levar a ocorrência de falhas nos mecanismos de controle celular, originando uma multiplicação celular desordenada, dando origem ao câncer (INCA, 2022).

As aflatoxinas são encontradas principalmente em amendoim, porém também podem estar presentes em outros produtos importantes como milho, leite, castanhas e algumas especiarias

(Andrade, 2016; Brasil, 2011). Recentemente, alguns estudos demonstraram a presença de aflatoxinas em cana-de-açúcar e em seus subprodutos não processados pela indústria (Abdallah *et al.*, 2020; Hariprasad *et al.*, 2015; Iamanaka *et al.*, 2019).

Ao total, são relatados cerca de 18 tipos de aflatoxinas, porém há legislação apenas para as de maior relevância do ponto de vista toxicológico. Desta forma, seis aflatoxinas são regulamentadas: AFB1, aflatoxina B2 (AFB2), AFG1, aflatoxina G2 (AFG2), aflatoxina M1, e M2, sendo AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2 as mais importantes e a AFB1 a que apresenta maior toxicidade e consequentemente, é a aflatoxina mais estudada (LAMIC, 2022; Santini, Ritieni, 2013; Zuccolotto, 2020).

No Brasil, as aflatoxinas em alimentos são regulamentadas pela RDC Nº 07/2011. Para o grupo das aflatoxinas consideradas de maior relevância (AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2), a legislação brasileira estabelece os LMT para cereais, feijão, castanhas, alimentos infantis, amêndoas de cacau, produtos de cacau, chocolate, diversas especiarias, amendoim e milho. Os valores máximos para cada uma destas matrizes estão apresentados na **Tabela 2**, a seguir.

Tabela 2. Limites Máximos Toleráveis (LMT) de aflatoxinas em alimentos, estabelecidos pela RDC nº 07/2011.

Micotoxina	Alimento	LMT (µg/Kg)
Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	Cereais e produtos de cereais, exceto milho e derivados, incluindo cevada malteada	5
	Feijão	5
	Castanhas exceto Castanha-do-Brasil, incluindo nozes, pistachios, avelãs e amêndoas	10
	Frutas desidratadas e secas	10
	Castanhas-do-Brasil com casca para consumo direto	20
	Castanhas-do-Brasil sem casca para consumo direto	10
	Castanhas-do-Brasil sem casca para processamento posterior	15
	Alimentos à base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	1
	Fórmulas infantis para lactentes e fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância	1
	Amêndoas de cacau	10
	Produtos de cacau e chocolate	5
	Especiarias: <i>Capsicum</i> spp. (o fruto seco, inteiro ou triturado, incluindo pimentas, pimenta em pó, pimenta decaiena e pimentão-doce); <i>Piper</i> spp. (o fruto, incluindo a pimenta branca e a pimenta preta) <i>Myristica fragrans</i> (noz-moscada) <i>Zingiber officinale</i> (gengibre) <i>Curcuma longa</i> (curcuma). Misturas de especiarias que contenham uma ou mais das especiarias acima indicadas	20
	Amendoim (com casca), (descascado, cru ou tostado), pasta de amendoim ou manteiga de amendoim	20
	Milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmolos de milho	20

Fonte: RDC 07/2011 (BRASIL, 2011)

Na legislação da União Europeia (UE), o Regulamento (UE) Nº 165/2010, além de estabelecer os limites máximos para a somatória de AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2, em alimentos, regula também os teores máximos para AFB1, isoladamente. Desta forma, na somatória dos limites

aceitáveis para esse grupo de aflatoxinas, deve ser considerado os teores máximos permitidos para AFB1. Na **Tabela 3** estão disponíveis as matrizes e concentrações de aflatoxinas definidos pela UE.

Tabela 3. Limites Toleráveis de AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2 definidos pelo Regulamento (UE). Nº 165/2010

Linha	Alimento	LMT (µg/Kg)	
		AFB1	Somatória AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2
1	Amendoins e outras sementes oleaginosas destinados a serem submetidos a um método de triagem ou a outro tratamento físico antes do seu consumo humano ou da sua utilização como ingrediente em gêneros alimentícios, com exceção de: amendoins e outras sementes oleaginosas destinados a serem triturados para a produção de óleo vegetal refinado	8	15
2	Amendoins, pistácios e caroços de alperce destinados a serem submetidos a um método de triagem ou a outro tratamento físico antes do seu consumo humano ou da sua utilização como ingrediente em gêneros alimentícios	12	15
3	Avelãs e castanhas do Brasil destinadas a serem submetidas a um método de triagem ou a outro tratamento físico antes do seu consumo humano ou da sua utilização como ingrediente em gêneros alimentícios	8	15
4	Frutos de casca rija, com exceção dos descritos nas linhas 2 e 3 desta tabela, destinados a serem submetidos a um método de triagem ou a outro tratamento físico antes do seu consumo humano ou da sua utilização como ingrediente em gêneros alimentícios	5	10
5	Amendoins e outras sementes oleaginosas e produtos derivados da sua transformação, destinados ao consumo humano direto ou à utilização como ingrediente em gêneros alimentícios, com exceção de: óleos vegetais brutos destinados à refinação, óleos vegetais refinados	2	4
6	Amendoins, pistácios e caroços de alperce destinados ao consumo humano direto ou à utilização como ingrediente em gêneros alimentícios	8	10
7	Avelãs e castanhas do Brasil destinadas ao consumo humano direto ou à utilização como ingrediente em gêneros alimentícios	5	10
8	Frutos de casca rija, com exceção dos descritos nas linhas 6 e 7 desta tabela, e produtos derivados da sua transformação, destinados ao consumo humano direto ou à utilização como ingrediente em gêneros alimentícios	2	4
9	Frutos secos destinados a serem submetidos a um método de triagem ou a outro tratamento físico antes do seu consumo humano ou da sua utilização como ingrediente em gêneros alimentícios	5	10
10	Frutos secos e produtos derivados da sua transformação destinados ao consumo humano direto ou à utilização como ingrediente em gêneros alimentícios	2	4
11	Todos os cereais e produtos derivados de cereais, incluindo produtos derivados da sua transformação, com exceção dos descritos nas linhas 12 e 14 desta tabela	2	4
12	Milho e arroz destinados a serem submetidos a um método de triagem ou a outro tratamento físico antes do seu consumo humano ou da sua utilização como ingrediente em gêneros alimentícios	5	10
13	Especiarias das seguintes espécies: Capsicum spp. (o fruto seco, inteiro ou triturado, incluindo pimentos, pimento em pó, pimenta de caiena e pimentão-doce), Piper spp. (o fruto, incluindo a pimenta branca e a pimenta preta), Myristica fragrans (noz-moscada), Zingiber officinale (gengibre), Curcuma longa (curcuma) e misturas de especiarias que contenham uma ou mais das especiarias acima indicadas	5	10
14	Alimentos transformados à base de cereais e alimentos para bebês destinados a lactentes e crianças jovens e alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos, especificamente destinados a lactentes	0,10	-

Fonte: Regulamento (UE). Nº 165/2010

Conforme já dito, o gênero *Aspergillus* spp. é o principal produtor das aflatoxinas. Este fungo está presente em diferentes regiões do mundo, porém é mais predominante em países de

climas subtropicais e temperados quentes, uma vez que algumas espécies de *Aspergillus* são organismos termófilos, e se desenvolvem em ambientes com temperaturas que variam entre 25 a 48° C, sendo para *A. flavus*, por exemplo, a temperatura de 37° C considerada ótimo para seu crescimento (Silva *et al.*, 2015). É estimado que nesses países, os impactos negativos causados pelas aflatoxinas atinjam em torno de 5 bilhões de pessoas (Desjardins, *et al.*, 2003; Roze, Hong, Linz, 2013).

Apesar de haver relatos da produção de aflatoxinas por três principais espécies de *Aspergillus* spp. (*A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*), a de maior importância econômica é *A. flavus*, pois é capaz de produzir aflatoxinas nas fases iniciais de desenvolvimento de diferentes culturas, como milho, amendoim, castanhas e pistache. Além de contaminações em cultivos, também produz aflatoxinas em diversas matrizes armazenadas em condições inadequadas, principalmente em ambientes sem controle de umidade e temperatura (Desjardins, *et al.*, 2003).

As doenças ocasionadas por aflatoxinas são denominadas aflatoxicoses e podem se apresentar em forma aguda ou crônica. A manifestação aguda, ocorre quando são ingeridos níveis moderados a altos de aflatoxinas e geralmente estão mais associadas à AFB1. Os efeitos de toxicidade aguda geralmente levam a quadros hemorrágicos, alterações gastrointestinais, lesão hepática e edema, podendo evoluir para óbito (BBOSA *et al.*, 2013). Não há muitos relatos de aflatoxicoses agudas em humanos, e os quadros já descritos são relatados principalmente em cães, suínos e bovinos (Guterres *et al.*, 2017; Olinda *et al.*, 2016; Pierezan, 2013). Já os efeitos biológicos das aflatoxicoses crônicas geralmente estão relacionados à mutagênese, carcinogênese, teratogênese e hepatotoxicidade (Baptista *et al.*, 2004).

A AFB1 é um composto lipossolúvel de baixo peso molecular, de estrutura heterocíclica com cinco anéis (**Figura 1**) e com isso, é facilmente absorvida pelas membranas plasmáticas. Em humanos e animais, a AFB1 passa por biotransformação hepática através do complexo enzimático do citocromo P-450, originando alguns metabólitos que podem ser mais tóxicos que ela mesma e outros, hidroxilados, com menor toxicidade (Andrade, 2016).

Um dos metabólitos gerados é um epóxido (AFBO) altamente reativo denominado AFB1-8,9-exo-epóxido. Os epóxidos são compostos que apresentam capacidade de se ligar aos nucleofílicos celulares encontrados nas proteínas, em RNA e DNA, ocasionando toxicidade e transformação celulares, de modo a ocasionar danos genéticos que posteriormente podem levar à ocorrência de mutações (Andrade, 2016; Brunton, Chabner, Knollmann, 2016).

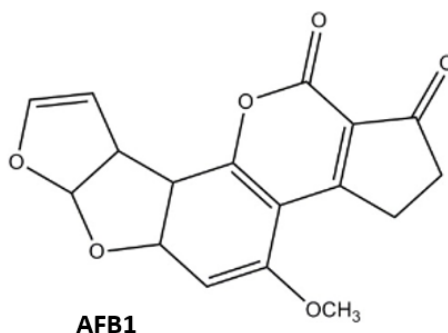


Figura 1. Estrutura molecular de aflatoxina B1

Fonte: Santini e Ritieni (2013)

Outro produto da biotransformação de AFB1, é a AFM1, que é formada por meio da inserção de uma hidroxila na molécula, de modo a se tornar um composto menos tóxico que a AFB1. Essa hidroxilação favorece a excreção da aflatoxina, que pode ocorrer por via renal, através da urina e pelo fígado, por meio da bile. De uma forma geral, a maior parte dos metabólitos gerados pela biotransformação são mais hidrossolúveis que a AFB1, sendo conseqüentemente, mais facilmente excretados pela urina (Andrade, 2016; Bbosa, 2013).

Para diminuir as contaminações por aflatoxinas, é preciso adotar estratégias que minimizem a proliferação fúngica. Essas estratégias se resumem na adoção de boas práticas agrícolas, como por exemplo, buscar formas de minimizar a presença de insetos que podem causar danos, adotando cultivares resistentes ao ataque de pragas, evitar condições de estresse, colher cedo para mitigar a ocorrência de contaminações pré-colheitas, armazenar os produtos em locais limpos, arejados, sem insetos e com umidade controlada, abaixo de 13%. Essas ações não garantem a inexistência de contaminação, entretanto são barreiras de controle que dificultam o desenvolvimento de fungos, e conseqüentemente dos metabólitos produzidos por eles, como as aflatoxinas (Lizárraga-Paulín *et al.*, 2013).

2.3.2. Fumonisinias

As fumonisinias são um grupo de micotoxinas comumente encontradas em milho e seus principais produtos destinados à alimentação humana e animal. São produzidas principalmente por *F. verticillioides* e *Fusarium proliferatum*, embora também sejam sintetizadas por outras espécies. Já foram descritos em torno de 28 tipos de fumonisinias, entretanto às formas mais corriqueiras e importantes são as fumonisinias B1 (FB1), fumonisinias B2 (FB2) e fumonisinias B3 (FB3), sendo a FB1 a mais tóxica do grupo (APS, 2022; Barroso, 2013; Liu *et al.*, 2019). As fumonisinias foram descritas pela

primeira vez em 1988, com a descoberta das FB1 e FB2, isoladas de cepas de *F. verticillioides*, extraídas de milho. Os pesquisadores que às descobriram, realizaram em ratos bioensaios, onde ofereceram as fumonisinas na dieta dos animais, por um período de quatro semanas. O estudo demonstrou que estes isolados, principalmente o que foi classificado como “FB1”, demonstrou ter uma importante atividade promotora de câncer, pois em um curto período de exposição, foi capaz de ocasionar hepatocarcinogênese nos animais estudados (Gelderblom *et al.*, 1988). A FB1 é classificada pelo IARC como um agente do Grupo 2B, sendo uma substância possivelmente carcinogênica para humanos (IARC, 2022).

Recentemente, um extenso estudo de revisão realizado por Chen *et al.* (2021), explorou os principais mecanismos tóxicos de FB1 em alguns animais e humanos. Foi demonstrado que essa fumonisina tem ação importante no desenvolvimento de câncer. Dentre os danos relatados, o trabalho demonstrou que por diferentes mecanismos, a FB1 pode ocasionar carcinogênese. A toxina, gera oxidação intracelular favorecendo a formação de radicais livres, que são responsáveis por desencadear efeitos citotóxicos. Nos rins, a FB1 é indutora da formação de tumores e no fígado, está associada ao desenvolvimento de insuficiência, cirrose, além de causar necrose e hepatocarcinoma. Outros efeitos tóxicos também foram associados a FB1, como imunotoxicidade, insuficiência cardíaca e edema pulmonar.

Segundo apontado por Pereira e Santos (2011), é possível que os efeitos carcinogênicos das fumonisinas sejam majoritariamente mediados por alterações na biossíntese dos esfingolipídios e não por interações com DNA, como acontece com as aflatoxinas, por exemplo. Os esfingolipídios são substâncias essenciais para a composição das membranas plasmáticas e atividade celular.

Em cultivos de milho com temperatura entre 28-32°C e umidade entre 27-32%, as fumonisinas encontram o ambiente ideal para seu desenvolvimento, além de se manterem estáveis nessas condições. Desta forma, tornam-se um problema maior principalmente nos países tropicais. Apesar das fumonisinas serem produzidas principalmente em milho, também são encontradas em outras culturas, como o arroz, cereais e trigo, porém o nível de contaminação nesses cultivos, ocorrem em menor incidência quando comparados ao milho (Chen *et al.*, 2021).

Em um estudo realizado por Orsi, *et al.* (2000) no Estado de São Paulo, foi demonstrado a ocorrência de fumonisinas B1 e B2 em grãos de milho que haviam sido recém-colhidos e levados ao armazenamento por um ano. Durante esse período, os pesquisadores fizeram avaliações mensais nas amostras, com verificações de temperatura, umidade, colonização por fungos e produção de micotoxinas. Os autores relataram que, *Fusarium* foi o gênero fúngico mais frequente, e reportaram também que o teor de umidade dos grãos entre 12,6 –16,8%, na temperatura média entre 18,8–21,4°C tornaram o ambiente propício para o desenvolvimento do fungo. Além disso, nas condições

estudadas, quase totalidade das amostras apresentaram contaminações por fumonisinas, sendo constatado FB1 e FB2 em 90,2% e 97,4%, das amostras, respectivamente.

De uma forma geral, em países de clima tropical, como o Brasil, *Fusarium* é um fungo de importância econômica para a cultura do milho, pois é relatado como um dos principais agentes causadores de doenças, com capacidade de ocasionar não só danos aos colmos e sementes, como também, às raízes (Rosa Junior, 2018). As espécies de *Fusarium* são descritas por Pozzi *et al.* (2002, p. 902) como “as principais invasoras de grãos de milho no campo”. Além das doenças provocadas, principalmente por *F. verticillioides*, que é o fungo de maior incidência em milho (Lanza *et al.* 2014), às fumonisinas também têm sido reportadas como uma preocupação importante relacionadas ao ataque do fungo (Hermanns, Pinto, Noll, 2006; Oliveira *et al.*, 2020).

Apesar de ser um problema importante, a presença de fumonisinas em milho é bem elucidado na literatura e com isso, constantemente novos estudos são realizados a fim de buscar melhores estratégias para controlar a toxina na cultura. Além disso, em diversos países já existe legislações que estabelecem os limites máximos de fumonisinas no milho destinado ao consumo humano e animal. No Brasil, os limites são legislados pela RDC Nº 07/2011. Os valores máximos para cada produto de milho estão apresentados na **Tabela 4**, a seguir.

Tabela 4. Limites Máximos Toleráveis (LMT) de fumonisinas em milho e seus derivados, estabelecidos pela RDC nº 7/2011.

Micotoxina	Alimento	LMT (µg/Kg)
Fumonisinas (B1 e B2)	Milho em grão para posterior processamento	5000
	Milho de pipoca	2000
	Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha	1500
	Amido de milho e outros produtos à base de milho	1000

Fonte: RDC 07/2011 (BRASIL, 2011)

Além do Brasil, outros países possuem legislação para fumonisinas. Na Europa por exemplo, os limites são regulados desde 2001, para todos os países membros da União Europeia (UE). Os limites máximos de fumonisinas e outras micotoxinas produzidas por *Fusarium*, são definidos pelo Regulamento (CE) Nº 856/2005, da União Europeia. Os valores regulados para fumonisinas em milho estão descritos na **Tabela 5**.

Tabela 5. Regulamento (CE). Nº 857/2005 – Valores para fumonisinas em milho, na EU.

Micotoxina	Alimento	LMT (µg/Kg)
Fumonisinias (B1 e B2)	Milho não transformado	2000
	Sêmola de milho e farinha de milho	1000
	Alimentos à base de milho para consumo direto	400
	Alimentos destinados a lactentes e crianças jovens e alimentos para bebês à base de milho transformado	200

Fonte: Regulamento (CE). Nº 857/2005

Com a adoção de legislações, é possível assegurar maior segurança da população contra os efeitos nocivos das micotoxinas.

O *Fusarium* também é um fungo de importância econômica para a cana-de-açúcar. O fungo é descrito como causador de doenças como Pokkah boeng, que gera alteração fisiológica na parte aérea da planta e a podridão de *Fusarium* (Costa *et al.*, 2019). O fungo é conhecido como um invasor oportuno, pois para entrar na planta, depende de lesões nos colmos, ocasionado por insetos, como a *D. saccharalis*, por exemplo. O fungo entra na planta por meio dos orifícios deixados pela *D. saccharalis* nos colmos, e pode se instalar sozinho ou em associação com o *C. falcatum* (Jokeshi, 1997).

Apesar de *Fusarium* ser um fitopatógeno conhecido por ocasionar doenças na cultura da cana-de-açúcar, até o momento, nenhum estudo foi conduzido no Brasil para avaliar a ocorrência de fumonisinas na planta e mais precisamente, até o momento, somente um trabalho foi conduzido para avaliar a presença de metabólitos de *Fusarium* em cana.

Tal trabalho foi conduzido em Assuit, no Egito, por um grupo de pesquisadores que avaliaram amostras de caldo de cana coletados de vendedores locais, durante o inverno e verão, para identificar a ocorrência de micotoxinas. Os autores constaram a presença de AFB1 e FB1 nas amostras estudadas. As amostras coletadas no inverno apresentaram uma concentração de AFB1 entre 0,10-3,0 µg/L e FB1 entre 2,8-57,9 µg/L. Já as amostras coletadas durante o verão, foram positivadas apenas para AFB1, numa concentração de 0,30-1,3 µg/L e FB1 (Abdallah *et al.*, 2020).

Estes dados demonstram a necessidade de conduzir estudos mais detalhados para avaliar a ocorrência de micotoxinas em cana-de-açúcar. Considerando o Brasil o principal produtor da cultura, é importante que essas informações sejam elucidadas, a fim de buscar adotar estratégias para controle deste contaminantes, caso sejam identificados em canaviais brasileiros. Vale ressaltar que *F. verticillioides* já é conhecido como um fungo colonizado nas condições climáticas do Brasil. Além disso, já se sabe da ocorrência do fungo na cultura, porém não se sabe se em cana, o fungo é capaz de produzir micotoxinas.

2.3.3. Zearalenona

A zearalenona (ZEA) é um metabólito secundário que pode ser produzido por *Fusarium* spp., sendo *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*), *F. proliferatum* e *Fusarium culmorum* as principais espécies produtoras. Estas espécies são contaminantes de milho e outros cereais, como trigo, cevada, arroz, aveia, entre outros e, tendem a se desenvolver em temperaturas mais baixas. Alguns parâmetros como, a disponibilidade de oxigênio, presença de água (umidade) e temperatura entre 12-14°C, são fatores determinantes para que o metabolismo do fungo possa sintetizar ZEA (Boeira, 2012; Zuccolotto, 2020).

Regiões de clima temperado, como Europa, Ásia, América e Oceania tem a maior incidência de ZEA em alimentos e rações (Zinedine *et al.*, 2007). No Brasil, um país de clima tropical, o fungo encontra às condições ideais para colonizar e produzir ZEA na região Sul do país (Zuccolotto, 2020). Geralmente, *F. graminearum* é descrito como uma espécie do solo, produtora de micotoxinas no campo. Em trigo, essa espécie é conhecida por causar a giberela, uma doença caracterizada por deixar a espiga do trigo esbranquiçada, refletindo em perda de produtividade e aumentando a susceptibilidade da planta a contaminações secundárias por micotoxinas, como DON e ZEA (Santos *et al.*, 2010).

Entre 2015 e 2018, Mistura e Lindino (2020) avaliaram a incidência de micotoxinas em amostras de milho coletadas nos estados do Paraná, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. O trabalho demonstrou que no Paraná foi encontrada a maior incidência de ZEA, e os autores correlacionaram este achado com o fato do estado apresentar as condições ideais para o desenvolvimento dessa micotoxina. Além disso, nos três estados, as concentrações máximas encontradas superaram os limites permitidos pela legislação brasileira para milho em grãos, que é 400 µg/kg. No Paraná, a maior concentração encontrada foi de 7800 µg/kg, no Mato Grosso, 891 µg/kg e Mato Grosso do Sul, 3632 µg/kg.

O mecanismo de ação tóxica de ZEA não está totalmente elucidado, porém por ser uma molécula com estrutura química que se assemelha aos estrógenos naturais, sabe-se que, *in vivo*, a substância se liga nos receptores de estrogênio de forma competitiva com os estrógenos endógenos (Zinedine *et al.*, 2007). Como resultado, ZEA gera hiperestrogenismo ocasionando alterações funcionais e morfológicas nos órgãos reprodutivos, sendo os suínos os animais mais sensíveis a estes efeitos. É relatado que as fêmeas apresentam quadros de atrofia nos ovários, diminuição de fertilidade e filhos natimortos. (Gremmels, Malekinejad, 2007). Já em machos, os efeitos ocasionados por ZEA podem refletir aos porcos em “supressão de libido, redução dos níveis séricos de testosterona, peso testicular, bem como a espermatogênese pode ser comprometida” (Aguiar, 2021, p. 22).

Além disso, a ZEA é biotransformada pelo fígado e forma os metabólitos α -zearalenol (α -ZEA) e β -zearalenol (β -ZEA), que se conjugam com o ácido glucurônico, de forma a facilitar a excreção (ZINEDINE *et al.*, 2007). Algumas espécies de suínos têm baixa capacidade de conjugação com o ácido glucurônico, o que pode estar relacionado com o fato desses animais serem mais sensíveis aos efeitos de ZEA, uma vez que a baixa capacidade de glucuronidação pode causar uma bioacumulação destes metabólitos que podem ser inativados e excretados tardiamente (Gremmels, Malekinejad, 2007).

De acordo com a American Phytopathological Society (APS, c2022), além de ocasionar problemas estrogênicos em suínos em idade reprodutiva, a ZEA também pode contaminar leitões em período de aleitamento. Em complemento, a ZEA pode representar perdas econômicas importantes para a cultura do milho. Neste cenário, em busca de assegurar maior segurança alimentar, diversos países já estabeleceram legislação para ZEA (LAMIC, 2022).

Pela legislação brasileira, em milho e trigo ainda não processados, os LMT para ZEA é de até 400 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (Brasil, 2011). Já a Comunidade Europeia, possui uma legislação mais rigorosa que o Brasil, tendo em vista que estabelece os limites máximos de até 200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, para milho destinado ao consumo humano direto. O regulamento europeu também determina os limites máximos de ZEA para derivados do milho, cereais, pães e alimentos destinados a alimentação infantil e de lactantes. Apesar de menor rigor quando comparada com a legislação europeia, a legislação brasileira também regula as concentrações máximas de ZEA para outras matrizes não regulamentadas pela Europa, como arroz integral, farelo de arroz e arroz beneficiado e seus derivados. Na **Tabela 6** estão relacionados os alimentos contemplados pela legislação brasileira e os LMT de ZEA para cada matriz.

Tabela 6. Limites Máximos Toleráveis (LMT) de ZEA em alimentos, estabelecidos pela RDC nº 7/2011.

Micotoxina	Alimento	LMT (µg/Kg)
Zearalenona	Alimentos a base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	20
	Farinha de trigo, massas, crackers e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	100
	Arroz beneficiado e derivados	100
	Arroz integral	400
	Farelo de arroz	600
	Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos e subprodutos à base de milho	150
	Trigo integral, farinha de trigo integral, farelo de trigo	200
	Milho em grão e trigo para posterior processamento	400

Fonte: RDC 07/2011 (BRASIL, 2011)

A ZEA é um composto estável a elevadas temperaturas e com isso, seu controle pode ser um tanto quanto desafiador. De acordo com Matté (2017), hidrolisar a molécula de ZEA com a utilização de aditivos enzimáticos na alimentação de suínos pode ser uma alternativa para controle de ZEA e seus metabólitos, de forma a diminuir os efeitos tóxicos ocasionados por esses compostos.

2.3.4. Desoxinivalenol

O desoxinivalenol é um tricoteceno do grupo B das micotoxinas produzidas por *Fusarium*, sendo *F. graminearum* (*Gibberella zeae*) e *F. culmorum* as principais espécies produtoras (Costa, Siqueira, Zoch, 2021). Segundo Iamanaka, Oliveira e Taniwaki (2010), DON é comumente encontrada em cereais como trigo, cevada, aveia, centeio, milho e sorgo. Uma característica que difere DON das demais micotoxinas de *Fusarium*, é que sua formação não está associada a estresse hídrico, entretanto são em períodos chuvosos que o fungo encontra condições favoráveis para sintetizar DON (Zuccolotto, 2020).

Para *F. graminearum*, a temperatura de 25°C, com atividade de água acima de 0,88 são ideais para seu desenvolvimento. Já *F. culmorum* se desenvolve em temperatura de 21°C, com atividade de água acima 0,87 (Iamanaka, Oliveira, Taniwaki, 2010). Para ambas as espécies, atividade

de água acima de 0,98 e temperatura de 25°C, são descritas como condições ideais para a síntese de DON (Pinto *et al.*, 2022). Janviciene *et al.* (2022) aponta que DON é uma das micotoxinas mais comum em diversos países da Europa, presente principalmente no trigo. Os autores destacam que a ocorrência de mudanças climáticas, com alterações extremas de temperatura e umidade, são fatores que podem influenciar no aumento da produção de DON nessas regiões.

De acordo com a pesquisa mundial de micotoxinas, realizada pela empresa DSM (anteriormente denominada Biomin) em 2020, DON foi reportada como uma das micotoxinas de maior incidência do mundo. Na América do Norte, por exemplo, DON foi detectada em 72% das amostras de milho e 89% de amostras de outros cereais. Na América Central, 69% das amostras de glúten de milho também estavam contaminadas pela micotoxina. Entretanto, a região do globo de maior preocupação para DON é a Europa, onde foram detectadas concentrações máximas de 11.875 ppb, em cereais (Biomin, 2021).

DON, é um tricoteceno sesquiterpeno epóxido que inibe a síntese de proteínas eucarióticas, de forma a ocasionar prejuízos à saúde humana e animal. Os tricoteceno apresentam núcleo tricíclico, e geralmente, apresentam um epóxido em C-12 e C-13, que confere sua toxicidade (Desjardins *et al.*, 1993). Assim como ocorre com outras micotoxinas, DON é um composto termoestável e com isso pode não ser degradada na presença de altas temperaturas, sendo relatada sua estabilidade em até 135°C (Almeida, Feijó, Kaminski, 2020). É uma micotoxina descrita como um dos principais contaminantes de alimentos destinados à humanos e animais. Em relação a susceptibilidade, há relatos de que DON pode ocasionar agravos em suínos, camundongos, ratos, aves domésticas e em menor prevalência, ruminantes. Intoxicação aguda por exposição à altas concentrações de DON, pode ocasionar uma série de distúrbios no trato gastrointestinal (Gerez, Desto, Bacarense, 2017).

Um recente trabalho realizado na China, demonstrou que um grupo de leitões desmamados expostos cronicamente à DON, por meio de uma dieta contaminada, apresentaram redução do apetite, diminuição do ganho de peso além de alteração na microbiota intestinal (Liu *et al.*, 2020).

Além disso, outro estudo realizado para avaliar os efeitos de DON no sistema reprodutivo de suínos, demonstrou alterações histológicas e um aumento significativo no escore lesional, em ovários de porcas. DON também demonstrou efeito sob a integridade dos folículos ovarianos, tendo sido encontrado aumento de degeneração e crescimento folicular. Também demonstrou ter efeito no processo de maturação dos folículos, ocasionando importante diminuição no número de folículos saudáveis. Esses dados apontam que a exposição a DON pode interferir no sistema reprodutivo de porcas (Gerez, Desto, Bacarense, 2017).

No Brasil, é reportada em milho, trigo e outros cereais, sendo mais frequente em cultivos localizados no sul do país. Em um estudo realizado para avaliar a ocorrência de DON em trigo nacional e importado, foram detectadas concentrações maiores de DON em trigo do Brasil, quando comparado com amostras coletadas do Paraguai e Argentina. As amostras de trigo brasileiro foram coletadas em São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul. Destas, 50% do total avaliado, apresentou contaminação por DON entre 90 e 500 µg/kg, e em 6% das amostras, encontrou-se níveis entre 500 e 1000 µg/kg (Calori-Domingues *et al.*, 2007).

Outro trabalho conduzido com amostras de milho de diferentes regiões brasileiras, demonstrou que 18,7% das amostras avaliadas apresentaram contaminação por DON em concentrações superiores à 1000 µg/kg (Feddern *et al.*, 2018).

Pela legislação brasileira vigente, a concentração máxima permitida de DON em trigo e milho em grãos para posterior processamento é de até 3000 µg/kg (Brasil, 2017). Apesar dos estudos terem demonstrado uma concentração de DON abaixo do permitido pela legislação, é importante que novos trabalhos sejam conduzidos para assegurar um monitoramento frequente da exposição de humanos e animais a contaminação de DON. Conforme já demonstrado, alterações climáticas, podem favorecer a produção de DON e por isso, é importante que o perfil de produção desta micotoxina seja constantemente monitorado.

2.3.5. Ocratoxina A

As ocratoxinas são metabólitos secundários que podem ser produzidos por espécies dos gêneros *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., sendo *Aspergillus* o principal produtor em países de clima tropical. *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus carbonarius* e *Aspergillus niger* estão entre as principais espécies produtoras deste gênero (Taniwaki, Iamanaka, Vicentini, 2000; Zuccolotto, 2020). Importante salientar que o *A. niger* é empregado pela indústria alimentícia como produtor de enzimas e ácido cítrico. Sendo assim, pela sua capacidade produtora de OTA, é crucial que as cepas utilizadas nesses processos sejam analisadas para assegurar que não tenham capacidade de sintetizar a micotoxina (Freire *et al.*, 2007).

O grupo das ocratoxinas é composto por três tipos: A, B e C. Destas, a ocratoxina A (OTA) é a que apresenta maior potencial tóxico, sendo classificada pela IARC, como uma substância do grupo 2B, considerada como um possível carcinógeno para humanos (IARC, 1993). Sua descoberta ocorreu em 1965, por meio de estudos de toxicidade realizados em farinha de milho, inoculada com cepas de *Aspergillus ochraceus* (Van Der Merwe *et al.*, 1965). A presença de OTA é descrita em café, cerveja, vinho tinto, suco de uva, amendoim, milho e outros cereais (Agriopoulou, Stamatelopoulo, Varzakas,

2020; Hoeltz, 2009; Maziero, Bersot, 2010). A OTA está no grupo das micotoxinas termoestáveis, podendo resistir a temperaturas de até 250°C (Rubinstein, Theumer, 2011).

De acordo o trabalho realizado por Santos (2004), durante a torra do café, os grãos são submetidos a elevadas temperaturas, que promovem a degradação da OTA. O trabalho avaliou dois diferentes tipos de torras, sendo uma menos intensa, classificada como “clara/média” e outra mais intensa, classificada como “escura”. O café de torra clara/média apresentou redução de OTA em 64% e os grãos que passaram pela torra escura, demonstraram 87% de redução da micotoxina, sugerindo-se que quanto maior a temperatura, maior a degradação da micotoxina.

Contudo, Bittner, Cramer, Humpf (2013), investigaram se a diminuição da OTA após a torra do café, de fato estava relacionada com a degradação da micotoxina pelo calor. O estudo demonstrou que, durante o aquecimento, é promovida uma reação de esterificação e com isso a OTA se liga aos polissacarídeos do café, formando um complexo com os compostos da matriz, de maneira a se tornar “mascarada” e não identificada por métodos cromatográficos. Isso explica o motivo de ser reduzida no café torrado, e não necessariamente uma degradação da molécula de OTA. Outro ponto relevante, é que durante o preparo da bebida, a ligação éster que foi formada com a OTA durante a torra é clivada, de forma a liberar e tornar os polissacarídeos e a OTA livres.

Essa complexação entre a micotoxinas e os compostos da matriz, de acordo com Freire e Sant’Ana (2018), ocorrem devido à algum tipo de processamento, como tratamentos térmicos, descascamento, moagem, entre outros; ou por conta de algum fenômeno biológico, podendo ser modificada pelo metabolismo da planta infectada ou por microrganismos, como leveduras, bactérias e o próprio fungo micotoxigêneo. Essas micotoxinas são chamadas de “micotoxinas mascaradas ou associadas”, de forma a impossibilitar ou mascarar a detecção analítica destes compostos (Rychlik *et al*, 2014).

Além do café, a OTA também é descrita como uma das micotoxinas de maior incidência em uvas e seus principais derivados, como sucos integrais e vinhos. Um estudo, conduzido com sucos de uvas integrais do Rio Grande do Sul, demonstrou que mais 58% das amostras analisadas apresentaram contaminação por OTA entre 2,07 e 11,50 µg/kg (Müller *et al.*, 2018), sendo que pela legislação brasileira, O LMT de OTA em suco de uva é de 2,00 µg/kg (Brasil, 2011).

Além de ser regulada em suco de uva, a legislação brasileira também determina os LMT de OTA em outras matrizes, como cereais, feijão, café, vinhos, diversas especiarias, alimentos a base de cereais para alimentação infantil, produtos de cacau, chocolate, amêndoas de cacau, frutas secas e desidratadas (Brasil, 2011). As concentrações máximas permitidas de OTA nestes alimentos estão apresentadas na **Tabela 7**:

Tabela 7. Limites Máximos Toleráveis (LMT) de Ocratoxina a em alimentos, estabelecidos pela RDC nº 7/2011.

Micotoxina	Alimento	LMT (µg/Kg)
Ocratoxina A	Cereais e produtos de cereais, incluindo cevada Malteada	10
	Cereais para posterior processamento, incluindo grão de cevada	20
	Feijão	10
	Café torrado (moído ou em grão) e café solúvel	10
	Vinho e seus derivados	2
	Suco de uva e polpa de uva	2
	Especiarias: Capsicum spp. (o fruto seco, inteiro ou triturado, incluindo pimentas, pimenta em pó, pimenta decaiena e pimentão-doce) Piper spp. (o fruto, incluindo a pimenta branca e a pimenta preta) Myristica fragrans (noz-moscada) Zingiber officinale (gingibre) Curcuma longa (curcuma) Misturas de especiarias que contenham uma ou mais das especiarias acima indicadas	30
	Alimentos a base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	2
	Produtos de cacau e chocolate	5
	Amêndoa de cacau	10
	Frutas secas e desidratadas	10

Fonte: RDC 07/2011 (BRASIL, 2011)

Além de ser um possível agente causador de câncer para humanos (IARC, 1993), outros efeitos tóxicos estão associados à OTA, como hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, teratogênese e imunotoxicidade. Também é reportada como inibidora da síntese proteica, podendo ocasionar disfunções mitocondriais, formação de adutos de DNA, interferir na homeostasia do cálcio, além de ocasionar a formação de espécies reativas de oxigênio (Bittner, Cramer, Humpf, 2013; Rubinstein, Theumer, 2011). Uma exposição crônica de humanos à OTA, pode resultar na formação de tumores no trato urinário e câncer nos testículos (Rubinstein, Theumer, 2011).

2.3.6. Toxina T-2

Os tricotecenos são um conjunto de micotoxinas divididas em quatro grupos diferentes (A, B, C e D) e que podem ser produzidas principalmente por fungos do gênero *Fusarium* spp., entretanto, os fungos dos gêneros *Myrothecium* spp., *Cephalosporium* spp., *Verticimonosporium* spp., *Stachybotrys* spp. e *Trichothecium* spp., também podem sintetizar alguns tipos de tricotecenos. São relatados cerca de 150 tipos de tricotecenos, porém os que apresentam maior toxicidade são DON, nivalenol (NIV), toxina T-2 e toxina HT-2 (Oliveira, Soares, 2001; Santos *et al*, 2004; Zuccolotto, 2020).

Os tricotecenos são epóxidos sesquipertenos, e apresentam um anel tetracíclico com um grupo epóxido em C-12 e C-13, que conferem a toxicidade (Maziero, Bersot, 2010). A toxina T-2 é classificada como um tricoteceno do grupo A, que detém os compostos que ocasionam maior toxicidade aguda (Arraché, 2019). Este grupo é caracterizado por possuir um grupamento funcional não carbonila em C-8, (Zuccolotto, 2020).

Os tricotecenos são compostos termoestáveis e por isso, podem resistir à diversos processamentos industriais. Além disso, são moléculas estáveis quimicamente e em pH neutro e ácido, e por isso, após serem ingeridas, não são hidrolisadas no aparelho gastrointestinal. A toxicidade da toxina T-2 em animais, pode ocasionar retardo de crescimento, anorexia e problemas reprodutivos, como toxicidade embrionária ou fetal. Além disso, estudos *in vivo* demonstraram que os linfócitos são sensíveis a toxina T-2, e por isso é considerada como um agente imunossupressor (Rocha, Ansari, Doohan, 2006). A literatura também aponta que os tricotecenos são inibidores da síntese proteica, de DNA e RNA, podendo ocasionar quadros hemorrágicos e potencializar os efeitos imunossupressores de T-2 (Garda, Macedo, Badiale-Furlong, 2004; Rocha, Ansari, Doohan, 2006).

É reportada a ocorrência de T-2 em cereais, como trigo, centeio, cevada, malte e aveia (Arraché, 2019; Gottschalk *et al.*, 2009; Juan, Ritieni, Mañes, 2013). Em um estudo realizado por Garda, Macedo e Badiale-Furlong (2004), para determinar a presença de tricotecenos em cervejas comercializadas no Rio Grande do Sul, apontou que 4,5% das amostras analisadas estavam contaminadas por toxina T-2.

Outro trabalho conduzido no sudeste da Alemanha, em Baviera para avaliar a ocorrência de tricotecenos em cereais, demonstrou contaminações por toxinas T-2 e HT- 2 em 94% das amostras de trigo, 95% das amostras de centeio e 100% das amostras de aveia que foram estudadas. Os níveis mais altos detectados, da soma de T-2 e HT-2, foram de 24 µg/kg em farelo de trigo, 3,1 µg/kg em grãos de centeio e 85 µg/kg flocos de aveia (Gottschalk *et al.*, 2009).

A toxina T-2 não é regulada pela legislação brasileira, entretanto o Regulamento 165/2013, da União Europeia, estabelece os níveis máximos para T-2 e HT-2 em cereais e derivados. A **Tabela 8**, apresenta os níveis máximos recomendados destes tricotecenos pela Comunidade Europeia.

Tabela 8. Níveis de toxina T-2 e HT-2 para os cereais e produtos à base de cereais recomendados pela legislação europeia.

Micotoxina	Categoria	Alimento	LMT (µg/Kg)*
T-2 e HT-2	Cereais não transformados	Cevada (incluindo cevada destinada à indústria da cerveja) e milho	200
		Aveia (com casca)	1000
		Trigo, centeio e outros cereais	100
	Grãos de cereais para consumo humano direto	Aveia	200
		Milho	100
		Outros cereais	50
	Produtos à base de cereais para consumo humano	Sêmea grosseira de aveia e flocos de aveia	200
		Sêmea grosseira de cereais, com exceção de sêmea grosseira de aveia, produtos da moagem da aveia, exceto sêmea grosseira de aveia e flocos de aveia, e produtos da moagem do milho	100
		Outros produtos da moagem de cereais	50
		Cereais para o pequeno-almoço, incluindo flocos de cereais formados	75
		Pão (incluindo pequenos produtos de panificação), produtos de pastelaria, bolachas, refeições leves à base de cereais, massas alimentícias	25
	Gêneros alimentícios à base de cereais destinados a lactantes e crianças jovens	15	
	Produtos à base de cereais para a alimentação animal e alimentos compostos para animais	Produtos da moagem da aveia (cascas)	2000
Outros produtos à base de cereais		500	
Alimentos compostos para animais, à exceção de alimentos para gatos		250	

Quando comparado ao tricoteceno DON, ainda existem poucos trabalhos a respeito da toxina T-2 em alimentos. Entretanto, o potencial tóxico desta toxina justifica a necessidade de estabelecer mecanismos de controle e prevenção que possam assegurar maior segurança alimentar ao homem e animais. A União Europeia por meio do Regulamento 165/2013 estabeleceu a margem de segurança para T-2 e seu metabólito desacetilado, toxina HT-2, nas principais matrizes onde essas micotoxinas são encontradas. Neste contexto, novos estudos podem subsidiar a regulamentação da toxina T-2 para outros países, como o Brasil, por exemplo, de forma a aprimorar a segurança do consumo de micotoxinas.

2.3.7. Micotoxinas em cana-de-açúcar

Desde a descoberta das aflatoxinas na década de 1960 (Blount, 1961), diversos estudos foram conduzidos para avaliar os efeitos tóxicos destes metabólitos (PICKOVA, *et al.*, 2021). Desde então, novas micotoxinas foram descobertas e o número de trabalhos aumentaram para estudá-las em diversas culturas e matrizes alimentares destinadas ao consumo humano e animal (Gelderblom *et al.*, 1988, Van-Der-Merwe *et al.*, 1965). Todavia, ao longo dos anos, a literatura sobre micotoxinas se consolidou em grãos oleaginosos e cereais (Biomín, 2021; Mascarenhas, 2018, Maziero, Bersot, 2010).

Apesar disto, outros produtos importantes, como a cana-de-açúcar também pode ser uma fonte para presença de fungos micotoxigênicos, tendo em vista que há relatos de diversas doenças ocasionadas por fungos, como a Pokkah boeng, ocasionada por *F. verticillioides*, descrita em cana no Brasil e em outros países produtores, como a Índia (Cabi, 2021; Santiago, Rosseto, 2021; Vishwakarma *et al.*, 2013).

Em um estudo realizado entre 1991 e 2002, foi identificada a presença de fungos micotoxigênicos em solos de canaviais de ilhas localizadas ao sul do Japão e Vietnã. O trabalho demonstrou que espécies de *Aspergillus* spp. isoladas, foram capazes de produzir aflatoxinas dos tipos B e G e ocratoxinas (Kumeda *et al.*, 2003). Ainda no início da década de 2000, fungos micotoxigênicos também foram isolados de canaviais no Egito, sendo *Aspergillus* e *Trichoderma* os gêneros de maior prevalência e AFB1, AFG1, AFG2 e ZEA as micotoxinas detectadas (Abd-Eiaah, Samya, 2005).

Outro estudo realizado em 2012, no Estado de Karnataka, localizado ao sul da Índia, avaliou a capacidade da cana em absorver aflatoxinas a partir de solos contaminados. O estudo demonstrou que 80% das amostras de solos analisadas estavam contaminadas por aflatoxinas, em níveis que variaram de 0,5 a 22 µg/kg. Também foram encontrados fungos aflatoxigênicos em todas as

amostras estudadas. Em experimento realizado em casa-de-vegetação, foi demonstrado que as plantas de cana-de-açúcar são capazes de absorver aflatoxinas a partir de solos contaminados. Neste trabalho, também foram analisados, o caldo extraído da cana e o açúcar mascavo. Foi observado contaminações por aflatoxinas em 40% das amostras de caldo, com variações entre 1 a 9,5 µg/kg, porém no açúcar mascavo não foram detectadas aflatoxinas (Hariprasad *et al.*, 2015).

Em 2016, Abdallah *et al.* (2016) reportou a ocorrência natural de múltiplos metabólitos fúngicos e bacterianos, em cana-de-açúcar e no caldo, coletados na cidade de Assiut, no Egito. Dentre os metabólitos encontrados, foram detectados AFB1 e AFG1, no caldo e na planta, sendo que AFG1 foi detectada em 10% das amostras de cana e em 18% das amostras de caldo, com concentrações máximas de 7,76 µg/kg e 34 µg/kg, respectivamente. Já AFB1 foi detectada em 48% das amostras de cana e em 58% das amostras de caldo, com concentrações máximas de 30,6 µg/kg e 2,10 µg/kg, para a planta e caldo, respectivamente.

Embora o Brasil seja um dos principais produtores, somente em 2019 foi publicado um trabalho reportando micotoxinas em cana-de-açúcar. Ainda assim, o estudo conduzido por Iamanaka *et al.* (2019) em canaviais do estado de São Paulo, focou na identificação de espécies de *Aspergillus* spp. em cana-de-açúcar e as únicas micotoxinas estudadas foram aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2). Neste trabalho, a maioria dos produtos estudados, com exceção o açúcar, demonstraram alguma contaminação por aflatoxinas, sendo que o nível mais alto detectado foi na levedura seca, com valor máximo de 10,19 µg/kg, considerando a soma das quatro aflatoxinas. Apesar de ter sido um trabalho robusto, não foi explorado pelos autores as formas de entrada do fungo na planta, tendo sido apenas levantado a hipótese dessas contaminações serem originadas de outras culturas plantadas para fazer rotação durante a reforma dos canaviais, como o amendoim, por exemplo, cuja contaminação por *Aspergillus* spp. e aflatoxinas já é bastante consolidado na literatura.

Apesar das diferentes legislações para micotoxinas, apenas três micotoxinas são regulamentadas em bebidas (AFM1, OTA e patulina). Segundo Abdallah *et al.* (2020), a ausência de regulamentos para outras micotoxinas em bebidas e sucos, pode estar relacionado com a ausência de métodos analíticos para essas matrizes e com a insuficiência de dados que justifiquem o controle em determinadas bebidas.

Neste contexto, novos estudos abordando a contaminação por multi-micotoxinas em bebidas e outras culturas importantes para a economia mundial, como a cana-de-açúcar, podem corroborar com a ampliação de regulamentos para estes metabólitos, de modo a proporcionar menor exposição à micotoxinas e promoção de maior segurança alimentar para a saúde humana e animal.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

3.1.1. Amostras avaliadas

Neste estudo, foram avaliadas as 10 principais variedades de cana-de-açúcar cultivadas na região Centro-sul do Brasil, na safra 21/22, de acordo com o censo varietal IAC. As variedades estão descritas na **Tabela 9**. Dos materiais selecionados, foram avaliados, para a mesma variedade, tratamentos com danos ocasionados pela broca e tratamentos com canas íntegras (sem danos). Os tratamentos foram avaliados em 4 repetições. Sendo assim, ao total, foram amostrados 40 tratamentos de canas brocadas e 40 controles (sem danos). Esta etapa foi realizada em um viveiro localizado dentro de uma estação experimental, em Piracicaba/SP. A estação está situada na latitude 22° 41' 34,11" S, longitude 47° 33' 54,56" W e a 530 m de altitude. O viveiro foi plantado entre agosto e outubro de 2020 e a amostragem realizada em fevereiro de 2022, período ao qual o viveiro ainda não havia sido colhido. Não houve inoculação artificial de fungos micotoxigênicos no ambiente de plantio.

Tabela 9. Detalhamento das amostras e tratamentos

Variedades	Data de Plantio	Tratamento com Dano	Tratamento sem Dano
CTC4	11/08/2020	Rep1 – CTC4 – com Dano	Rep1 – CTC4 – sem Dano
		Rep2 – CTC4 – com Dano	Rep2 – CTC4 – sem Dano
		Rep3 – CTC4 – com Dano	Rep3 – CTC4 – sem Dano
		Rep4 – CTC4 – com Dano	Rep4 – CTC4 – sem Dano
RB867515	11/08/2020	Rep1 – RB867515 – com Dano	Rep1 – RB867515 – sem Dano
		Rep2 – RB867515 – com Dano	Rep2 – RB867515 – sem Dano
		Rep3 – RB867515 – com Dano	Rep3 – RB867515 – sem Dano
		Rep4 – RB867515 – com Dano	Rep4 – RB867515 – sem Dano
CTC9003	11/08/2020	Rep1 – CTC9003 – com Dano	Rep1 – CTC9003 – sem Dano
		Rep2 – CTC9003 – com Dano	Rep2 – CTC9003 – sem Dano
		Rep3 – CTC9003 – com Dano	Rep3 – CTC9003 – sem Dano
		Rep4 – CTC9003 – com Dano	Rep4 – CTC9003 – sem Dano
CTC9006	11/08/2020	Rep1 – CTC9006 – com Dano	Rep1 – CTC9006 – sem Dano
		Rep2 – CTC9006 – com Dano	Rep2 – CTC9006 – sem Dano
		Rep3 – CTC9006 – com Dano	Rep3 – CTC9006 – sem Dano
		Rep4 – CTC9006 – com Dano	Rep4 – CTC9006 – sem Dano
CTC9001	11/08/2020	Rep1 – CTC90001 – com Dano	Rep1 – CTC90001 – sem Dano
		Rep2 – CTC90001 – com Dano	Rep2 – CTC90001 – sem Dano
		Rep3 – CTC90001 – com Dano	Rep3 – CTC90001 – sem Dano
		Rep4 – CTC90001 – com Dano	Rep4 – CTC90001 – sem Dano
RB966928	11/08/2020	Rep1 – RB966928 – com Dano	Rep1 – RB966928 – sem Dano
		Rep2 – RB966928 – com Dano	Rep2 – RB966928 – sem Dano
		Rep3 – RB966928 – com Dano	Rep3 – RB966928 – sem Dano
		Rep4 – RB966928 – com Dano	Rep4 – RB966928 – sem Dano
RB855156	20/10/2020	Rep1 – RB855156 – com Dano	Rep1 – RB855156 – sem Dano
		Rep2 – RB855156 – com Dano	Rep2 – RB855156 – sem Dano
		Rep3 – RB855156 – com Dano	Rep3 – RB855156 – sem Dano
		Rep4 – RB855156 – com Dano	Rep4 – CVG – sem Dano
RB92579	20/10/2020	Rep1 – RB92579 – com Dano	Rep1 – RB92579 – sem Dano
		Rep2 – RB92579 – com Dano	Rep2 – RB92579 – sem Dano
		Rep3 – RB92579 – com Dano	Rep3 – RB92579 – sem Dano
		Rep4 – RB92579 – com Dano	Rep4 – RB92579 – sem Dano
CTC9002	20/10/2020	Rep1 – CTC9002 – com Dano	Rep1 – CTC9002 – sem Dano
		Rep2 – CTC9002 – com Dano	Rep2 – CTC9002 – sem Dano
		Rep3 – CTC9002 – com Dano	Rep3 – CTC9002 – sem Dano
		Rep4 – CTC9002 – com Dano	Rep4 – CTC9002 – sem Dano
RB975201	20/10/2020	Rep1 – RB975201 – com Dano	Rep1 – RB975201 – sem Dano
		Rep2 – RB975201 – com Dano	Rep2 – RB975201 – sem Dano
		Rep3 – RB975201 – com Dano	Rep3 – RB975201 – sem Dano
		Rep4 – RB975201 – com Dano	Rep4 – RB975201 – sem Dano

3.2. Químicos e Reagentes

Acetonitrila (grau gradiente LC) e metanol (grau gradiente LC), adquiridos da Merck; ácido acético glacial (pa) e ácido clorídrico da FM; ácido fórmico da Sigma-Aldrich e diclorometano (pa) da F. Maia. Os padrões das micotoxinas utilizados nas curvas de calibração foram: **AFB1**, **AFB2**, **AFG1** e

AFG2: mistura contendo 1ug/ml para AFB1 e AFG1 e 3ug/mL para AF2 e AFG2. Sigma-Aldrich produto CRM46304. **DON** – 200 ug/mL em acetato de etila:metanol (95:5) – Sigma-Aldrich CRM 46911 – diluído 4x em acetonitrila, portanto com 50 ug/mL. **FB1 e FB2** – 50,1 ug/mL FB1 e 50,0 FB2 em acetonitrila – Biopure. **ZEA** – 50,0 ug/mL em acetonitrila - Sigma-Aldrich CRM 46916. **Toxina T-2** – 100,1 ug/mL em acetonitrila – Biopure. **OTA** – 50,0 ug/mL em Benzeno:Ácido Acético (99:1) – Sigma-Aldrich CRM 46912 – diluído 50x em acetonitrila, portanto com 1,0 ug/mL

Os padrões radiomarcados utilizados nas curvas de calibração e para adição aos *inserts* foram: **AFB1** - Biopure produto 10002818 – 0,506 ug/mL em acetonitrila – U – [13C17]. **DON** – Biopure produto 10000332 – 25,4 ug/mL em acetoneitril – U – [13C15]. **FB1** - Biopure produto 10002806 – 25,4 ug/mL em acetonitrila:água (1:1) – U – [13C34]. **ZEA** - Biopure produto 10002816 – 25,0 ug/mL em acetonitrila – U – [13C18]. **Toxina T-2** - Biopure produto 10000354 – 25,1 ug/mL em ACN – U – [13C24]. **OTA** - Biopure produto 10002812 – 10,1 ug/mL em acetonitrila – U – [13C120].

3.3. Métodos

3.3.1. Coleta e processamento das amostras

O experimento foi administrado seguindo o delineamento inteiramente casualizado. Conforme mencionado no item 3.1, foram obtidas 4 repetições por variedade. Cada repetição consistia em uma amostra composta por 3 colmos, sendo coletados ao total 12 colmos por tratamento brocado e 12 por tratamento controle (sem broca). Para mitigar a possibilidade de contaminação cruzada, as coletas de materiais brocados foram realizadas em dias diferentes dos materiais íntegros. Primeiramente coletou-se apenas os tratamentos controles, e após as amostras terem sido processadas, foram realizadas as coletas e processamento dos tratamentos brocados. Após as coletas no campo, as amostras foram acondicionadas em gelo seco e levadas imediatamente para o laboratório de produção de açúcar, localizado dentro da estação experimental, em Piracicaba/SP, para extração do caldo. Os caldos foram obtidos pelo esmagamento dos colmos na moenda Maqtron, modelo M-730. Antes de iniciar as extrações, foi realizado um procedimento de limpeza dos colmos, através da retirada da fibra externa (casca) com auxílio de um facão. Para os tratamentos brocados, também foram medidos os diâmetros das galerias formadas no colmo pela broca. Importante destacar, que a cada moagem, foi realizada a limpeza e lavagem da moenda antes de ser processada a amostra seguinte. Após as amostras terem sido processadas, foram acondicionados 50 mL do caldo em tubos de polipropileno tipo Falcon, devidamente identificados e acondicionadas sob temperatura de congelamento de – 80°C até o momento da análise.

3.3.2. Extração de micotoxinas

A extração de micotoxinas do caldo foi realizada de acordo com o método preconizado por Abdallah *et al.* (2020) que relatou os níveis de recuperação em caldo para as micotoxinas analisadas segundo a **Tabela 10**. Seguindo o preconizado por esta metodologia a extração de 2 mL de caldo de cana foi realizada com 10 mL do solvente extrator, constituído de acetonitrila/água/ácido acético (79/20/1, v/v/v). Essa mistura foi agitada por 1 hora em um rotador de tubos multifuncional de 360° (Grant Bio, PTR-35) e posteriormente centrifugada a 5.000 rpm por 10 min em uma centrífuga universal 320R (Hettich Universal 320 R, ref. 1406). Em seguida, para maior retenção de impurezas, o sobrenadante da amostra foi passado por filtros de seringa de 0,45 µm (Merck Millex-HV Syringe Filter Unit, 0.45 µm, PVDF, 13 mm,). Para limpeza da amostra e enriquecimento dos analitos, uma etapa de purificação foi realizada usando colunas de fase sólida do tipo OASIS™ HLB 6 cc (200 mg) (Waters). Esta coluna foi condicionada, antes da passagem da amostra, com 10 mL de uma mistura de diclorometano/metanol (80/20, v/v) contendo 50 mM de ácido fórmico seguido de 5 mL de metanol e 20 mL de água acidificada (água com 0,83% de cloreto de hidrogênio) e 10 mL de água ultrapurificada. Em seguida, as colunas foram carregadas com os sobrenadantes filtrados das amostras, lavadas com 10 mL de água ultrapurificada e secas sob vácuo (Bomba de vácuo Biomec, B-740/Q). Após isto os analitos foram eluídos com 4 mL de acetonitrila e 2 mL de metanol. Os extratos foram coletados em tubos do tipo Falcon de 15 mL e evaporados até a completa secura em concentrador de amostras (Marconi, Dry Block, MA 4006) a 40°C. Os resíduos secos foram dissolvidos com 500 µL de solvente de diluição (água tipo cromatográfica acidificada com ácido acético (0,75%) e ácido fórmico (0,2%) e vigorosamente vortexados por 1 min e filtrados com auxílio de filtros de seringa de 0,45 µm (Merck Millex-HV Syringe Filter Unit, 0.45 µm, PVDF, 13 mm,). Os extratos reconstituídos e filtrados foram armazenados em temperatura de congelamento até o momento da injeção no sistema de cromatografia.

Tabela 10. Níveis de Recuperação Aparente (R_A) para as micotoxinas estudadas

Micotoxina	RA (%)
AFB1	84-93
AFB2	94-98
AFG1	90-96
AFG2	98-102
FB1	97-98
FB2	99-105
OTA	87-91
ZEA	97-103
DON	95-99
T-2	84-99

AFB₁ (aflatoxina B1), AFB₂ (aflatoxina B2), AFG₁ (aflatoxina G1), AFG₂ (aflatoxina G2), DON (deoxinivalenol), FB₁ (fumonisina B1), FB₂ (fumonisina B2), FB₃ (Fumonisina B3), OTA (ocratoxina A), T-2 (toxina T-2), ZEA (zearalenona).

Fonte: Abdallah, *et al.* 2020

3.3.3. Análise de micotoxinas

A análise da presença de micotoxinas nos extratos de caldo foi realizada seguindo o método proposto por Abdallah, *et al.* 2020 utilizando a técnica de cromatografia líquida de ultra desempenho (UPLC) e detecção por espectrometria de massas. A cromatografia foi realizada utilizando um sistema de cromatografia Acquity UPLC (Waters, Mildford, Massachusetts, EUA) equipado uma coluna cromatográfica de 100 x 2,2 mm, 1,7 µm Acquity UPLC BEH C18 (Waters, Mildford, Massachusetts, EUA). A coluna foi mantida a 40°C e o volume de injeção foi de 10 µL. A fase móvel constituiu de água acidificada com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila acidificada com 0,1% de ácido fórmico (B). A fase B passou gradativamente de 10 para 90% dentro de 12 minutos e então retornou para condição inicial (fase A) dentro de 0,1 minuto e permaneceu assim por 3 minutos. O fluxo da fase móvel foi de 0,4 mL/min. O sistema de cromatografia foi acoplado a um espectrofotômetro de massas tipo Tandem Xevo TQS (Waters, Mildford, Massachusetts, EUA) equipado com uma fonte de ionização tipo ESI. O espectrômetro de massas foi operado no sistema de monitoramento de múltiplas reações (MMR) no modo positivo. Os parâmetros de aquisição do espectrômetro de massas são apresentados na **Tabela 11**.

Tabela 11. Parâmetros de aquisição de dados do espectrômetro de massas.

Analito	MRM Transição	Dwell Time (s)	Cone Itage (V)	Energia de Colisão (eV)
AFB1	313.08>241.23	0.005	30	37
	313.08>285.39			23
PI AFB1	330.00>300.90	0.005	30	23
AFB2	315.10>259.05	0.005	30	28
	315.10>287.16			25
PI AFB1	332.00>303.10	0.005	30	25
AFG1	329.09>243.10	0.005	25	26
	329.09>283.00			26
PI AFG1	346.00>257.00	0.005	25	26
AFG2	331.05>245.05	0.005	25	30
	331.05>257.04			25
PI AFG2	348.00>330.00	0.005	25	25
OTA	404.20>221.10	0.005	25	30
	404.20>339.10			30
PI OTA	424.00>250.00	0.005	25	25
DON	297.19>231.18	0,037	20	10
	297.19>249.18			10
PI DON	321.10>263.00	0.039	15	10
ZEA	319.20>185.20	0.005	20	19
	319.20>187.20			23
PI ZEA	337.00>199.10	0.005	20	19
FB1	722.78>334.29	0.005	30	40
	722.78>352.22			35
PI FB1	756.10>374.20	0.005	30	40
FB2	706.57>318.22	0.005	30	40
	706.57>336.04			40
PI FB2	740.20>358.20	0.005	30	36
T-2	484.40>185.10	0.005	10	22
	484.40>215.10			22
PI T-2	508.00>198.10	0.005	25	22

AFB₁ (aflatoxina B1), AFB₂ (aflatoxina B2), AFG₁ (aflatoxina G1), AFG₂ (aflatoxina G2), DON (deoxinivalenol), FB₁ (fumonisina B1), FB₂ (fumonisina B2), FB₃ (Fumonisina B3), OTA (ocratoxina A), T-2 (toxina T-2), ZEA (zearalenona), PI (Padrão Interno).

Os extratos descongelados passaram por centrifugação em microcentrifuga (SPIN, LAB, Modelo D1008) durante 10 minutos e 240 uL foram transferidos para frascos de amostras contendo *insert*. Ao *insert* foi adicionado 30 uL de uma solução contendo uma mistura de padrões internos radiomarcados das micotoxinas. Para cromatografia 10 uL da solução contida no *insert* foi injetada no sistema de cromatografia líquida.

A quantificação dos picos cromatográficos das micotoxinas em seus respectivos tempos de retenção foram realizadas por calibração externa utilizando curvas de calibração construídas no

solvente de diluição das amostras e utilizando seis pontos de concentração crescente das micotoxinas e concentração fixa dos respectivos padrões internos. A relação entre a área do pico do padrão com área do padrão interno foi utilizada para correlacionar com as concentrações utilizadas nos pontos da curva de calibração.

O limite de quantificação (LQ) da metodologia para as condições deste estudo foi considerado como a concentração do ponto da curva de calibração que apresentava o menor valor e que produzia área detectável e estável do pico cromatográfico. As concentrações das micotoxinas nos pontos da curva de calibração apresentaram-se nas faixas como apresentado na **Tabela 12**.

Tabela 12. Concentração mínima e máxima utilizada nos pontos das curvas de calibração.

Micotoxina	Faixa de concentração (ng/mL) pontos da curva de calibração	
	Menor concentração	Maior concentração
AFB1	0,2	10
AFB2	0,6	30
AFG1	0,2	10
AFG1	0,6	30
DON	3,5	225
FB1	3,5	225
FB2	3,5	225
ZEA	1,0	250
OTA	0,2	10
T-2	1,0	500

3.3.4. Análise estatística

A análise estatística foi conduzida utilizando o software R (R core team, 2022). Para analisar a variância entre os grupos, foi aplicada a técnica não paramétrica da Análise de Variância (ANOVA) usando o teste de Kruskal-Willis, com um nível de significância de 5%. Do total de 80 repetições avaliadas, somente as 41 que apresentaram contaminação por OTA entre 0,10 a 0,59 ng/mL foram consideradas na análise estatística. Dessas 41 repetições, 24 eram dos tratamentos sem danos e 17 com danos. Assim, as estatísticas foram conduzidas com um foco específico nas amostras contaminadas por OTA, permitindo avaliar possíveis diferenças significativas entre os grupos de repetições com e sem danos.

4. RESULTADOS

4.1. Análise de micotoxinas no caldo

Neste trabalho, das 80 amostras de caldo estudadas, 41 (51%) apresentaram contaminação por OTA, com níveis que variaram de 0,10 a 0,59 ng/mL (**Tabela 13**). Dentre as amostras que apresentaram contaminação, 24 (59%) se tratava de amostras sem danos e 17 (41%) foram amostras com danos.

Devido a não detecção da presença de OTA em todas as amostras estudadas, somente 41 amostras foram consideradas válidas para avaliação estatística, onde a análise de variância indicou que há diferença significativa (p -valor $< 0,05$) entre as plantas sem danos e com danos por broca, conforme pode ser visualizado na **Tabela 14**. Isso indica que a concentração da micotoxina OTA encontrada nas plantas sem danos é estatisticamente diferente da encontrada nas plantas com danos, tendo as plantas sem danos apresentado uma mediana maior de contaminação (0,14). Além disso, o nível médio da concentração de OTA em plantas sem danos foi de 0,16 ng/mL e nas plantas com danos foi de 0,11 ng/mL.

As demais micotoxinas estudadas, não foram detectadas considerando o limite de quantificação das micotoxinas (0,1 Aflatoxina B1; 0,3 Aflatoxina B2; 0,1 Aflatoxina G1; 0,3 Aflatoxina G2; 1,5 fumonisina B1; 1,5 fumonisina B2; 1,5 para DON; 0,4 ZEA e 0,4 ng/mL para T-2).

Tabela 13. Níveis de contaminação por OTA nas amostras de caldo de cana.

Tratamento com Dano	OTA (ng/mL)	Tratamento sem Dano	OTA (ng/mL)
Rep1 – CTC4 – com Dano	0,09	Rep1 – CTC4 – sem Dano	0,14
Rep2 – CTC4 – com Dano	ND	Rep2 – CTC4 – sem Dano	0,19
Rep3 – CTC4 – com Dano	ND	Rep3 – CTC4 – sem Dano	0,15
Rep4 – CTC4 – com Dano	ND	Rep4 – CTC4 – sem Dano	0,13
Rep1 – RB867515 – com Dano	ND	Rep1 – RB867515 – sem Dano	ND
Rep2 – RB867515 – com Dano	0,11	Rep2 – RB867515 – sem Dano	ND
Rep3 – RB867515 – com Dano	0,10	Rep3 – RB867515 – sem Dano	ND
Rep4 – RB867515 – com Dano	ND	Rep4 – RB867515 – sem Dano	0,11
Rep1 – CTC9003 – com Dano	ND	Rep1 – CTC9003 – sem Dano	0,10
Rep2 – CTC9003 – com Dano	0,10	Rep2 – CTC9003 – sem Dano	ND
Rep3 – CTC9003 – com Dano	0,10	Rep3 – CTC9003 – sem Dano	ND
Rep4 – CTC9003 – com Dano	ND	Rep4 – CTC9003 – sem Dano	0,10
Rep1 – CTC9006 – com Dano	ND	Rep1 – CTC9006 – sem Dano	0,22
Rep2 – CTC9006 – com Dano	0,10	Rep2 – CTC9006 – sem Dano	ND
Rep3 – CTC9006 – com Dano	ND	Rep3 – CTC9006 – sem Dano	ND
Rep4 – CTC9006 – com Dano	0,10	Rep4 – CTC9006 – sem Dano	0,59
Rep1 – CTC90001 – com Dano	0,10	Rep1 – CTC90001 – sem Dano	0,14
Rep2 – CTC90001 – com Dano	0,10	Rep2 – CTC90001 – sem Dano	0,16
Rep3 – CTC90001 – com Dano	0,13	Rep3 – CTC90001 – sem Dano	ND
Rep4 – CTC90001 – com Dano	ND	Rep4 – CTC90001 – sem Dano	ND
Rep1 – RB966928 – com Dano	ND	Rep1 – RB966928 – sem Dano	ND
Rep2 – RB966928 – com Dano	0,11	Rep2 – RB966928 – sem Dano	ND
Rep3 – RB966928 – com Dano	0,10	Rep3 – RB966928 – sem Dano	0,14
Rep4 – RB966928 – com Dano	ND	Rep4 – RB966928 – sem Dano	0,15
Rep1 – RB855156 – com Dano	ND	Rep1 – RB855156 – sem Dano	0,12
Rep2 – RB855156 – com Dano	ND	Rep2 – RB855156 – sem Dano	0,14
Rep3 – RB855156 – com Dano	ND	Rep3 – RB855156 – sem Dano	0,13
Rep4 – RB855156 – com Dano	ND	Rep4 – RB855156 – sem Dano	0,10
Rep1 – RB92579 – com Dano	ND	Rep1 – RB92579 – sem Dano	0,34
Rep2 – RB92579 – com Dano	ND	Rep2 – RB92579 – sem Dano	ND
Rep3 – RB92579 – com Dano	ND	Rep3 – RB92579 – sem Dano	ND
Rep4 – RB92579 – com Dano	ND	Rep4 – RB92579 – sem Dano	0,15
Rep1 – CTC9002 – com Dano	0,10	Rep1 – CTC9002 – sem Dano	0,15
Rep2 – CTC9002 – com Dano	0,11	Rep2 – CTC9002 – sem Dano	0,15
Rep3 – CTC9002 – com Dano	ND	Rep3 – CTC9002 – sem Dano	0,12
Rep4 – CTC9002 – com Dano	0,10	Rep4 – CTC9002 – sem Dano	0,10
Rep1 – RB975201 – com Dano	ND	Rep1 – RB975201 – sem Dano	ND
Rep2 – RB975201 – com Dano	ND	Rep2 – RB975201 – sem Dano	ND
Rep3 – RB975201 – com Dano	0,10	Rep3 – RB975201 – sem Dano	0,12
Rep4 – RB975201 – com Dano	ND	Rep4 – RB975201 – sem Dano	ND

ND = Não detectado considerando o limite de quantificação de 0,09 ng/mL; OTA (ocratoxina A)

Tabela 14. Médias da concentração de micotoxinas dos níveis de tratamento sem dano e com dano.

Tratamento	Médias (ng/mL)	Medianas	P-valor
Sem dano	0,16	0,14 ^a	0,0001
Com dano	0,11	0,10 ^b	

P-valor obtido no teste de Kruskal-Willis (nível de probabilidade)

5. DISCUSSÃO

A contaminação por micotoxinas em caldo de cana-de-açúcar não tem sido relatada com frequência na literatura. Alguns poucos trabalhos (Abdallah, *et al.* 2020; Hariprasad *et al.*, 2015; Imanaka *et al.*, 2019) já relataram a possibilidade da contaminação por aflatoxinas e fumonisina B1.

Entretanto, até o momento não é de nosso conhecimento o relato da ocorrência de OTA em caldo de cana ou do açúcar derivado desta. É relatado apenas a investigação da presença de OTA no caldo de cana realizado por Abdallah, *et al.* (2020) no Egito, que estudou a ocorrência de várias micotoxinas no caldo, porém os pesquisadores não reportaram a contaminação por essa micotoxina nas amostras estudadas.

Curiosamente, os achados do nosso trabalho demonstraram que não há correlação direta entre o ataque de *D. saccharalis* com a contaminação da cana por OTA. Nossa hipótese inicial sugeria que canas atacadas por *D. saccharalis* estariam mais suscetíveis a infecção e desenvolvimento de fungos, pois o ataque poderia levar a um acesso mais fácil dos fungos ao interior dos colmos e conseqüentemente haveria maior incidência da contaminação destes em comparação com canas não danificadas pela praga. Contudo, os achados do nosso trabalho demonstraram que há a falta de correlação direta entre o ataque da broca (*D. saccharalis*) e a contaminação da cana por OTA.

A análise de variância indicou que há diferença significativa (p -valor < 0,05) no nível de contaminação entre as plantas sem danos e com danos, entretanto, o nível médio de contaminação por OTA foi maior nas plantas sem danos (0,16 ng/mL) do que nas plantas com danos (0,11 ng/mL). Esse resultado indica que a presença da broca da cana não parece influenciar na concentração de OTA no caldo de cana. Essa constatação pode levar à reflexão sobre os fatores determinantes para a contaminação por OTA na cana-de-açúcar.

A detecção exclusiva de OTA neste estudo e a ausência de detecção de outras micotoxinas no caldo de cana pode ser atribuído a diversos possíveis fatores. Primeiramente, neste trabalho, não houve inoculação artificial de espécies fúngicas reconhecidamente com capacidade de produção de micotoxinas, uma vez que o objetivo foi estudar o efeito da contaminação natural por fungos micotoxigênicos que pudesse existir na área sobre os níveis dos danos causados pela broca da cana-de-açúcar. Diante disso, pode ser que as condições ambientais do local de estudo não tenham sido favoráveis para o desenvolvimento de fungos e/ou a produção das outras micotoxinas. A composição do solo, a umidade, a temperatura e também a microbiota (presença de linhagens micotoxigênicas e competidores) podem não ter sido adequadas para que outras micotoxinas fossem produzidas (Morales-Valle, 2011).

Diante disto, a ocorrência de OTA nas amostras de caldo de cana é um indicativo da presença de fungos ocratoxigênicos no ambiente (planta e/ou solo) de produção da cana. A OTA

pode ser produzida em condições de clima tropical principalmente por espécies do gênero *Aspergillus*. Já foram relatadas na literatura inúmeras espécies de *Aspergillus* que são capazes de produzir OTA, como *A. ochraceus*, *A. carbonarius*, *A. niger* e *A. westerdijkiae*, sendo *A. ochraceus* e *A. carbonarius*, as de maior ocorrência. Essas espécies já foram reportadas em cereais, milho, uvas, frutas secas, cacau, café, figo nozes e amendoim (Cabañes, Bragulat, 2018; Taniwaki, Pitt, Magan, 2018).

Diversas espécies do gênero *Aspergillus* apresentam uma notável capacidade de adaptação em regiões de climas tropicais e são capazes de crescer em uma ampla variedade de condições, mas preferem temperaturas entre 25 e 37°C. Para se estabelecer e prosperar em uma variedade de ambientes, bem como competir por recursos como nutrientes, espaço e luz, as espécies de *Aspergillus* disputam pela predominância da flora fúngica global com as espécies de *Penicillium* e *Fusarium*. Vale destacar que embora as espécies de *Aspergillus* não sejam tão predominantes quanto as espécies de *Penicillium*, elas possuem uma vantagem competitiva devido a sua habilidade de prosperar em temperaturas mais elevadas ou ambientes com menor atividade de água, ou até mesmo em ambos os cenários (Pitt, 2009). O clima de Piracicaba/SP é tropical, com temperatura média anual de 22,3°C. Nos meses de verão, a temperatura média é de 25,3°C (Alvares, Sentelhas, Dias, 2022). Essas condições climáticas são ideais para o crescimento de espécies de *Aspergillus*, produtoras de OTA (PITT, 2009), o que pode explicar os achados deste estudo, que é o primeiro trabalho a relatar a ocorrência de OTA em caldo de cana.

Apesar de não ser relatado a incidência de doenças em canaviais ocasionadas por espécies de *Aspergillus*, já se sabe pela literatura que há a ocorrência de *Aspergillus* spp. em solos agrícolas. A presença de espécies micotoxigênicas pode proporcionar a produção de micotoxina no solo e posterior assimilação e translocação para as plantas (Juraschek, Kappenberg, Amelung, 2022) e/ou pode representar uma fonte de inóculo para estas espécies virem a infectar e colonizar as plantas com uma possível produção das micotoxinas, conforme demonstrado no trabalho de Hariprasad *et al.* (2015) que reportaram que as plantas de cana-de-açúcar podem absorver aflatoxinas de solos contaminados. Os autores concluíram que esse processo ocorre através das raízes e o composto absorvido é transportado para as partes aéreas da planta. Essa absorção pode contribuir para a presença de aflatoxinas na cana-de-açúcar e potencialmente em seus produtos, como o caldo. De igual maneira, é importante ressaltar que essa mesma absorção pode favorecer a contaminação da cana por outras micotoxinas que também possam estar presentes no solo, como a OTA. Assim, a capacidade da cana-de-açúcar de absorver toxinas do solo representa um fator potencial para a ocorrência de diversas micotoxinas em sua composição e por isso carece de estudos mais aprofundados.

Em trabalho realizado em solos de canaviais de ilhas do sul do Japão e Vietnã, foi reportado a presença de 186 isolados do gênero *Aspergillus*. As cepas foram testadas quanto a capacidade de produzir aflatoxinas e em maior parte, se mostraram positivas. Entretanto, no referido trabalho, nenhuma das cepas de *Aspergillus* identificadas foram testadas quanto ao potencial de produção de OTA (Kumeda *et al.*, 2003).

Outro trabalho mais recente, realizado em oito grandes áreas produtoras de cana-de-açúcar do sul do Irã, também identificou isolados de *Aspergillus* produtores de micotoxinas. Dentre as espécies identificadas, as de maior ocorrência foram *A. tubingensis* (48%), *A. terreus* (23%) e *A. welwitschiae* (20%). A produção de micotoxinas foi avaliada para cada espécie com base em seu perfil conhecido. Os dados revelaram que a produção de OTA foi detectada em 4 das 10 cepas de *A. welwitschiae* na faixa de 32 a 142 µg/g, enquanto nenhuma das cepas testadas de *A. tubingensis* e *A. terreus* se mostrou capaz de produzir OTA (NOORABADI *et al.*, 2020).

Em um estudo conduzido por Terra *et. al* (2010) na região nordeste do Brasil, foi reportada a ocorrência de 29 isolados de *Aspergillus* em campos de produção de uvas, e, dentre os isolados, quatro cepas testaram positivo para a produção de OTA (*A. niger* agregado (1); *A. carbonarius* agregado (2) e *A. carbonarius* (1).

Recentemente, foi reportada a ocorrência de isolados de *Aspergillus* seção *Flavi* em amostras de solo coletadas de diferentes áreas canavieiras do estado de São Paulo (Iamanaka *et al.*, 2019). Neste trabalho, os autores também detectaram a presença de aflatoxinas na maioria das amostras testadas, entretanto, não foi avaliado o potencial de produção de outras micotoxinas importantes, como OTA, dos isolados de *Aspergillus*.

A OTA é uma micotoxina preocupante devido ao seu potencial de se acumular no organismo humano. Com a ingestão regular ao longo do tempo, pode ocasionar danos renais, hepáticos e possíveis formações de tumores no trato urinário e testículos (Bittner, Cramer, Humpf, 2013; Rubinstein, Theumer, 2011). Por isso, a presença de OTA mesmo em níveis reduzidos, como os detectados nas amostras de caldo de cana avaliadas neste estudo, com níveis entre 0,10 a 0,59 ng/mL, pode ser considerado um sinal de alerta, pois mesmo quantidades mínimas dessa toxina podem representar riscos à saúde a longo prazo (Rubinstein, Theumer 2011).

É importante ressaltar que os baixos níveis de OTA encontrados no caldo também podem estar relacionados à possibilidade de complexação da OTA com componentes da matriz (caldo). Esse processo de complexação altera a estrutura química da molécula, tornando-a modificada, de forma a impossibilitar sua detecção para maioria dos métodos cromatográficos utilizados. Isso não significa necessariamente que os níveis de OTA tenham sido reduzidos; simplesmente indica que a toxina se ligou a um componente da matriz (alimento) ou se associou a outro composto livre de forma a ficar quimicamente modificada (Rychlik *et al*, 2014). Contudo, a micotoxina associada a uma matriz pode

ser liberada no trato digestivo dos humanos e exercer efeitos tóxicos (Rychlik *et al*, 2014) aumentando a preocupação com a existência de micotoxinas associadas a componentes de um alimento.

Um estudo conduzido por Bittner, Cramer e Humpf (2013) relatou essa complexação entre a OTA e polissacarídeos presentes no café. Esse estudo revelou que durante o processo de torra do café, ocorreu uma esterificação que permitiu a formação de complexos entre a OTA e os compostos da matriz. Da mesma forma, pode ser que esse fenômeno ocorra no açúcar, o que enfatiza a necessidade de uma investigação mais aprofundada nesse sentido.

A complexação da OTA com componentes da matriz pode dificultar a detecção e quantificação precisa da toxina, pois a associação à matriz pode levar a resultados analíticos subestimados (Rychlik *et al*, 2014). Portanto, é fundamental que pesquisas adicionais sejam realizadas para compreender completamente a extensão desse fenômeno no açúcar. O estudo dessas interações é essencial para o desenvolvimento de métodos de análise mais precisos e para garantir a segurança alimentar, especialmente considerando os possíveis riscos à saúde associados à ingestão de OTA em alimentos contaminados. Ao avançar nesse conhecimento, podemos aprimorar as estratégias de controle de qualidade e redução da contaminação por OTA em nossa cadeia alimentar, protegendo assim a saúde pública.

Tanto no Brasil, quanto na União Europeia, os Limites Máximos Toleráveis (LMT) de OTA em matrizes líquidas como suco de uva e vinhos é de até 2 µg/Kg (Brasil, 2011; Regulamento (UE) 2022/1370).

Em geral, um alto consumo diário de alimentos contaminados com OTA pode resultar em exceder os limites de exposição recomendados, pois é preciso considerar a contribuição de todos os alimentos que compõem a dieta de uma população e não somente a quantidade de exposição devida a um tipo específico de alimento (Walker, 2002). A dose máxima tolerada de exposição a OTA pode variar entre 14 e 17 ng por quilograma de peso corporal por dia, dependendo dos critérios adotados pelas diferentes entidades de saúde e segurança alimentar. A *European Food Safety Authority* (EFSA, 2006) estabeleceu de maneira provisória, um LMT de 17 ng de OTA por quilograma de peso corporal por dia, enquanto o *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (JECFA, 2007) considera tolerável um consumo máximo de até 14 ng de OTA por quilograma de peso corporal por dia.

Segundo os dados divulgados pelo Ministério da Saúde em 2022 (Brasil, 2022b), cada brasileiro consome, em média, 80 g de açúcar diariamente, o que é considerado relativamente alto quando comparado ao que é recomendado nas diretrizes da OMS, que sugere um consumo de açúcar que não ultrapasse o equivalente a 25 g por dia (WHO, 2015). Levando em consideração o alto índice de consumo de açúcar pela população brasileira e a possibilidade da presença de OTA em

outros alimentos da dieta dos brasileiros, a possível contribuição da presença de OTA para exposição total dos brasileiros a Ocratoxina A precisa ser melhor investigada.

A estabilidade das micotoxinas a processamentos térmicos é variada, as aflatoxinas podem se manter estáveis a temperaturas de até 100°C e acima disso, seus níveis já são notavelmente reduzidos (Su, 2020), o que pode justificar o fato de não ter sido detectada no açúcar nos relatos já existentes na literatura. Já a OTA é capaz de resistir a temperaturas mais elevadas sem sofrer degradação significativa, uma vez que seu ponto de fusão é relativamente alto, em torno de 169 °C, o que a torna menos sensível ao calor quando comparada a outras micotoxinas (Khoury, Atoui, 2010). Essa termorresistência pode ser um desafio para a indústria, pois significa que os métodos tradicionais de processamento, como cozimento e pasteurização, podem não ser eficazes na redução dos níveis de OTA em alguns alimentos contaminados, o que corrobora para a necessidade de mais estudos para avaliar o comportamento desta micotoxina no açúcar.

Um achado interessante foi reportado por Gu, Ryu e Lee (2021), que estudaram os possíveis efeitos de açúcares na estabilidade da OTA durante o processo térmico. Neste trabalho foi demonstrado que a frutose pode contribuir para redução de OTA, porém não foi possível concluir o mesmo para glicose e sacarose. Esses resultados sugerem que a adição de frutose em processos industriais pode favorecer a redução de OTA em produtos alimentícios. Entretanto, na presença de glicose e sacarose, essa redução não foi significativa, o que sugere que o comportamento de OTA junto a outros carboidratos precisa ser mais bem estudado.

Os baixos níveis de contaminação por OTA no caldo de cana inicial podem não ser um problema em si, mas a concentração durante o processo de produção do açúcar pode levar a uma quantidade mais significativa de OTA. Uma das etapas do processo de produção do açúcar é a evaporação, que consiste na eliminação da água para aumentar a concentração dos sólidos dissolvidos para que se obtenha o açúcar. Essa etapa resulta em um aumento da concentração de todos os componentes presentes no caldo (EMBRAPA, 2021; Lopes, 2011), incluindo as possíveis micotoxinas existentes. Se a OTA presente no caldo não for eliminada ou destruída durante as etapas de processamento, a concentração dessa substância pode ser significativamente aumentada no produto final, o açúcar.

Em resumo, a presença de OTA no caldo de cana é uma preocupação relevante. É fundamental realizar um monitoramento rigoroso dessa micotoxina tanto no caldo quanto em seu principal produto, o açúcar. Compreender o comportamento da OTA e de outras possíveis micotoxinas no açúcar permitirá estabelecer medidas de controle e prevenção eficazes para garantir a segurança alimentar e proteger a saúde dos consumidores.

Nesse contexto, enfatiza-se a importância do monitoramento contínuo e da condução de estudos adicionais para confirmar essas hipóteses. Essas pesquisas são essenciais para contribuir com

uma maior segurança alimentar, assegurando que os produtos derivados da cana-de-açúcar estejam livres ou dentro dos limites seguros de contaminação por micotoxinas. Ao adotar essas medidas e ampliar o conhecimento sobre o tema, será possível garantir um suprimento de alimentos mais seguro de forma a proteger a saúde humana.

6. CONCLUSÃO

Em conclusão, a presença de OTA em caldo de cana é um achado preocupante e merece atenção especial. É relevante enfatizar que este é o primeiro estudo a relatar a ocorrência dessa micotoxina no caldo de cana-de-açúcar. A contaminação por micotoxinas em produtos derivados da cana-de-açúcar ainda é pouco explorada na literatura, e o monitoramento contínuo dessa micotoxina é fundamental para garantir a segurança alimentar e proteger a saúde dos consumidores. A ausência de correlação entre o ataque da broca da cana (*D. saccharalis*) e a contaminação por OTA sugere que outros fatores, como condições climáticas e de cultivo, podem ser determinantes para o desenvolvimento do fungo produtor dessa micotoxina e não necessariamente o ataque da praga em si. Além disso, a complexação da OTA com componentes da matriz pode dificultar a detecção precisa da toxina, tornando necessário o aprimoramento dos métodos de análise.

Diante disso, novos estudos são necessários para compreender melhor a extensão dessa contaminação, bem como para identificar as possíveis fontes e fatores que favorecem o desenvolvimento do fungo produtor de OTA na cana-de-açúcar. A análise de diferentes regiões produtoras e a avaliação das condições climáticas, de cultivo e das práticas agrícolas podem ajudar a elucidar os mecanismos envolvidos na presença dessa micotoxina no caldo. Além disso, é essencial investigar o comportamento da OTA no processamento industrial do açúcar e a eficácia das medidas de controle para reduzir sua contaminação. Ao avançar no conhecimento sobre a ocorrência de OTA em caldo e açúcar, será possível desenvolver estratégias mais efetivas para garantir a segurança alimentar e proteger os consumidores.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, M., F., *et al.* Risk characterization and quantification of mycotoxins and their producing fungi in sugarcane juice: A neglected problem in a widely-consumed traditional beverage. *Food Control*. 2020. v. 108. p. 1-12.
- ABDALLAH, M., F., KRŠKA, R.; SŪLYOK, M. Mycotoxin Contamination in Sugarcane Grass and Juice: First Report on Detection of Multiple Mycotoxins and Exposure Assessment for Aflatoxins B1 and G1 in Humans. *Toxins (Basel)*. 2016. v. 8, n. 343. p. 6-12.
- ABD-EIAAH, G., A.; SAMYA, A., S. Occurrence of Fungal Species and Mycotoxins from Decayed Sugarcane (*Saccharum officinarum*) in Egypt. *Mycobiology*. 2005. v. 33. n. 2. p. 77-83.
- A Cana no Brasil. Museu da Cana. 2022. Disponível em: < <https://www.museudacana.org.br/historiadacana> >. Acesso em 24 jul. 2022.
- AGEITEC – Agência Embrapa de Informações Tecnológicas, Broca da cana-de-açúcar (*Diatraea sacchralis*). Embrapa. SD. Disponível em: < https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_131_272200817517.html >. Acesso em 17 ago. 2020.
- AGUIAR, M., H., S. Zearalenona (ZEA) e seus efeitos na reprodução de bovinos. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Catarina. Curitibanos. p. 158. 2021. p. 40.
- BRUNTON, L., L; CHABNER, B., A.; KNOLLMANN, B., C. As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman. 12ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.
- ALCARDE, A., R. Processamento da cana-de-açúcar. Embrapa. 2022. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/pos-producao/processamento-da-cana-de-acucar> >. Acesso em 02 ago. 2022.
- ALMEIDA, G., M.; FEIJÓ, A., L., R.; KAMINSKI, T., A. Avaliação da contaminação por deoxinivalenol em arroz e farelo de arroz. *Brazilian Journal of Development*. Curitiba. 2020. v. 6. n. 8. p. 63211-63223.

ALVARES, C. A.; SENTELHAS, P. C.; DIAS, H. B. Southeastern Brazil inland tropicalization: Köppen system applied for detecting climate change throughout 100 years of meteorological observed data. *Theor Appl Climatol* 149, 1431–1450 (2022).

ANDRADE, P., D. Micotoxinas em cereais e seus produtos: desenvolvimento de método analítico e avaliação do risco da exposição na dieta. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de Brasília. Brasília. p. 158. 2016.

AGRIOPOULOU, S.; STAMATELOPOULOU, E.; VARZAKAS, T. Advances in analysis and detection of major mycotoxins in foods. *Foods*. 2020. v. 9. n. 518. p. 1-23.

ARRACHÉ, E., R., S. Micotoxinas em insumo e produto cervejeiro: desenvolvimento de método analítico e aplicação de adsorventes alternativos. Tese. (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul. p. 156. 2019.

BAPTISTA, A., S.; HORI, J.; CALORI-DOMINGUES, M., A.; GLÓRIA, E., M.; SALGADO, J., M.; VIZIOLI, M., R. The capacity of manno-oligosaccharides, thermolysed yeast and active yeast to attenuate aflatoxicosis. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 2004. v. 20. p. 475-481.

BARROSO, V., M. Micobiota e ocorrência de fumonisinas em diferentes genótipos de milho transgênico (Bt). Tese (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade de São Paulo. São Paulo. p. 87. 2013.

BBOSA, G., S., *et al.* Review of the Biological and Health Effects of Aflatoxins on Body Organs and Body Systems. (Edi.). **Aflatoxins - Recent Advances and Future Prospects**. London: IntechOpen. 2013. p. 239 - 265.

BECKERS, A., P. Informativo GEA: Broca da cana – *Diatraea saccharalis*. GEA/ESALQ. SD. Disponível em: < <https://www.gea-esalq.com/informativo-gea-broca-da-cana> >. Acesso em 05 ago. 2022.

BIOMIN. Pesquisa Mundial de Micotoxinas: Impacto em 2021. 2021. Disponível em: < <https://www.biomin.net/br/science-hub/pesquisa-mundial-de-micotoxinas-impacto-em-2021/> >. Acesso em: 15 ago. 2022.

BLOUNT, W., P. Turkey “X” Disease. *Journal of British Turkey Federation*. 1961. vol. 9. n. 52. p. 52-61.

BOEIRA, S., P. Caracterização de efeitos tóxicos decorrentes da exposição aguda à Micotoxina zearalenona em camundongos. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Pampa. Itaqui. p. 100. 2012.

BRASIL. Extrato de Parecer Técnico nº 5.483/2017. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio. Diário Oficial da União. Brasília/DF. 2017. n. 121. 27 jun. 2017. Seção I, p. 17.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Açúcar – Comércio Exterior Brasileiro. 2019b. Brasília: MAPA, 2020. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/agroenergia/acucar-comercio-exterior-brasileiro>. Acesso em: 17 ago. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agrofit: sistema de agrotóxicos fitossanitários. 2003. Disponível em: < https://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons >. Acesso em 06 ago. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Etanol - Comércio Exterior Brasileiro. 2019a. Brasília: MAPA, 2020. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/agroenergia/etanol-comercio-exterior-brasileiro>>. Acesso em: 17 ago. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Registro Nacional de Cultivares (RNC). Pesquisa Pública de Cultivares Registradas. Disponível em: < <https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/index.php> >. Acesso em: 06 ago. 2022a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portal da Secretaria de Atenção Primária a Saúde. Conscientização sobre o consumo de açúcar. Brasília. 2022b. Disponível em: < <https://aps.saude.gov.br/noticia/15359> > Acesso em: 29 jul. 2023.

BRASIL. RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Diário Oficial da União. Brasília/DF. 2011. Disponível em: < https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007_18_02_2011_rep.html >. Acesso em: 07 ago. 2022.

BRASIL. RDC nº 138, de 08 de fevereiro de 2017. Altera a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011, que dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, para alterar os LMT da micotoxina deoxinivalenol (DON) em trigo e produtos de trigo prontos para oferta ao consumidor e os prazos para sua aplicação. Diário Oficial da União. Brasília/DF. 2017. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2017/rdc0138_08_02_2017.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2022.

BUENO, E. Brasil: uma história: cinco séculos de um país em construção. Eduardo Bueno. 2ª ed. São Paulo. LeYa. 2020.

BUNZEN, S.; HAESE, D. Controle de micotoxinas na alimentação de aves e suínos. Revista Eletrônica Nutritime. 2006. v. 3. n. 1. p. 304-309.

CABAÑES, F., J.; BRAGULAT, M., R. Black aspergilli and ochratoxin A-producing species in foods. Current Opinion in Food Science. 2018. v. 23. p. 1-10.

CALORI-DOMINGUES, M., A.; ALMEIDA, R., R.; TOMIWAKA, M., M.; GALLO, C., R.; GLORIA, E., M.; DIAS, C., T., S. Ocorrência de desoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2007 Campinas. v. 27. n. 1. p. 181-185.

CELLI, M., G.; COELHO, A., R.; WOSIACKI, G.; GARCIA-CRUZ, C., H. Patulina: incidência e controle em derivados de maçã. Semina: Ciências Agrárias. Londrina. 2009. v. 30. n. 1. p. 135-162.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; ABREU, H., M., C.; ARRUDA, P.; BESPALHOK FILHO, J., C.; BURNQUIST, W., L.; CRESTE, S.; *et al.* (2011). Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): a reference study of regulation of genetically modified cultivars in Brazil. Trop. Plant Biol. 4. p. 62–89.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; KENNEDY, R., D.; OLIVEIRA, W., S.; LIRETTE, R., P.; HJELLE, J., J. A General Safety Assessment for Purified Food Ingredients Derived From Biotechnology Crops: Case Study of Brazilian Sugar and Beverages Produced From Insect-Protected Sugarcane. Frente. Bioeng. Biotecnologia. 2018. 6. p. 2-8.

CHEN, J.; WEN, J.; TANG, Y.; SHI, J.; MU, G.; YAN, R.; CAI, J.; LONG, M. Research Progress on Fumonisin B1 Contamination and Toxicity: A Review. Molecules. 2021. n. 26. v. 5238. p. 2-21.

- COSTA, L., F.; SILVA, E., B.; OLIVEIRA, I., S. Irradicação gama em amendoim para controle de *Aspergillus flavus*. *Scientia Plena*. 2013. v. 9. n. 8. p. 1-12.
- CALDAS, E., D.; SILVA, S., C.; OLIVEIRA, J., N. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde. *Rev. Saúde Pública*. 2002. v. 36. n.3. p. 319-323.
- CANASSA, V., F. Insetos-praga na cultura da cana-de-açúcar. *In: Meire Cristina Andrade Cassimiro da Silva. (Org.). Cana-de-açúcar: manejo, ecologia e biomassa*. 1ed. Bauru/SP: Pessoto. 2021. p. 123-142.
- CASAGRANDE, A., A.; VASCONCELOS, A., C., M. Fisiologia da parte aérea. *In: Leila Luci Dinardo-Miranda; Antônio Carlos Machado de Vasconcellos; Marcos Guimarães de Andrade Landell. (Org.). Cana-de-açúcar*. 1ed. Campinas/SP: Instituto Agrônomo. 2008.v. 1, p. 57-78.
- Censo Varietal IAC na Região Centro-Sul do Brasil – Safra 2021/22. *Revista Canavieiros*. 07/12/2021. Disponível em: < <https://www.revistacanavieiros.com.br/censo-varietal-iac-na-regiao-centro-sul-do-brasil-safra-202122> > Acesso em 31 jan. 2021.
- CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA (CTC). CTC – Centro de Tecnologia Canavieira 50 anos. São Paulo. 2019.
- CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA (CTC). Pragas e Doenças da Cana-de-Açúcar. Disponível em: < <https://ctc.com.br/produtos/wp-content/uploads/2018/07/Caderneta-de-Pragas-e-Doen%C3%A7as-da-Cana-de-a%C3%A7%C3%BAcar-CTC.pdf> >. Acesso em 03 ago. 2022.
- CEPEA – Centro de estudos avançados em economia aplicada – ESALQ/USP. Cana-de-açúcar: melhores investimentos no cultivo otimizam uso da área. Universidade de São Paulo. Departamento de Economia, Administração e Sociologia. 2011. Disponível em: < <https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/revista/pdf/0975837001468869743.pdf> >. Acesso em 10 jul. 2022.
- Cinco séculos de ativa participação histórica. *Revista Visão Agrícola*. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Cana Reportagem 4. Disponível em: < <http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/cana-reportagem04.pdf> >. Acesso em 24 jul. 2022.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. General standard for contaminants and toxins in food and feed: CXS 193-1995, Revised in 1997, 2006, 2008, 2009. p. 66. Disponível em: < https://www.fao.org/fao-whocodexalimentarius/shproxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193e.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2022.

Comissão Europeia (PT). Regulamento da Comunidade Europeia (CE) No 856/2006 de 6 de junho de 2005, que altera o Regulamento (CE) No 466/2001, no que diz respeito às toxinas *Fusarium*. J. Ofi. União Europeia. 2005, 143, p. 3–8.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de cana, v. 5 - Safra 2018/19, n. 4 - Quarto levantamento, Brasília, p. 1-75, abril de 2019.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Boletim da safra de cana-de-açúcar. 4º Levantamento - Safra 2021/22. Produção de cana-de-açúcar e seus subprodutos. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar> >. Acesso em 02 ago. 2022b.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Série Histórica das Safras. Brasília: 2021. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/serie-historica-das-safra> >. Acesso em 20 jul. 2022a.

CORRÊA, P., M. Dicionário de plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. 1, cap. 13, 1926.

COSTA, B.; SIQUEIRA, F.; ZOCH, A., N. Impactos da contaminação de deoxinivalenol (DON) na cultura do trigo – uma revisão. Revista CIATEC - UPF. 2021. v. 13. n. 3. p. 66-76.

COSTA, G. H. G.; et al. Reflexos do processamento de cana-de-açúcar bisada na qualidade do açúcar VHP. Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 32, n. 2, p. 281-288, 2014.

COSTA, M., M.; MELO, M., P.; GUIMARÃES, E., A.; VEIGA, C., M., O.; SANDIN, F., C.; MOREIRA, G., M.; COSTA, S., S.; PFENNING, L., H. Identification and pathogenicity of *Fusarium* species associated with pokkah boeng of sugarcane in Brazil. Plant Pathology. 2019. v. 68. p. 1350-1360.

Denominação de cultivares de cana-de-açúcar como suporte à documentação e utilização do germoplasma conservado / Adriane Leite do Amaral ... [et al.] – Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2015. 31 p. (Documentos / Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1678-1953; 196). Disponível em: < <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br> > Acesso em 26 jul. 2022.

DESJARDINS, A., et al. Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems. 2003. USA. Task Force Reports. n. 139. p. 199.

DORNINGER, C., G.; NOVAK, B.; NAGL, V.; BERTHILLER, F. Emerging Mycotoxins: Beyond Traditionally Determined Food Contaminants. Agric. Food Chem. 2017. v. 65. n. 33. p. 7052-7070.

DINARDO-MIRANDA, L., L. Pragas. In: Leila Luci Dinardo-Miranda; Antônio Carlos Machado de Vasconcellos; Marcos Guimarães de Andrade Landell. (Org.). Cana-de-açúcar. 1ed. Campinas/SP: Instituto Agronômico. 2008. v. 1, p. 349-404.

DESJARDINS, A., E.; HOHN, T., M.; McCORMICK, S., P. Trichothecene biosynthesis in *Fusarium* species: chemistry, genetics, and significance. Microbiological Reviews. 1993. v.57. n.3. p. 595-604.

European Commission. Commission Regulation (EU) No 165/2010 of February 2010 amending regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. Off. J. Eur. Union. 2010, 50, p. 8–12.

European Commission. Commission Regulation (EU) No 165/2013. Recomendação da Comissão de 27 de março de 2013 relativa à presença das toxinas T-2 e HT-2 em cereais e produtos à base de cereais. Jornal Oficial da União Europeia. 2013, 50, p. 12–15.

EFSA (European Food Safety Authority). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to ochratoxin A in food. The EFSA Journal, (356). 2006. p. 1-56.

European Commission. Commission Regulation (EU) No 1881/2006 of 19 December 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. Off. J. Eur. Union. 2006, 364, p. 5.

European Commission. Commission Regulation (EU) No 2022/1310 de 5 de agosto de 2022 que altera o Regulamento (EC) No 1881/2006 no que diz respeito aos teores máximos de ocratoxina A em determinados géneros alimentícios. Off. J. Eur. Union. 2022, 206, p. 11–14.

EMBRAPA. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Árvore do Conhecimento. Fabricação do açúcar. Disponível em: <<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONT000fkcg3t9y02wyiv80sq98yq8ekb08p.html>>. Acesso em 09 mar. 2021.

EMBRAPA. Controle biológico da broca-da-cana-de-açúcar. Pelotas/RS. SD. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/903788/1/brocacana.pdf>>. Acesso em 06 ago. 2022.

ESKOLA, M.; KOS, G.; ELLIOTT, C., T., HAJŠLOVÁ, J.; MAYAR, S.; KRŠKA, R. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited “FAO estimate” of 25%. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019. p. 01-17.

FAO. Agricultural production statistics 2000–2020. FAOSTAT Analytical Brief 41. Rome, 2022. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/cb9180en/cb9180en.pdf>>. Acesso em 19 jul. 2022.

FEDDERN, V.; VIEIRA, O., F. V.; VIEIRA, J., C.; DE LIMA, G., J., M., M. Ocorrência de micotoxinas em milho no Brasil nos anos 2016 e 2017. *In: 6º Simpósio de Segurança Alimentar*. 2018. Gramado. p. 6.

FIGUEIREDO, P. Breve história da cana-de-açúcar e do papel do instituto agrônomo no seu estabelecimento no Brasil. *In: Leila Luci Dinardo-Miranda; Antônio Carlos Machado de Vasconcellos; Marcos Guimarães de Andrade Landell. (Org.). Cana-de-açúcar*. 1ed. Campinas/SP: Instituto Agrônomo. 2008. v. 1, p. 31-44.

FONSECA, H. Ocorrência de aflatoxinas em farelo de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) na região araraquarense do estado de São Paulo. *Anais da E.S.A. “Luiz de Queiroz”*. 1975. v. 32. p. 7-19.

FRANCO, F.P., TÚLER, A.C., GALLAN, D.Z. *et al.* Fungal phytopathogen modulates plant and insect responses to promote its dissemination. *ISME J*. 2021. v. 15, p. 3522-3533.

- FREIRE, F., C., O.; VIEIRA, I., G., P.; GUEDES, M., I., F.; MENDES, F., N., P. Micotoxinas: importância na alimentação e na saúde humana e animal. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 110. 2007. 48 p.
- FREIRE, L.; SANT'ANA, A., S. Modified mycotoxins: An updated review on their formation, detection, occurrence, and toxic effects. *Food and Chemical Toxicology*. 2018. v. 111. p. 189-205.
- FLOCK, C. Clarificação e pré-concentração de caldo de cana através de membranas. Dissertação (Mestre em engenharia de alimentos) – Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 136. 2016.
- GALLAN, D., G. Estudo da interação entre a broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) e fungos oportunistas *Colletotrichum falcatum* e *Fusarium verticillioides*. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP. Piracicaba/SP. 2019.
- GALLO, D. Estudo da broca da cana de açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794). *An. Esc. Super. Agric. Luiz de Queiroz* [online]. 1965, vol.22, p.183-194.
- GELDERBLOM, W., C., A.; JASKIEWICZ, K.; MARASAS, W., F., O.; THIEL, P., G.; HORAK, R., M.; VLEGGAR, R.; KRIEK, P., J. Fumonins – novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *American Society for Microbiology*. 1988. v. 54. n. 7. p. 1806-1811.
- GEREZ, J., R.; DESTO, S., S.; BRACARENSE, A., P., F., R., L. Deoxynivalenol induces toxic effects in the ovaries of pigs: an ex vivo approach. *Theriogenolog*. 2017. v. 90. p. 94-100.
- GOTTSCHALK, C.; BARTHEL, J.; ENGELHARDT, G.; BAUER, J.; MEYER, K. Simultaneous determination of type A, B and D trichothecenes and their occurrence in cereals and cereal products. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2009. v. 26. n. 9. p. 1273–1289.

GUIDUCCI, R., C., N.; SABAINI, P., S.; MOLINARI, H., B., C.; LUCCA, P., C. Impactos econômicos e ambientais (ex-ante) da adoção da cultivar de cana-de-açúcar BRS3280BTRR no contexto de perdas agrícolas e industriais provocadas pela broca da cana (*Diatraea saccharalis*) no Brasil. 59º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural – SOBER. 2021. Brasília. Pesquisa, inovação e extensão rural. Brasília. Disponível em: < <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/228978/1/Impactos-econ770micos-e-ambientais-ex-ante-2021.pdf> > Acesso em 23 jul. 2022.

GALVÃO *et al.* Análise microbiológica do caldo de cana comercializado por vendedores ambulantes no município de Campo Mourão-PR. SaBios: Rev. Saúde e Biol. 2019. v. 14. n. 1. p. 21-26.

GU, K.; RYU, D.; LEE, H., J. A. Ochratoxin A and its reaction products affected by sugars during heat processing. Food Chemistry. 2021. v. 348, n. 30, p. 1–7.

GUTERRES, K., *et al.* Surto de aflatoxicose aguda em cães no município de Pelotas/RS. Pesq. Vet. Bras. 2017. v. 37. n. 11. p. 1281-1286.

GREMMELS, J., F.; MALEKINEJAD, H. Clinical effects and biochemical mechanisms associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. Animal feed Science and Technology. 2007. v. 137. p. 326-341.

HARIPRASAD, P.; VIPIN, A.V.; KARUNA, S.; RAKSHA, R.K.; VENKATESWARAN, G. Natural aflatoxin uptake by sugarcane (*Saccharum officinaurum* L.) and its persistence in jiggery. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2015. v. 22, 6246–6253.

HERMANN, G.; PINTO, F., T.; NOLL, I., B. Fungos e fumonisinas no período pré-colheita do milho. Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas. 2006. v. 26. n. 1. p. 7-10.

HOELTZ, M. Caracterização da contaminação fúngica e por micotoxinas em diferentes fases da cultura do amendoim (*Arachis hypogaeae* L.) produzido no Rio Grande do Sul, Brasil. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto em Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Porto Alegre. p. 122. 2009.

IAMANAKA, B., T.; LOPES, A., S.; MARTINS, L., M.; FRISVAD, J., C.; MEDINA, A.; MAGAN, N.; SARTORI, D.; MASSI, F., P.; FUNGARO, M., H., P.; TANIWAKI, M., H. *Aspergillus* section Flavi diversity and the role of *A. novoparasiticus* in aflatoxin contamination in the sugarcane production chain. *International Journal of Food Microbiology*. 2019. 293. p. 17-23.

IAMANAKA, B., T.; OLIVEIRA, I., S.; TANIWAKI, H., H. Micotoxinas em alimentos. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*. Recife. 2010. vol. 7. p. 138-161.

IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. 1993. France. Lyon. v. 56. p. 599.

IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. 2002. France. Lyon. v. 82. p. 590.

INCA – Instituto Nacional do Câncer. Potencialmente perigosos. Rede Câncer. Disponível em: < https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document/07-capa_0.pdf>. Acesso em 09 ago. 2022.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agropecuária. Ranking - Agricultura - Valor da produção (2020). Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>>. Acesso em 19 jul. 2022.

JANAVICIENE, S.; SUPRONIENE, S.; KADZIENE, G.; PAVLENKO, R.; BERZINA, Z.; BARTKEVICS, V. Toxicogenicity of *F. graminearum* residing on host plants alternative to wheat as influenced by environmental conditions. *Toxins*. 2022. v. 14. n. 541. p. 1-13.

JURASCHEK, L., M.; KAPPENBERG, A.; AMELUNG, W. Mycotoxins in soil and environment. *Science of the Total Environment*. 2022. 814. p. 1-15.

- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Geneva, Switzerland, World Health Organization & Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2007). Evaluation of certain food additives and contaminants: sixty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization. Disponível em: < <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43870> >. Acesso em 04 ago. 2023.
- JOKESHI, H. Doenças da cana-de-açúcar: híbridos de *Saccharum* spp. In: H. kimati, L. Amorim, A. Bergamin Filho. LEA Camargo, JAM Rezende. (Edi.). Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 3ed. São Paulo/SP: Editora Agronômica Ceres. 1997.v. 2, p. 199-214.
- JUAN, C.; RITIENI, A.; MAÑES, J. Occurrence of *Fusarium* mycotoxins in Italian cereal and cereal products from organic farming. Food Chemistry. 2013. v. 141. p. 1747-1755.
- KHOURY, A., E.; ATOUI, A. Ochratoxin A: General Overview and Actual Molecular Status. Toxins. 2010. v. 2. n. 4. p. 461-493.
- KUMEDA, Y.; ASAO, T.; TAKAHASHI, H.; ICHINOE, M. High prevalence of B and G aflatoxin-producing fungi in sugarcane field soil in Japan: heteroduplex panel analysis identifies a new genotype within *Aspergillus* Section *Flavi* and *Aspergillus nomius*. FEMS Microbiology Ecology. 2003. v. 45. p. 229-238.
- LAMIC - Laboratório de Análises Micotoxicológicas. Legislações. Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: < <https://www.lamic.ufsm.br/site/legislacoes/> >. Acesso em 07 ago. 2022.
- LANZA, F., E. *et al.* Prevalence of fumonisin-producing *Fusarium* species in Brazilian corn grains. Crop Protection. 2014. v. 65. p. 232-237.
- LIU, M.; ZHANG, L.; CHU, X., H.; MA, R; WANG, Y., W.; LIU, Q.; ZHANG, N., KARRROW, N., A.; SUN, L., H. Effects of deoxynivalenol on the porcine growth performance and intestinal microbiota and potential remediation by a modified HSCAS binder. Food and Chemical Toxicology. 2020. v. 141. p. 1-8.
- LIU, X.; FAN, L.; YIN, S.; CHEN, H.; HU, H. Molecular mechanisms of fumonisin B1-induced toxicities and its applications in the mechanism-based interventions. Toxicon. 2019. v. 167. p. 1-5.

LIZÁRRAGA-PAULÍN, E., G.; MIRANDA-CASTRO, S., P.; MORENO-MARTÍNEZ, E.; TORRES-PACHECO, I.; LARA-SAGAHÓN, A., V. Novel methods for preventing and controlling aflatoxins in food: a worldwide daily challenge. *In*: Mehdi Razzaghi-Abyaneh. (Edi.). **Aflatoxins - Recent Advances and Future Prospects**. London: IntechOpen. 2013. p. 93-117.

LOPES, C., H. **Tecnologia de Produção de Açúcar de Cana**. São Carlos: EDUFSCar, 2011. p. 183.

MAZIERO, M., T.; BERSOT, L., S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*. Campina Grande. 2010. v. 12, n. 1, p.89-99.

MACEDO, N.; MACEDO, D. As pragas de maior incidência nos canaviais e seus controles. *Visão Agrícola*. Piracicaba/SP. 2004. v. 1, n. 1, p. 38-46.

MASCARENHAS, K. Micotoxinas: vilã dos grãos que pode afetar a saúde humana e animal. Portal UFLA. Lavras. 2018. Disponível em: < <https://ufla.br/noticias/pesquisa/12207-micotoxinas-vila-dos-graos-que-pode-afetar-a-saude-humana-e-animal> >. Acesso em 07 ago. 2022.

MATSUOKA, S. Identificação de doenças da cana-de-açúcar e medidas de controle. Borem Santos (Edi.). *Cana-de-açúcar: do plantio a colheita*. 1ed. Viçosa. UFV – Universidade Federal de Viçosa. 2013, p. 89-115.

MATTÉ, F. Zeralenona e seus efeitos estrogênicos: por que e como controlar?. *O presente Rural*. 2017. Disponível em: < <https://opresenterural.com.br/zeralenona-e-seus-efeitos-estrogenicos-por-que-e-como-controlar/> >. Acesso em 14 ago. 2022.

MAZIERO, M., T.; BERSOT, L., S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*. 2010. Campina Grande. v.12. n.1. p.89-99.

Micotoxinas nas lavouras (culturas, pt): um perigo à saúde humana e de animais domésticos. *Advancing the Science of Plant Pathology (APS)*. c2022. Disponível em: < <https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/topc/Micotoxinas/Pages/FumonisinPort.aspx> >. Acesso em 11 ago. 2022.

- MISTURA, M.; LINDINO, C., A. Incidência de micotoxinas em milho nos estados do Paraná, Mato Grosso e Mato Grosso Do Sul entre 2015 e 2018. *Brazilian Journal of Development*. Curitiba. 2020. v. 6. n. 10. p. 76671-76688
- MORAIS, L., M; et al. Melhoramento genético de cana-de-açúcar. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2015. p. 38. Disponível em: <<https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em 19 jul. 2022.
- MÜLLER, F., E.; SILVA, S., J., N.; PILGER, M., L.; BENDER, R., J. Determinação de ocratoxina A em sucos de uva integrais In: 58º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, Nº 1072, 2018, São Luís/MA. Associação Brasileira de Química: FEPROQUIM, 2018.
- NEVES, M., F.; MARQUES, V., N.; CAMBAÚVA, V. Safra 2021/22 termina com moagem 14% menor: reflexões dos fatos e números do agro em março/abril e o que acompanhar em maio. *Revista Canavieiros*. 2022. Sertãozinho/SP. n. 187.
- NOORABADI, M., T.; BABAEIZAD, V.; ZARE, R.; *et al.* Isolation, Molecular Identification, and Mycotoxin Production of *Aspergillus* Species Isolated from the Rhizosphere of Sugarcane in the South of Iran. *Toxins*. 2020. v. 12, n. 122. p. 1-15.
- NUNES, T., S.; FINZER, J., R., D. A importância do tratamento do caldo de cana-de-açúcar para a produção de açúcar e etanol. *Braz. J. of Develop.* 2019. Curitiba. v. 5, n. 11, p.24816-24823
- OLINDA, R., G., *et al.* Aflatoxicose aguda em suínos no Nordeste do Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2016. v. 44. n. 124. p. 1-6.
- OLIVEIRA, D., H.; YAMAGUCHI, M., M.; TONIAL, I., B.; COELHO, A., R. Ocorrência de fumonisinas em milho e derivados, destinados à alimentação humana. *Brazilian Journal of Development*. Curitiba. 2020. v. 6. n. 5. p. 31305-31321.
- OLIVEIRA *et al.* Análise das condições do comércio de caldo de cana em vias públicas de municípios paulistas. *Segurança Alimentar e Nutricional*. 2006. v. 13, n. 2, p. 06-18.
- OLIVEIRA, A., Q.; SOARES, L., M., V. Avaliação de métodos para determinação de tricotecenos em milho por cromatografia gasosa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. 2001. v. 60, n. 2, p. 129-134.

- ORSI, R., B.; CORRÊA, B.; POSSI, C., R.; SCHAMMASS, E., A.; NOGUEIRA, J., R.; DIAS, S., M., C.; MALOZZI, M., A., B. Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvested and stored hybrid maize. *Journal of Stored Products Research*. 2000. v. 36. p. 75-87.
- PÁDUA, R., A., F.; MACHINSKI JUNIOR, M. Aspectos toxicológicos e ocorrência de patulina em suco de maçã. *Semina: Ciências Agrárias*. Londrina. 2005. v. 26. n. 4. p. 535-542.
- PEREIRA, K., C.; SANTOS, C., F. Micotoxinas e seu potencial carcinogênico. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*. Brasília. 2011. v. 15. n. 4. p. 147-165.
- PERINCHERRY, L.; LALAK-KANCZUGOWSKA, J.; STEPIEN, L. Fusarium-Produced Mycotoxins in Plant-Pathogen Interactions. *Toxins*. 2019. v. 11, n. 664. p. 1-22.
- PICKOVA, D.; OSTRY, V; TOMAN, J.; MALIR, F. Aflatoxins: History, Significant Milestones, Recent Data on Their Toxicity and Ways to Mitigation. *Toxins*. 2021. v. 13. n. 399. p. 1-23.
- PIEREZAN, F. Aflatoxicosis in cattle. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria. p. 61. 2013.
- PINTO, A., C., S., M.; PIERRI, C., R.; EVANGELISTA, A., G.; GOMES, A., S., L., P., B.; LUCIANO, F., B. Deoxynivalenol: toxicology, degradation by bacteria, and phylogenetic analysis. *Toxins*. 2022. v. 14. n. 90. p. 1-19.
- PITT, J.I. *Aspergillus* and Related Teleomorphs. In: PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and Food Spoilage**. 3ª Ed. Boston, MA: Springer, 2009, p.275–337.
- POZZI, C., R.; ARCARO, J., R., P.; ARCARO JUNIOR, I.; FAGUNDES, H.; CORRÊA, B. Aspectos relacionados à ocorrência e mecanismo de ação das fumonisinas. *Ciência Rural*. Santa Maria. 2002. v.32. n.5. p.901-907.
- PRADO, S., P., T.; BERGAMINI, A., M., M.; RIBEIRO, E., G., A.; CASTRO, M., C., S.; OLIVEIRA, M., A. Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana in natura comercializado por ambulantes. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. 2010. v. 69, n. 1, p. 55–61.

Puccinia melanocephala (sugarcane common rust). CABI: Invasive Species Compendium. 2021.

Disponível em: < <https://www.cabi.org/isc/datasheet/45827> >. Acesso em 18 set. 2022.

RAMADAN, N., A.; AL-AMERI, H. Aflatoxins. *In*: Lukman Bola Abdulra'uf (Edit.). **Aflatoxins: occurrence, detoxification, determination and health risks**. London. Intechopen. 2022. v. 1, p. 1-40.

R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: < <https://www.R-project.org/>>. Acesso em 01 ago. 2023.

ROCHA, L., O. Distribuição de fungos e micotoxinas em grão de milho recém-colhidos e variabilidade genética das cepas de *Fusarium verticillioides* e *Aspergillus flavus* isoladas. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade de São Paulo. São Paulo. p. 174. 2010.

ROCHA, O.; ANSARI, K.; DOOHAN, F., M. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review. *Food Additives & Contaminants*. 2005. v. 22. n. 4. p-369-378.

RODRIGUES *et al.* Pesquisa de matérias estranhas e avaliação físico-química de caldo-de-cana comercializado na região de Sete Lagoas – MG. Minas Gerais. *Cad. Ciênc. Agrá.* 2019. v. 11, p. 01-07.

RODRIGUES, G. S. S. C.; ROSS, J. L. S. A trajetória de cana-de-açúcar no Brasil: Perspectivas geográfica, histórica e ambiental. Ucrânia, EDUFU, 2020.

ROSA JUNIOR, O., F. Avaliação de fumonisinas produzidas por *Fusarium verticillioides* em genótipos de milho cultivados em diferentes ambientes. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Tocantins. Gurupi. p. 91. 2018.

ROZE, L., V.; HONG, S.; LINZ, J., E. Aflatoxin biosynthesis: current frontiers. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2013. v. 4. p. 293-311.

RUBINSTEIN, H., R.; THEUMER, M., G. Principales micotoxinas. *In*: Leila Antonio J. Ramos Girona. (Edi.). **Micotoxinas y Micotoxicosis**. 1ed. España: A. Madrid Vicente Ediciones. 2011. p. 45-72.

- RYCHLIK, M.; HUMPF, HANS-ULRICH; MARKO, D.; *et al.* Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including “masked” mycotoxins. German. *Mycotoxin Res.* 2014. v. 30, p. 197-205.
- SANTIAGO, A., D.; ROSSETO, R. Doenças fúngicas. EMBRAPA. 2021. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/manejo/fitossanidade/doencas/doencas-fungicas> >. Acesso em 18 set. 2022.
- SANTINI, A.; RITIENI, A. Aflatoxins: risk, exposure and remediation. *In: Mehdi Razzaghi-Abyaneh. (Edi.). Aflatoxins - Recent Advances and Future Prospects.* London: IntechOpen. 2013. p. 343-376.
- SANTOS, A., S. Doenças causadas por fungos. *In: Leila Luci Dinardo-Miranda; Antônio Carlos Machado de Vasconcellos; Marcos Guimarães de Andrade Landell. (Org.). Cana-de-açúcar. 1ed.* Campinas/SP: Instituto Agrônômico. 2008. v. 1, p. 323-436.
- SANTOS, E., A. Avaliação da degradação de ocratoxina A em café durante a torrefação. Dissertação. (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. p. 72. 2004.
- SANTOS, M., C.; SOUSA, R., B.; OLIVEIRA, S., E., M.; LIMA, K., S., C.; LIMA, A., L., S. Micotoxinas e seu Potencial como Agentes de Guerra. *Ver. Virtual Quim.* 2004. v. 6. n. 3. p. 761-778.
- SCARPARI, M., S.; BEAUCLAIR, E., G., F. Anatomia e botânica. Em: Leila Luci Dinardo-Miranda; Antônio Carlos Machado de Vasconcellos; Marcos Guimarães de Andrade Landell. (Org.). *Cana-de-açúcar. 1ed.* Campinas/SP: Instituto Agrônômico. 2008. v. 1, p. 47-56.
- SERRA, R., M., A. Micoflora das uvas portuguesas e seu potencial para a contaminação das uvas com micotoxinas, com destaque para a ocratoxina A - Capítulo 1: Micotoxicologia. Tese (Doutoramento em Engenharia Química e Biológica) - Universidade do Minho. Braga. p. 399. 2005.

- SILVA, D., A.; MARTINS, L., T., S.; SOARES, L., S. Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado por ambulantes e estabelecimentos formais em Salvador, BA. Salvador/BA. Higiene Alimentar. 2018. vol. 32, nº 276/277. p. 80-84.
- SILVA, F., C.; CHALFOUN, S., M.; BATISTA, L., R.; SANTOS, C.; LIMA, N. Taxonomia polifásica para identificação de *Aspergillus* seção *Flavi*: uma revisão. Revista Ifes Ciência. 2015. n. 1. v.1. p. 18-40.
- SILVA, L., C., D. Bioprospecção de isolados de leveduras e bactérias, provenientes da secreção oral de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) coletada em campo, antagônicos a *Fusarium verticillioides* (Nirenberg, 1976) e *Colletotrichum falcatum* (Went, 1893). Dissertação (Mestre em produção vegetal e bioprocessos associados) – Universidade Federal de São Carlos. Araras, p. 46. 2016.
- SU, Qun-Ying. The Toxification and Detoxification Mechanisms of Aflatoxin B1 in Human: An Update. In: LONG, Xi-Dai (Ed.) **Aflatoxin B1 Occurrence, Detection and Toxicological Effects**. Vol. 14. London: IntechOpen. 2020. p. 191-207.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I., M.; MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento Vegetal. 6ª ed. Porto Alegre. Artmed. 2016.
- TANIWAKI, M., H.; IAMANAKA, B., T.; VICENTINI, M., C. Fungos produtores de ocratoxina e ocratoxina A em cafés brasileiros. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Resumos expandidos v1. 2000. Poços de Caldas, MG. p. 720-722.
- TANIWAKI, M., H.; PITT, J., I.; MAGAN, N. *Aspergillus* species and mycotoxins: occurrence and importance in major food commodities. Current Opinion in Food Science. 2018. v. 23. p. 38-43.
- TERRA, M. F.; OTERO, T. H.; BATISTA, L. R.; PRADO, G.; PEREIRA, G. E. *Aspergillus* ocratoxigênicos em uvas e no solo de cultivo da variedade Sauvignon Blanc no Nordeste brasileiro. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 19., 2010, Lavras. Resumos de comunicações livres. [S.l.]: SBPC, 2010.
- The American Phytopathological Society (APS). Micotoxinas nas Lavouras (Culturas, pt): Um Perigo à Saúde Humana e de Animais Domésticos: Zearalenona. c2022. Disponível em: <<https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/topc/Micotoxinas/Pages/ZearalenonePort.aspx>>. Acesso em 13 set. 2022.

THOMAS, A., L. Desenvolvimento da planta de cana-de-açúcar. In: _____. (org). Desenvolvimento das plantas de batata, mandioca, fumo e cana-de-açúcar [recurso eletrônico]. Porto Alegre: UFRGS, 2016. p. 55-75. Disponível em: <
<https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/143809/000998097.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em 27 jul 2022.

UNICA. Açúcar. Brasil: O maior produtor mundial de açúcar. Disponível em: <
<https://unica.com.br/setor-sucroenergetico/acucar/>>. Acesso em 09 jul. 2022a.

UNICA. Anuário da safra de cana-de-açúcar – Região Centro Sul: Histórico do acompanhamento da safra de cana-de-açúcar – Região Centro Sul. Disponível em: <
<https://observatoriodacana.com.br/listagem.php?idMn=148>>. Acesso em 08 ago. 2022b.

MORALES-VALLE, H. Mohos produtores de micotoxinas. In: Leila Antonio J. Ramos Girona. (Edi.). **Micotoxinas y Micotoxicosis**. 1ed. España: A. Madrid Vicente Ediciones. 2011. p. 19-44.

VAN DER MERWE, K., J.; STEYN, P., S.; FOURIE L.; SCOTT D., B.; THERON J. J. Ochratoxin A, a Toxic Metabolite Produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. Nature. 1965. v. 205 n. 976. p. 1112–1113.

VERTUAN, H., V.; SALVADORI, J., R.; OLIVEIRA, W., S.; BERGER, G., U. Eficácia de tecnologias de milho Bt no manejo de lepidópteros-pragas. Revista Brasileira de Milho e Sorgo. 2017. v. 16. n. p. 22-29.

VISHWAKARMA, S., K.; KUMAR, P.; NIGAM, A.; SINGH, A.; KUMAR, A. Pokkah Boeng: An Emerging Disease of Sugarcane. J Plant Pathol Microb. 2013. v. 4. n. 3. p. 1-5.

USDA. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. Disponível em: <
<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery>>. Acesso em: 09 mar. 2021.

WALKER, R. Risk assessment of ochratoxin: current views of the European Scientific Committee on Food, the JECFA and the codex Committee on Food Additives and Contaminants. Mycotoxins and Food Safety, edited by Trucksess et al. Kluwer Academic Plenum Publishers. 2002. P. 249-255.

World Health Organization (WHO). Basic Food Safety for Health Workers, 1999. Disponível em: <
<http://www.who.int/foodsafety/publications/health-workers/en/>>. Acesso em 10 mar. 2021.

World Health Organization (WHO). Guideline: Sugars intake for adults and children. Geneva. 2015.
Disponível em: < <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549028> >. Acesso em 29 jul.
2023.

ZINEDINE, A.; SORIANO, J., M.; MOLTÓ, J., C.; MAÑES, J. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin. Food and Chemical Toxicology. 2007. v. 45. p. 1-18.

ZUCCOLOTTO, T. Fungos e micotoxinas em alimentos e bebidas. Curitiba: Contentus, 2020. p. 118.