

Análise de Risco de Patulina em Maçã e Derivado





ISSN 0103-6068 80

Dezembro, 2007

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos80

Análise de Risco de Patulina em Maçã e Derivados

Simone Gomes Vaz
Erika Néri
Otniel Freitas-Silva

Rio de Janeiro, RJ
2007

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba

CEP: 23020-470 - Rio de Janeiro - RJ

Telefone: (21) 2410-9500

Fax: (21) 2410-1090

Home Page: www.ctaa.embrapa.br

E-mail: sac@ctaa.embrapa.br

Comitê Local de Publicações e Editoração da Unidade

Presidente: Virgínia Martins da Matta

Membros: Marcos José de Oliveira Fonseca, Marília Penteado Stephan, Renata Torrezan, Ronol Luiz de Oliveira Godoy, Soraya Pereira da Silva, André Luis do Nascimento Gomes.

Secretárias: Renata Maria Avilla Paldês e Celia Gonçalves Fernandes

Revisor de texto: Comitê de Publicações

Normalização bibliográfica: Luciana Sampaio de Araújo

Ilustração da capa: André Guimarães de Souza

Tratamento das fotos e ilustrações: André Guimarães de Souza

Editoração eletrônica: André Guimarães de Souza

1ª edição

1ª impressão (2007): 200 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Procedimento operacional padrão para determinação de fibras solúvel e insolúvel / Sidinéa Cordeiro de Freitas... [et al.]. - Rio de Janeiro : Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2007.

48p.; 21cm. - (Documentos / Embrapa Agroindústria de Alimentos, ISSN 0103-6068 ; 80).

1. Fibra na nutrição humana. I. Freitas, Sidinéa Cordeiro de. II. Silva, Tania dos Santos. III. Carvalho, Patrícia Gonçalves Baptista de. IV. Tupinambá, Daiva Domenech. V. Koakuzu, Selma Nakamoto. VI. Carvalho, Ana Vânia. VII. Moura, Carlos Farley Herbster. VIII. Série.

CDD 613.2 (21. ed.)

© Embrapa, 2007

Autores

Simone Gomes Vaz

Nutricionista.

MBA em Qualidade e Segurança dos Alimentos.

Bolsista CNPq - Embrapa Agroindústria de Alimentos.

Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470,

Rio de Janeiro, RJ, Fone (0xx21) 2410-9645.

E-mail: sigvaz78@yahoo.com.br

Erika Neri

Nutricionista.

MBA em Qualidade e Segurança dos Alimentos.

E-mail: erika.nut@hotmail.com

Otniel Freitas-Silva

Eng. Agrônomo, M.Sc., Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro, RJ, Fone (0xx21) 2410-9585.

E-mail: ofreitas@ctaa.embrapa.br

Apresentação

As micotoxinas são contaminantes naturais produzidas por certas espécies de fungos, e por isso, torna-se difícil assegurar sua total eliminação dos alimentos, representando um risco à saúde pública. Estudos sobre a toxicidade da patulina, micotoxina encontrada principalmente na maçã e seus derivados, têm demonstrado que este composto apresenta atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica em animais de laboratório. Segundo o FDA (Food and Drug Administration), os efeitos verificados nestes animais podem ser semelhantes ao homem. A importância do estudo da patulina em maçã é justificado pelo fato desta fruta ser amplamente apreciada e comercializada mundialmente nas formas in natura, suco industrializado, como ingrediente incorporado em muitos produtos alimentícios, incluindo diversos alimentos destinados à alimentação infantil. Esta publicação realiza uma avaliação de risco de patulina, a fim de estimar o grau de exposição do consumidor à esta micotoxina, a partir da análise da média de consumo diário aceitável, bem como os possíveis efeitos ocasionados por sua ingestão.

Amauri Rosenthal

Chefe Geral da Embrapa Agroindústria de Alimentos

Sumário

Introdução	09
Análise de Risco	11
Avaliação de Risco	12
Manejo ou Gerenciamento do Risco	13
Comunicação do Risco	13
Fungos em Alimentos	13
Fatores que influenciam o crescimento dos fungos em alimentos	13
Fatores Intrínsecos	13
Atividade de Água (aw)	13
Acidez (valores de pH)	15
Consistência do alimento	16
Características nutricionais	17
Fatores Extrínsecos	17
Efeitos de solutos específicos	17
Temperatura	17
Disponibilidade de Oxigênio	17
Presença de conservantes	18
Micotoxinas	18
Produção de Micotoxinas	20

Patulina	21
Principais Fungos Produtores de Patulina	22
<i>Byssochlamys fulva</i> e <i>Byssochlamys nivea</i>	22
<i>Aspergillus clavatus</i> e <i>Aspergillus terreus</i>	23
<i>Penicillium expansum</i> e <i>Penicillium griseofulvum</i>	24
<i>Paecilomyces variotti</i>	25
Ocorrência de Patulina	26
Maçã	27
Análise de Risco de Patulina em Maçã e Derivados	31
Identificação do Perigo	31
Caracterização do perigo	34
<i>Legislação</i>	35
Avaliação da Exposição	36
Avaliação do Risco	39
Manejo ou Gerenciamento do Risco	40
Comunicação do Risco	43
Conclusão	43
Referências Bibliográficas	44

Análise de Risco de Patulina em Maça e Derivados

Simone Gomes Vaz

Erika Néri

Otniel Freitas-Silva

Introdução

Atualmente há uma grande preocupação, em caráter mundial, sobre segurança alimentar, a qual adquiriu maior importância na era da globalização com a queda das barreiras alfandegárias entre os países. Isto permitiu, juntamente com o livre comércio, a disseminação e controle de doenças transmitidas pelo consumo de alimentos contaminados, quer por resíduos de pesticidas, zoonoses, parasitas ou por micotoxinas.

Durante décadas, o termo segurança alimentar esteve relacionado ao protecionismo praticado por alguns países como estratégia de promover e exceder sua produção agrícola, tornando-se auto-suficientes e, ao mesmo tempo, exportadores de alimentos. Porém, com o surgimento de crises alimentares, principalmente na década de 90, ocasionadas pela Encefalopatia Espongiforme Bovina (conhecida como doença da vaca louca) e pela contaminação da ração de frangos, na Bélgica, por dioxinas, compostos aromáticos clorados de alta periculosidade e toxidez e, mais recentemente, pela gripe aviária (SILVA; AMARAL, 2004), a segurança alimentar passou a figurar em um novo contexto no qual o termo alimento seguro passa a receber maior atenção no comércio mundial. A partir daí, segurança alimentar (*food security*) passou a ser definida como o acesso regular a uma quantidade de alimentos suficientes e necessários para uma dieta saudável, enquanto alimento seguro (*food safety*) está relacionado à garantia do consumo de alimentos isentos de contaminantes de natureza química, biológica, física ou de outras substâncias que podem colocar em risco a saúde (UNNEVEHR, 2007).

Alimento seguro está diretamente inserido na realidade da segurança alimentar, uma vez que constitui a chave para melhorar a saúde e a nutrição humana. A Organização Mundial da Saúde estima que, dos casos de diarreia ocorridos anualmente no mundo, 70% sejam causados por alimentos biologicamente contaminados. Estes alimentos foram declarados pela FAO/WHO, em 1983, como os maiores causadores de doenças no mundo contemporâneo, freqüentemente, relacionadas à presença de parasitas, vírus e bactérias (KÄFERSTEIN, 2007).

Outro tipo de contaminação biológica que tem despertado a atenção e preocupação dos órgãos internacionais de saúde é a ocorrência de micotoxinas devido sua alta incidência nos produtos agrícolas, representando um risco à saúde de homens e animais. As micotoxinas são contaminantes naturais produzidos por espécies de fungos, cujo crescimento é influenciado por fatores ambientais como umidade, temperatura, práticas agrícolas, susceptibilidade do produto durante a pré-colheita, pós-colheita e armazenamento (RICHARD; PAYNE; DESJARDINS, 2003).

A presença de micotoxinas, assim como, de outros contaminantes alimentares, representa perdas econômicas e custos na saúde humana. As consequências de contaminação de alimentos e produtos agrícolas são devastadoras para a economia local, com perda de credibilidade e, conseqüentemente, de mercado, refletindo na queda dos preços dos produtos de qualidade inferior (SILVA; AMARAL, 2004). Os efeitos para a saúde incluem custos de mortalidade, com redução da capacidade produtiva (morte prematura) e custos de morbidade em função da hospitalização e serviços de saúde (BHAT; VASANTHI, 2007).

A contaminação dos alimentos por fungos micotoxigênicos é de ocorrência natural e a estratégia de redução dos níveis de exposição adotada por muitos países, sem que seja preciso excluir os alimentos da dieta, tem sido o estabelecimento de limites de ingestão. O FDA compara os benefícios da disponibilidade dos alimentos contra os riscos que um contaminante pode representar para a saúde pública (RICHARD; PAYNE; DESJARDINS, 2003). Esses riscos são descritos e estimados através de um processo, organizado e de forma metodológica, de Análise de Risco, levando-se em consideração a possibilidade da ocorrência de um efeito adverso à saúde, a partir da exposição ao contaminante (ROVISCO, 2007).

As micotoxinas representam um risco por exercerem efeitos deletérios à saúde dependendo dos níveis e tempo de exposição. Entre elas, as mais preocupantes devido ao grau de toxidez, encontram-se as aflatoxinas, deoxynivalenol (DON), fumonisinas, ocratoxinas e alcalóides do ergot

(BHAT; VASANTHI, 2007). No entanto, estudos experimentais indicam que a patulina, micotoxina de maior incidência em frutas principalmente maçãs (PÁDUA; MACHINSKI JUNIOR, 2005), apresenta efeitos carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos (MACHINSKI JUNIOR; MIDIO, 1996). Desta forma, em razão de um grande número de pessoas que consomem maçãs, e produtos a base desta fruta, poderem estar expostas à intoxicação por patulina, e considerando as crianças como potenciais consumidores destes produtos, tornam-se necessários estudos e esforços para controlar os níveis desta micotoxina nos alimentos, para que não se torne um grave problema de saúde pública.

Sendo assim, o presente trabalho objetivou realizar a Análise de Risco sobre a incidência da micotoxina patulina em sucos e produtos derivados de maçãs, consumidos por diversas populações, avaliando a qualidade destes produtos, o grau de exposição do consumidor à esta micotoxina e possíveis efeitos ocasionados por sua ingestão.

Análise de Risco

Em nosso meio há uma gama infinita de contaminantes químicos, cujas natureza e origem variam entre eles. Neste contexto, a saúde e a segurança humana tornam-se alvos de constante preocupação, uma vez que estão expostas aos riscos decorrentes de uma contaminação (geralmente desconhecida) e de seus efeitos adversos em longo prazo, comprometendo, até mesmo, a economia da região atingida. De acordo com a Resolução N° 59/99 MERCOSUL/GMC, e baseado na definição do Codex Alimentarius, "risco é a função da probabilidade de um efeito nocivo para a saúde e da gravidade deste efeito, como consequência de um perigo ou perigos nos alimentos" (MERCOSUL, 1999; JOINT FAO/WHO EXPERT CONSULTATION ON THE APPLICATION OF RISK ANALYSIS TO FOOD STANDARDS ISSUES, 1995). Estabelecida esta relação, admite-se que perigo seja qualquer fator ou agente capaz de causar danos à saúde humana quando presente no alimento podendo ser de origem biológica, química e física (MERCOSUL, 1999). Desta forma, conclui-se que risco é igual ao perigo versus sua probabilidade de ocorrência. Portanto, a maneira pela qual se pode interferir na ocorrência de uma contaminação está no controle do agente causador do perigo. Para isso, é fundamental o conhecimento das variáveis inerentes ao surgimento do contaminante, ou seja, a combinação de ambiente, fungo e metabólitos produzidos.

A Análise do Risco é um procedimento que investiga os riscos de possíveis efeitos adversos ocasionados pelos alimentos à população, propõe o

gerenciamento desses riscos através de políticas normativas e de controle e faz circular informação entre os setores envolvidos (MERCOSUL, 1999). Este processo consiste de três componentes:

- Avaliação do Risco
- Manejo ou Gerenciamento do Risco
- Comunicação do Risco

Avaliação de Risco

A Avaliação de Risco tem por objetivo principal a identificação do potencial dos efeitos adversos à saúde humana, decorrentes de sua exposição a um determinado perigo, e da quantificação deste perigo, através de conhecimentos científicos, utilizando os princípios de toxicologia, o conhecimento das propriedades físico-químicas e do comportamento ambiental dos contaminantes, bem como das variáveis de exposição configuradas na área contaminada (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2004; JOINT FAO/WHO EXPERT CONSULTATION ON THE APPLICATION OF RISK ANALYSIS TO FOOD STANDARDS ISSUES, 1995).

Para a realização de uma avaliação de risco são necessárias informações, a respeito do mesmo, coletadas através de uma investigação detalhada, a qual que consiste em quatro componentes (FAO/WHO, 2003; JOINT FAO/WHO EXPERT CONSULTATION ON THE APPLICATION OF RISK ANALYSIS TO FOOD STANDARDS ISSUES, 1995; MERCOSUL, 1999):

- Identificação do perigo - processo predominantemente qualitativo que objetiva a identificação da natureza do perigo que pode ser um agente físico, químico ou biológico capaz de produzir efeitos nocivos à saúde.
- Caracterização do perigo - onde a natureza dos efeitos adversos à saúde é avaliada qualitativa e/ou quantitativamente, sendo associada ao agente físico, químico ou biológico que pode estar presente no alimento.
- Avaliação da exposição - processo de avaliação qualitativa e/ou quantitativa da toxicidade, relacionando-se a dose do contaminante que foi recebida com a incidência de efeitos adversos à saúde em uma dada população exposta.
- Caracterização do risco - integra todos os dados obtidos nas etapas anteriores, tendo como objetivo quantificar o risco. Neste momento, as concentrações do contaminante são medidas nos pontos de exposição e as concentrações teóricas estimadas por meio de modelos de transporte

de massa, onde são comparadas com os dados toxicológicos específicos do composto de interesse (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2004). Esta comparação serve para determinar se os níveis de contaminação atuais ou futuros podem produzir algum efeito adverso à saúde humana, segundo os índices toxicológicos vigentes.

Manejo ou Gerenciamento do Risco

Obtenção de alternativas para uma ponderação com todas as partes envolvidas, considerando a avaliação de risco e outros fatores relevantes para a proteção da saúde dos consumidores e, quando necessário, selecionar e aplicar possíveis medidas de prevenção e controle (MERCOSUL, 1999).

Comunicação do Risco

Troca de informações e opiniões entre os órgãos envolvidos, os consumidores e demais partes interessadas a partir do processo de análise de risco, percepção e fatores relacionados ao risco (MERCOSUL, 1999).

Fungos em Alimentos

Fatores que Influenciam o Crescimento de Fungos em Alimentos

O crescimento fúngico é influenciado por fatores intrínsecos e extrínsecos ao alimento os quais, ao atuarem de forma sinérgica, determinam a intensidade do desenvolvimento microbiano e, conseqüentemente, a velocidade de deterioração do produto.

Fatores Intrínsecos

Atividade de água (aw)

É definida como a quantidade de água livre disponível no alimento. Seus valores são numericamente iguais aos de umidade relativa de equilíbrio, porém na forma decimal (TANIWAKI; SILVA, 2001).

O crescimento de fungos é totalmente dependente da água livre presente no alimento. Dessa forma, quanto menor a atividade de água, menor será a

capacidade de adaptação do fungo e, conseqüentemente, do seu desenvolvimento no meio, o que retardará a deterioração do alimento (TANIWAKI; SILVA, 2001).

A atividade de água abrange uma escala que varia de 0 a 1,00; valores abaixo de 0,90 tornam o crescimento microbiano restrito apenas para fungos filamentosos (bolors) e leveduras (Tabelas 1 e 2), com faixa mínima compreendendo de 0,88 e 0,85, respectivamente; com exceção para algumas bactérias, como *Staphylococcus aureus*, que pode crescer em condições de baixa atividade de água (aproximadamente 0,86) (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Tabela 1. Atividade de água mínima para crescimento de fungos filamentosos e leveduras.

Microorganismo	Atividade de água (aw)
Maioria dos fungos filamentosos	0,85
Fungos filamentosos xerofílicos	
<i>Aspergillus glaucus</i>	0,7
<i>Aspergillus conicus</i>	0,7
<i>Aspergillus echinulatus</i>	0,64
<i>Xeromyces bisporus</i>	0,61
Maioria das leveduras	
Leveduras osmofílicas	0,88
<i>Debaromyces hansenii</i>	0,83 – 0,75
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	0,8
<i>Hansenula anomala</i>	0,75
<i>Zygosaccharomyces bisporus</i>	0,7
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	0,62

Fonte: Taniwaki e Silva (2001).

Tabela 2. Atividade de água (Aw) mínima para fungos toxigênicos produtores de patulina.

Fungo toxigênico	Aw para crescimento	Aw para produção de toxina (patulina)
<i>Aspergillus clavatus</i>	0,85	0,99
<i>A. giganteus</i>	---	---
<i>A. terreus</i>	0,78	---
<i>Byssochlamys nivea</i>	0,84 – 0,92	
<i>Penicillium carneum</i>	---	---
<i>P. dipodomyicola</i>	---	---
<i>P. expansum</i>	0,83 – 0,85	0,99
<i>P. griseofulvum</i>	0,81 – 0,85	
<i>P. marinum</i>	---	---
<i>P. paneum</i>	---	---
<i>Penicillium patulum</i>	0,81-0,85	0,85-0,95

Fonte: Hocking et al. (2006); Samson et al. (1995); Universidade Federal de Santa Maria (2007a).

Acidez (valores de pH)

Além de fungos filamentosos e leveduras, as bactérias também se desenvolvem, com velocidade de crescimento mais acelerada, em alimentos que possuem valores de atividade de água elevado. Fato que também contribui para a deterioração precoce dos alimentos. Uma forma de delimitar o crescimento destes microorganismos é através do controle de pH (Tabela 3).

O pH possui um papel fundamental no crescimento ou não destes microorganismos nos alimentos, visto que para valores de pH mais altos (a partir de pH=3.2) o crescimento de bactérias é favorecido em detrimento ao de fungos filamentosos e leveduras e para valores de pH mais reduzidos ocorre o inverso (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Tabela 3. pH mínimo para o crescimento de alguns microorganismos.

Microorganismos	PH
Fungos filamentosos	
<i>Aspergillus oryzae</i>	1,6
<i>Penicillium italicum</i>	1,9
<i>Penicillium variable</i>	1,6
<i>Fusarium oxysporum</i>	1,8
Leveduras	
<i>Candida krusei</i>	1,5
<i>Rhodotorula rubra</i>	2,2
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1,5
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	2,5 – 2,2
<i>Pichia membranefaciens</i>	2,1
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	2,0 – 1,8
<i>Hansenula cadadensis</i>	2,1
Maioria das bactérias incluindo as patogênicas	> 4,5
Bactérias acidúricas	
<i>Bacillus coagulans</i>	4,2
<i>Allycyclobacillus</i>	
<i>Bifidobactérium bifidum</i>	3,8
Bactérias acéticas	4,3 – 2,8
Bactérias lácticas	
<i>Enterococcus</i> spp.	4,6
<i>Lactococcus</i> spp.	4,2
<i>Pediococcus</i> spp.	4,2
<i>Leuconostoc</i> spp.	3,2
<i>Lactobacillus</i> spp.	3,2

Fonte: Taniwaki e Silva (2001).

Consistência do alimento

Este fator irá determinar o crescimento dos tipos de microorganismos, na medida em que houver maior ou menor tensão relativa de O_2 . Sendo assim, é comum que fungos filamentosos se desenvolvam em alimentos mais consistentes, onde a aquisição de O_2 torna-se mais fácil; e leveduras tenham maior predominância em meios líquidos, apresentando maior facilidade de dispersão. A espécie de leveduras que mais crescem em bebidas comerciais, que em grande parte são embaladas a vácuo, são as fermentativas (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Características nutricionais

Alimentos que apresentam em sua composição maior percentual de carboidratos são mais propensos à deterioração por fungos, cujo metabolismo está mais adaptado a este nutriente. Ao contrário, as bactérias se desenvolvem melhor em substratos ricos em proteínas, entretanto, com uma particularidade para as bactérias lácticas, que somente crescem na presença de carboidratos fermentáveis (TANIWAKI; SILVA, 2001).

A deterioração por leveduras torna-se limitada, uma vez que a maioria, por ser incapaz de assimilar fonte de nitrato e carboidratos simples, necessita de vitaminas para seu desenvolvimento (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Fatores Extrínsecos

Efeitos de Solutos específicos

A adição de solutos como o NaCl (cloreto de sódio), a sacarose e o glicerol pode modificar a atividade de água do alimento exercendo efeito sobre os fungos. Dependendo do soluto aplicado, este irá inibir ou acelerar o crescimento dos fungos. No caso de *Eurotium amstelodami*, seu crescimento foi 50% mais rápido quando a atividade de água do meio no qual se encontrava foi ajustada para 0,96 com glucose, em lugar de NaCl, $MgCl_2$ ou glicerol (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Temperatura

O efeito da temperatura sobre a carga microbiana do alimento pode acelerar ou diminuir seu processo de deterioração (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Os microorganismos apresentam um melhor desenvolvimento quando se encontram em faixas de temperaturas ótimas para seu crescimento. Os fungos se desenvolvem mais facilmente em faixas de temperatura de 25°C a 30°C, tendo um decréscimo quando a temperatura varia entre 35 - 37°C e crescem raramente em temperaturas que compreendem a faixa de 55°C a 75°C. Na industrialização do produto, o processamento térmico brando (aplicado em alimentos com baixa atividade de água e alta acidez, onde a incidência de fungos é predominante) é ineficaz contra fungos resistentes a esse tipo de tratamento, como o *Byssoschlamys nivea* e *B. fulva* (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Disponibilidade de Oxigênio

Embora a maioria dos fungos deteriorantes de alimentos seja aeróbico, algumas espécies conseguem sobreviver em concentrações de O_2 extremamente restrita. *Byssoschlamys fulva*, *Byssoschlamys nivea*, *Fusarium*

oxysporium e *Mucor plumbeus* são exemplos de fungos que apresentam um comportamento anaeróbio facultativo (TANIWAKI; SILVA, 2001), sendo os dois primeiros produtores de patulina.

Diferentemente dos fungos filamentosos, que têm seu crescimento limitado pela disponibilidade de O_2 , as leveduras podem crescer na ausência total de O_2 e em concentrações variadas de CO_2 (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Elevadas concentrações de CO_2 inibem o crescimento da maioria dos fungos, porém há espécies que conseguem se desenvolver em atmosfera predominante de CO_2 como *Penicillium roquerfoti* (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Presença de conservantes

São adicionados aos alimentos processados com o objetivo de inibir o crescimento fúngico. Os conservantes geralmente utilizados são o dióxido de enxofre, os ácidos benzóico, sórbico e propiônico (em bebidas e outros derivados de frutas e refrigerantes) e o ácido acético (um tipo de conservante natural) (TANIWAKI; SILVA, 2001).

MICOTOXINAS

Micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos que podem se desenvolver durante a produção, colheita ou armazenamento de frutos, grãos, nozes e outros produtos agrícolas. Possuem efeitos mutagênico e carcinogênico estando relacionadas, através de exposição prolongada, a câncer de rim, pulmão, distúrbios motores, espasmos, hemorragia nos pulmões e cérebro e doenças do sistema imunológico (BHAT; VASANTHI, 2007; RICHARD; PAYNE; DESJARDINS, 2003).

A principal via de exposição à micotoxina é através da ingestão de alimentos contaminados, resultando na chamada micotoxicose.

As micotoxinas são conhecidas desde a Idade Média, mas foi em 1960 que surgiu um maior interesse devido à morte de milhares de aves na Inglaterra. Estas mortes foram relacionadas a uma doença, chamada Doença X. O agente causador foi uma toxina presente na ração desses animais constituída de amendoim. A partir desta observação começou-se a suspeitar que os efeitos deletérios ocorridos nos animais também poderiam acometer a saúde humana (FERNANDES, 2004).

As micotoxinas podem levar animais e homens a quadros de intoxicação aguda ou crônica (GONÇALEZ; PINTO; FELICIO, 2001), afetando muitos órgãos e sistemas, principalmente fígado, rins e sistema nervoso. Quando

ingeridas em níveis elevados podem ocasionar problemas crônicos de saúde levando a manifestações de sintomas ocultos, reduzindo a imunidade e tendo como consequência a susceptibilidade à doenças e atrasos no crescimento (SERRA, 2005).

Os produtos agrícolas são susceptíveis ao ataque de fungos, seja no campo, na colheita, na pós-colheita, no transporte, no armazenamento e/ou no beneficiamento. A presença do fungo não indica a presença da micotoxina, pois, para que sua produção ocorra, é necessário que o crescimento fúngico seja suficientemente elevado (GONÇALEZ; PINTO; FELICIO, 2001).

Aproximadamente, 300 micotoxinas já foram isoladas, porém as toxinas que possuem propriedades tóxicas acentuadas e mais distribuídas nos alimentos (Tabela 4) são: aflatoxinas, ocratoxinas, zearalenona, tricotecenos, fumonisinas e patulina (GONÇALEZ; PINTO; FELICIO, 2001).

À medida que os estudos avançam a respeito de dados sobre a ocorrência de novas micotoxinas, surge uma maior preocupação das Organizações Internacionais de Saúde, em relação aos possíveis efeitos crônicos derivados de sua ingestão (SERRA, 2005).

Tabela 4. Principais micotoxinas, fungos produtores e matérias-primas suscetíveis e efeitos decorrentes à saúde de animais e homens.

Micotoxinas	Principais fungos produtores	Principais commodities contaminados	Efeitos biológicos em animais	Efeitos biológicos no homem
Aflatoxinas (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ e M ₁)	<i>Aspergillus flavus</i>	Amendoim, pistache, milho, amêndoa, leite	Hepatotoxicidade, hepatocarcinoma e hemorragia	Hepatocarcinogênese, cirrose em crianças, síndrome de Reye, degeneração da gordura de vísceras
	<i>Aspergillus parasiticus</i>	e seus derivados		
Ocratoxina A	<i>A. alutaceus</i>	Grãos de café, arroz, cevada, produto animal (rins, carne)	Nefrotóxico e hepatotóxico	Nefropatia de Balkan, tumor renal
	<i>A. carbonarius</i>			
	<i>A. ochraceus</i>			
	<i>A. westerdijkiae</i>			
	<i>Penicillium verrucosum</i>			
Patulina	<i>A. clavatus</i>	Maçã, suco de maçã	Hepatotóxico, afeta rins, baço e cérebro	Provável ação carcinogênica, mutagênica, teratogênica e fetotóxica
	<i>A. giganteus</i>			
	<i>A. terreus</i>			
	<i>Byssoschlamys nivea</i>			
	<i>Penicillium expansum</i>			

continua...

continuação tabela 4.

Tricotecenos (deoxinivalenol, nivalenol, toxina T ₂)	<i>Fusarium graminearum</i>	Trigo, cevada, arroz, sorgo	Vômito, diarreia, perda de peso, descamação da pele e hemorragia	ATA (aleucia tóxica alimentar)
Zearalenona	<i>Fusarium graminearum</i>	Milho, sorgo, trigo	Efeitos estrogênicos, infertilidade	Câncer cervical
Fumonisinias (B ₁ , B ₂ e B ₃)	<i>Fusarium moniliforme</i>	Milho e seus derivados	LEME (leucoencefalomalácia equina), edema pulmonar em suínos	Câncer de esôfago
	<i>Fusarium proliferatum</i>			
Alcalóides do Ergot	<i>Claviceps purpurea</i>	Centeio, milho, grama	Gangrena nas extremidades, convulsões	Ergotismo (gangrena nos membros)

Fonte: Gonçalves, Pinto e Felício (2001); Hocking et al. (2006).

Produção de Micotoxinas

A produção de micotoxinas é dependente da presença e do crescimento fúngico no substrato, aliado a condições adequadas ao seu desenvolvimento.

Basicamente, os fatores que favorecem o crescimento de fungos também são responsáveis por influenciar a produção de micotoxinas. Dessa forma, o substrato, a umidade relativa do ar, a atividade de água, a temperatura e a disponibilidade de O₂ estão diretamente relacionados à produção desse composto tóxico, na medida em que proporcionam, às diversas espécies de fungos, condições ideais para seu crescimento e multiplicação (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Diversos gêneros de fungos são capazes de produzir toxinas, entretanto, essa produção está limitada entre algumas espécies dentro do mesmo gênero. Taniwaki e Silva (2001) relataram que foi verificado que somente 31% da espécie de *Aspergillus flavus*, num total de 103 cepas isoladas do grupo, foram capazes de produzir aflatoxinas.

A interação microbiana também é outro fator que pode determinar a produção de micotoxinas. Normalmente, ocorre uma competição entre os microorganismos (leveduras, fungos filamentosos e bactérias) que compõem a flora microbiana na superfície do alimento. Quando fungos produzem suas toxinas, os demais microorganismos podem apresentar sensibilidade a estas tendo seu crescimento alterado ou, até mesmo, podem inibir a sua produção ou degradar estes compostos (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Patulina

Dentre as micotoxinas, a patulina vem despertando interesse especial pelo fato de ser encontrada numa variedade de produtos (frutos, produtos hortícolas, cereais), porém, sua principal fonte de contaminação na dieta humana são as maçãs e seus derivados (sucos e purês), cujo teor nutritivo apresenta condições propícias para o crescimento fúngico.

A patulina é produzida por diferentes espécies fúngicas (Tabela 2) dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Byssosclamyces* e *Paecilomyces*, sendo a espécie *Penicillium expansum* a principal produtora (MACHINSKI JUNIOR; MIDIO, 1996; MC ELHATTON; MARSHALL, 2007; ROSS et al., 1998), que é, também, um conhecido patógeno pós-colheita causador do "mofo azul" em maçãs (VISMER et al., 1996).

Estudos realizados em animais de laboratório têm demonstrado que este composto tóxico apresenta atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica. Porém, até o momento não está totalmente estabelecida a susceptibilidade do homem a esta micotoxina (MACHINSKI JUNIOR; MIDIO, 1996), necessitando uma completa elucidação pelo IARC (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007).

A molécula da patulina é caracterizada por uma lactona insaturada de cinco vértices condensada a um pirano hidroxi-substituído (Figura 1), que apresenta a particularidade de ser solúvel em água e facilmente dissolvida em meio de cultura (MAHFOUD et al., 2002). Apresenta-se como sólido branco, cristalino, com ponto de fusão entre 105 a 108°C. Além da água, é solúvel também em etanol, acetato de etila, clorofórmio, acetona; ligeiramente solúvel em éter etílico e benzeno; insolúvel em éter de petróleo, pentano e hexano. É instável em soluções alcalinas, e em soluções de compostos sulfurosos, perde sua atividade biológica (PÁDUA; MACHINSKI JUNIOR, 2005).

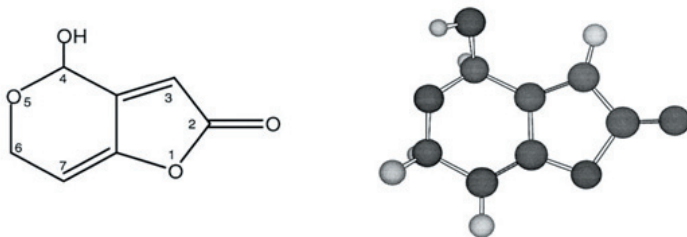


Fig. 1. Estrutura química da patulina e seu modelo molecular.

Fonte: McElhatton e Marshall (2007).

A patulina é relativamente estável à temperatura de 100°C por 15 minutos e em meio ácido (pH 3,5, 4,5 e 5,5) (KAWASHIMA; SOARES; MASSAGUER, 2002). Altas temperaturas (150°C) por curto período tempo, como as utilizadas no processo de esterelização conhecido como UHT (Ultra High Temperature), reduzem, em aproximadamente, 20% as concentrações de patulina (RECOMENDAÇÃO..., 2003). Desenvolve-se em condições de alta atividade de água (0,95-0,99) e temperatura de 0-31°C (PRADO et al., 2000).

A presença do fungo não estabelece, necessariamente, a presença da patulina no alimento, podendo indicar somente uma possibilidade (RECOMENDAÇÃO..., 2003), pois sem o crescimento do fungo a produção, geralmente, não ocorre (GONÇALEZ; PINTO; FELICIO, 2001).

Principais Fungos Produtores de Patulina

Byssoschlamys fulva e *Byssoschlamys nivea*

B. fulva e *B. Nivea* são fungos pertencentes à classe dos Ascomicetos e são frequentemente encontrados no armazenamento de produtos que passaram por tratamento térmico, sendo importantes contaminantes de frutas enlatadas e sucos de frutas (SAMSON et al., 1995).

Apresentam ascos em sua extremidade superior, que através de meiose formam os ascósporos (Figura 2), resistentes à alta temperatura (SAMSON et al., 1995).

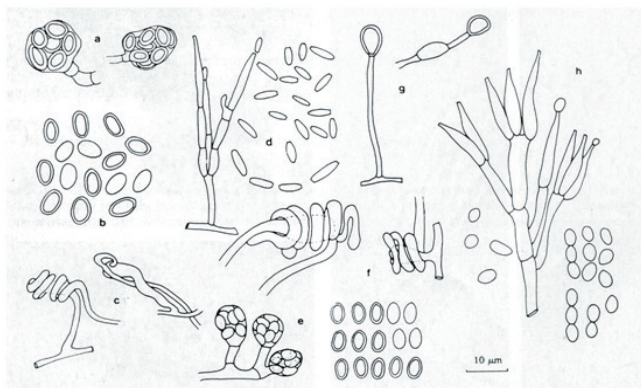


Fig. 2. Estruturas de *Byssoschlamys fulva* - a) ascos com ascósporos, b) ascósporos, c) ascomatas iniciais, d) estrutura conidial. Estrutura de *Byssoschlamys nivea* - e) ascos e ascósporos, f) ascomatas iniciais, g) clamidosporos, h) estrutura conidial.

Aspergillus clavatus e *Aspergillus terreus*

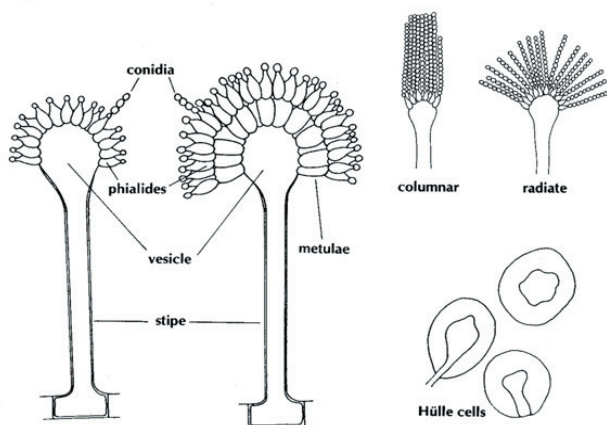


Fig. 3. Estruturas morfológicas de *Aspergillus*

São fungos mitospóricos ou fungos imperfeitos. Possuem conidiospóros geralmente longos desprovidos de ramos, com um engrossamento apical denominado vesícula de onde surgem os conidiospóros providos de conídios. Em alguns fungos, como é o caso do *A. terreus*, pode-se observar a presença de uma estrutura denominada métula (entre a vesícula e conidiospóros) formando a cabeça conidial (SAMSON et al., 1995).

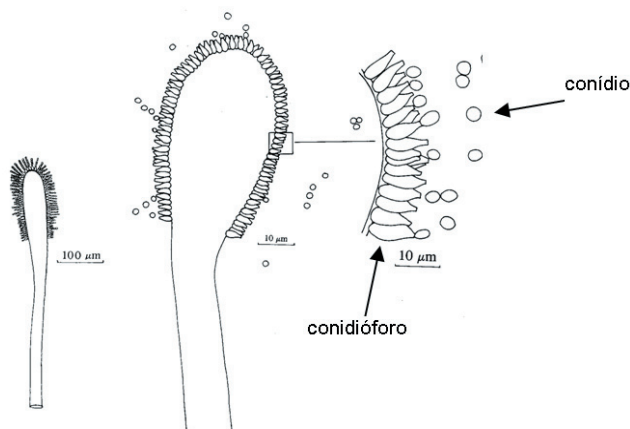


Fig. 4. *Aspergillus clavatus*. Conidióforos e conídios.

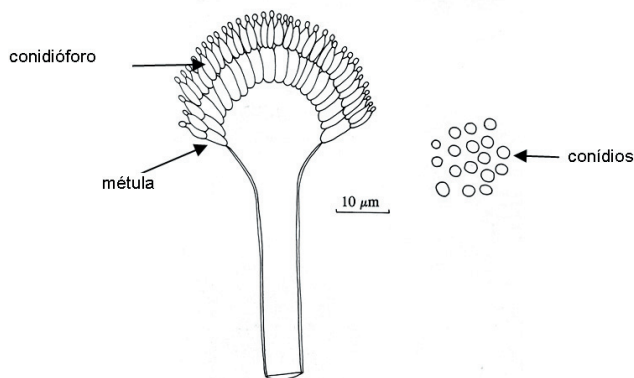


Fig. 5. *Aspergillus terreus*. Métula, conidióforos e conídios.

Várias espécies despertam atenção por serem patogênicas ao homem e animais, devido a seu potencial alergênico e habilidade de produzir metabólicos tóxicos (SAMSON et al., 1995).

A diferença entre as duas espécies encontra-se no comprimento do conidióforo e presença de métula no caso de *A. terreus* (SAMSON et al., 1995).

Penicillium expansum* e *Penicillium griseofulvum

São fungos mitospóricos, diferenciam-se do gênero *Aspergillus* por apresentarem ramos em sua estipe, nos quais ligam-se as métulas com os conidióforos providos de conídios (SAMSON et al., 1995).

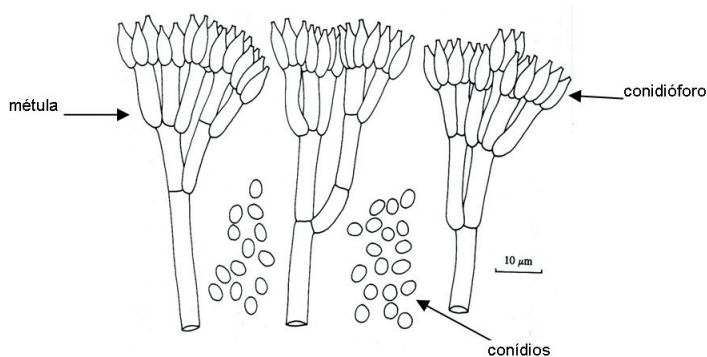


Fig. 6. *Penicillium expansum*.

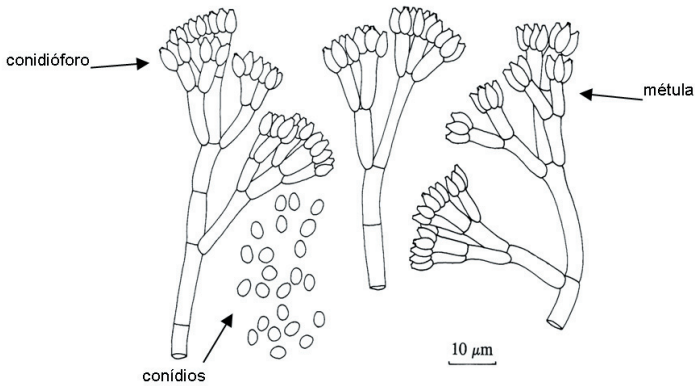


Fig. 7. *Penicillium griseofulvum*.

Em ambas as espécies, a diferença ocorre no tamanho dos conidióforos: mais curtos no *P. griseofulvum*, medindo entre 4,5 - 6,5 X 2,2 - 2,5 µm, contra 8 - 12 X 2,0 - 3,5µm *P. expansum* (SAMSON et al., 1995).

Paecilomyces variotti

Possui estrutura semelhante a do *Penicillium*, diferenciando-se pela presença comum de clamidospóros. Apresentam conidióforos arranjados em ramos, de 2 a 7 unidades, inseridos no mesmo nó (SAMSON et al., 1995).

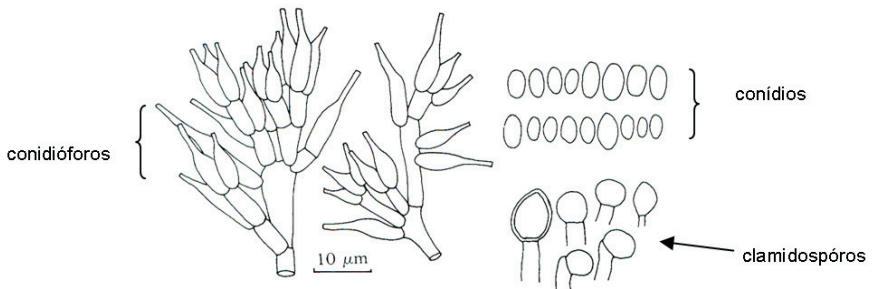


Fig. 8. *Paecilomyces variotti*

Ocorrência de Patulina

Esta micotoxina pode ser encontrada em maçãs maduras utilizadas na produção de suco de maçã concentrado (PÁDUA; MACHINSKI JUNIOR, 2005), onde são utilizadas frutas de qualidade comprometida, com sinais de apodrecimento, que não passaram no processo de seleção para a venda no comércio de frutas frescas. Essa contaminação acontece, principalmente, em período de baixa produção, onde a matéria-prima se encontra escassa (GONÇALEZ; PINTO; FELICIO, 2001). Desta forma, para manter a produção, maçãs de baixa qualidade, com manchas, podridão e outros tipos de deterioração são utilizadas juntamente com as maçãs sadias na produção do suco (HOFFMANN, 2004).

Assim como outras micotoxinas apresentam especificidade para certos tipos de alimentos, a produção de patulina está restrita às frutas, principalmente maçãs. A contaminação da fruta é mais freqüente durante seu estágio de crescimento, estocagem e transporte, principalmente se, nestes dois últimos casos, a fruta apresentar injúrias físicas (McELHATTON; MARSHALL, 2007).

A presença de patulina tem sido relatada em muitos países da União Européia (UE) e, freqüentemente nos Estados Unidos da América (EUA), onde o FDA estabeleceu limites máximos toleráveis desta toxina em sucos de maçã (McELHATTON; MARSHALL, 2007).

O processo térmico seria uma técnica capaz de eliminá-la, mas, na prática, como o suco é pasteurizado, a temperatura não é suficientemente alta para eliminar a toxina (TANIWAKI; BLEINROTH; MARTIN, 1989).

Na produção de produtos fermentados como cidras, a presença de patulina é praticamente nula, uma vez que esta micotoxina é degradada pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*, durante o processo de fermentação (PÁDUA; MACHINSKI JUNIOR, 2005; RECOMENDAÇÃO..., 2003). Porém, a patulina poderá estar presente se for acrescentado sumo de maçã após a fermentação (RECOMENDAÇÃO..., 2003).

Dentre os vários métodos utilizados para detecção e quantificação de micotoxinas, destacam-se os cromatográficos como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, também conhecido por HPLC), cromatografia gasosa (CG) e os métodos imunoensaios (ELISA e radioimunoensaio) (GONÇALEZ; PINTO; FELICIO, 2001).

Para determinação de patulina em suco de maçã, o método mais utilizado é de CLAE, sendo considerado mais rápido, simples, sensível, confiável e

adequado (FERNÁNDEZ-TREVEJO; VERDÉS; ESPINOSA, 2001). Outros autores também validaram o uso do método de detecção de patulina por CLAE através da determinação do conteúdo da micotoxina em sucos e produtos de maçã (incluindo os destinados à crianças) (BIBI; PELLI; PECORELLI, 2007).

Maçã

A macieira (*Malus domestica*) é uma árvore frutífera, da família Rosaceae, típica de clima temperado que é cultivada há milênios e tem suas origens na Europa e Ásia (PEREZ, 2006). Possui mais de 7.500 espécies e variedades (SANHUEZA, 2003).

O início do desenvolvimento comercial da macieira no Brasil ocorreu na década de 70, sendo o mercado interno anteriormente abastecido pela importação da fruta principalmente da Argentina. O plantio da maçã no Brasil teve como primeiro objetivo suprir o mercado interno, principalmente, para consumo in natura (SANHUEZA, 2003). No período de 1973/74 o Brasil produziu pouco mais de 1.500 toneladas de maçãs (MELLO, 2006; PAGANINI et al., 2004; SANHUEZA, 2003).

A produção brasileira de maçãs tem aumentado significativamente nas últimas décadas. Trezentos e cinquenta e uma mil toneladas foram produzidas em 1990 (SANHUEZA, 2003). Em 2001 a produção foi estimada em 800.000 toneladas com a área plantada de cerca de 30.000 hectares (COELHO; HOFFMANN; HIROOKA, 2003). No ano de 2005, esse total aumentou para 35.327 hectares. No período de 2003 a 2005 o Brasil produziu, em média, 886 mil toneladas da fruta (Tabela 5) (PEREZ, 2006).

As maçãs produzidas no Brasil, provêm do Sul do país, com 98% da produção, e do Sudeste, com o restante.

Tabela 5. Produção Mundial de Maçãs, 2003-2005.

País	2003	2004	2005	Média	Média
					%
China	21.105.161	23.681.494	25.006.500	23.264.385	39,1
EUA	3.988.552	4.726.390	4.254.290	4.323.077	7,3
Turquia	2.600.000	2.100.000	2.550.000	2.416.667	4,1
Irã	2.400.000	2.400.000	2.400.000	2.400.000	4
Polônia	2.427.753	2.521.514	2.050.000	2.333.089	3,9
França	2.136.886	2.216.940	2.123.000	2.158.942	3,6
Itália	1.610.435	2.136.226	2.194.875	1.980.512	3,3
Federação Russa	1.690.000	2.030.000	2.050.000	1.923.333	3,2
Alemanha	1.578.000	1.592.000	1.600.000	1.590.000	2,7
Índia	1.470.000	1.470.000	1.470.000	1.470.000	2,5
Chile	1.250.000	1.300.000	1.350.000	1.300.000	2,2
Argentina	1.307.460	1.262.440	1.262.440	1.277.447	2,1
Brasil	841.821	973.325	843.919	886.355	1,5
Japão	842.100	754.600	870.000	822.233	1,4
Ucrânia	871.300	716.900	700.000	762.733	1,3
Espanha	881.101	603.000	797.700	760.600	1,3
África do Sul	714.321	707.845	778.630	733.599	1,2
Coreia do Norte	660.000	669.000	669.000	660.000	1,1
Hungria	507.505	680.000	720.000	635.835	1,1
Subtotal	48.882.395	52.541.674	53.690.354	51.704.808	86,8
Outros países	9.379.781	6.901.640	7.274.446	7.851.956	13,2
Total mundial	58.262.176	59.443.314	60.964.800	59.556.763	100

Tabela adaptada: Perez (2006).

O Brasil começou a aparecer nas estatísticas internacionais na década de 1980, sendo que em 2001 atingiu a auto-suficiência. Hoje o Brasil, além de ser consumidor, é exportador de maçã; exportando principalmente para a Europa (Tabela 6) (SANHUEZA, 2003).

Tabela 6. Exportação de maçã, segundo alguns países e estados brasileiros, 2003-2005.

Quantidade (em toneladas)				
País	2003	2004	2005	Part. % 2005
Holanda	30.312	57.360	28.882	29,1
Reino Unido	7.953	17.859	14.877	15,1
Alemanha	6.254	15.396	8.398	8,5
Suécia	5.909	9.782	8.983	9
Espanha	2.156	4.761	4.271	4,3
França	1.137	4.944	5.035	5,1
Finlândia	2.048	4.948	5.591	5,6
Portugal	4.159	6.154	4.239	4,3
Irlanda	2.336	3.318	3.148	3,2
Bangladesh	666	3.073	4.916	4,9
Itália	3.528	7.608	3.108	3,1
Dinamarca	1.660	1.949	2.294	2,3
Bélgica	4.099	5.657	1.891	1,9
Subtotal	72.216	143.408	95.633	96,3
Outros	4.250	9.635	3.700	3,7
Total	76.466	153.043	99.332	100
Estado				
Santa Catarina	37.548	80.870	61.011	61,4
Rio Grande do Sul	38.846	70.816	38.195	38,5
Paraná	0	647	123	0,1
Total	76.466	153.043	99.332	100

Tabela adaptada: Perez (2006).

Oitenta por cento da produção é destinada ao consumo *in natura* (SANHUEZA, 2003), sendo as populações dos estados das regiões sul e sudeste as maiores consumidoras da fruta e, por isso, as mais expostas à contaminação por patulina.

As maçãs rejeitadas pelo consumidor, que chegam a representar 30% da produção total, caracterizada por possuírem deformidades, tamanho e formatos impróprios, cicatrizes e ferimentos, são destinadas às indústrias processadoras de suco. As frutas com problemas fitossanitários ou aberturas na epiderme são encaminhadas para a fabricação de sidra, vinagre e destilados. Esse uso de frutas de má qualidade é justificado pelo fato da micotoxina patulina, produzida por fungos em maçãs em processo de deterioração, ser eliminada durante o processo de fermentação (PAGANINI et al., 2004).

A maçã é uma das frutas mais completas sob o ponto de vista nutricional. Possui componentes antioxidantes, vitaminas e sais minerais (SANHUEZA, 2003), além de possuir propriedades reguladoras, tais como (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ, 2007):

- Atividade contra a diarreia e o reumatismo;
- Redução do colesterol devido ao alto teor de pectina presente em sua casca;
- Auxilia a digestão;
- Modera o apetite;
- Prevenção de alergias;
- Evita a formação de cálculos renais;
- Depura o sangue, em virtude de conter ácido málico que elimina detritos provenientes do metabolismo;
- Prevenção do câncer digestivo;
- Prevenção de derrame;
- Melhoria da respiração;
- Retarda o envelhecimento;
- Possui propriedades refrescante e adstringente.

Análise de Risco: Patulina em Maçã e Derivados

Identificação do Perigo

Durante a colheita da maçã, é recomendado realizar uma pré-seleção da fruta no campo, de modo a evitar a mistura de frutas sãs com as caídas no chão, granizadas, com danos por insetos, podridões e machucadas (SANHUEZA, 2003). No entanto, essa prática não é muito comum entre os produtores que, após a colheita das frutas sadias, iniciam um raleio daquelas que permaneceram caídas no pomar, e que não apresentam condições desejáveis de comercialização. De um modo geral, essas frutas, cuja qualidade está comprometida e que foram rejeitadas durante processo de seleção para a venda no comércio de frutas frescas, são destinadas ao processamento de suco de maçã e produtos artesanais (doces, geléias, fatias da fruta secas ao sol para o preparo de chá). Muitas destas maçãs rejeitadas, apresentam sinais visíveis de contaminação por fungos produtores de micotoxinas, responsáveis pelo avançado grau de apodrecimento, devido ao manuseio incorreto.



Fig. 9. Maçãs contaminadas por fungos

Fotos: Otniel Freitas-Silva.

Micotoxinas são compostos provenientes de vias metabólicas de algumas espécies de fungos, capazes de produzir efeitos tóxicos em animais e no homem, dependendo dos níveis de consumo (GONÇALEZ; PINTO; FELICIO, 2001).

A maçã e seus produtos derivados (sucos e purês) constituem as principais fontes de patulina na dieta humana (Quadro 1). Devido ao alto consumo de

maçãs e, conseqüentemente, seu potencial econômico, é de fundamental importância estabelecer formas de controle, a fim de evitar sua produção nestes alimentos.

Diferentes espécies de fungos demonstram capacidade para produzir esta micotoxina destacando-se os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Byssoschlamys* e *Paecilomyces*, sendo o *Penicillium expansum* seu principal produtor (MACHINSKI JUNIOR; MIDIO, 1996; McELHATTON; MARSHALL, 2007; ROSS et al., 1998).

Até o momento, nenhum estudo estabeleceu efeitos deletérios à saúde humana ocasionados pela ingestão de alimentos contaminados por patulina, no entanto, no ano de 1996, foi relatado por Moss uma intoxicação aguda com hemorragia cerebral fatal em gado que ingeriram malte contaminado com patulina produzida por *Aspergillus clavatus* (LEVY; HIROOKA, 1999; MACHINSKI JUNIOR; MIDIO, 1996).

Quadro 1. Patulina, principal fungo produtor, produto fonte de contaminação e efeitos biológicos.

Micotoxina	Principal fungo produtor	Principais produtos contaminados	Efeitos biológicos em animais	Efeitos biológicos em humano
Patulina	<i>Penicillium expansum</i>	Maçã, suco de maçã	Hepatotóxico, afeta rins, baço e cérebro	Provável ação carcinogênica, mutagênica, teratogênica e fetotóxica

Quadro adaptado de: Gonçalves, Pinto e Felício (2001).

As cidras apresentam-se mais seguras que os demais produtos de maçã devido ao processo de fermentação alcoólica, ao qual é submetida, responsável pela degradação da patulina.

Tabela 7. Ocorrência de Patulina em alimentos.

Ano	País	Substrato	Número de amostras analisadas	Amostras Positivas	Concentração (mg/kg ou mg/l)
1971	EUA	Maçã	95	4	25.000 (max)
	EUA	Maçã	5	5	45.000 (max)
	Canadá	Doce de maçã	1	1	1.000
1972	EUA	Suco de maçã	13	8	44 a 309
	França	Maçã	8	4	300 (máx)
1974	Alemanha	Suco de maçã	40	nd	Nd

Continua...

Continuação

1976	Finlândia	Suco de maçã	95	16	5 a 72
	Finlândia	Suco de maçã caseiro	20	8	30 a 65
1976 a 1977	EUA	Maçã	40	22	10 a 300
1976	Suíça	Suco de maçã	42	19	5 a 50
1977 a 1983	Bélgica	Suco de maçã	113	4	30 a 430
1978	Finlândia	Suco de maçã	51	20	5 a 72
	Noruega	Suco de maçã	140	127	1 a 220
	França	Maçã	13	60	100 a 300
1978 a 1979	Alemanha	Suco de maçã	416	67	20 a 400
1979	Espanha	Maçã	104	52	1 a 250
1980	França	Suco de maçã	27	27	55 a 610
	Reino Unido	Suco de frutas	136	16	1 a 38
	França	Maçã	27	27	55 a 610
1981	Alemanha	Maçã	107	7	11 a 50
	Alemanha	Suco de maçã	20	nd	nd
	Alemanha	Suco de maçã	36	19	20 a 300
	Nova Zelândia	Suco de maçã	20	3	106 a 216
1980 a 1985	Reino Unido	Suco de maçã	45	24	1 a 56
1982	Alemanha	Suco de maçã	66	48	2 a 50
1982	Itália	Suco de fruta	58	21	5 a 15
1982 a 1983	África do Sul	Alimentos	794	45	-
	França	Alimento infantil	42	11	10 a 100
1985	Reino unido	Suco de maçã	24	1	56
1990	Austrália	Suco de maçã	113	74	5 a 629
1992	Espanha	Suco de maçã	18	15	2,3 a 78
1992	Austrália	Suco de maçã	16	8	646 (max)
1992	Austrália	Suco de frutas	241	140	1.130 (max)
1992	Austrália	Concentrado de maçã	60	30	646 (max)
1992	Espanha	Suco de maçã	100	82	170(máx)
1992-1993	Brasil	Suco de maçã	73	15	77,5(máx)
1998	Turquia	Suco concentrado de maçã	215	215	7 a 376
1999	Brasil	Frutas e sucos de frutas	111	1	17
2001-2002	Iran	Suco de maçã e concentrados de maçã	65	65	285,3 (máx.)

nd: não detectado - máx: concentração máxima detectada

Tabela adaptada: Cheraghali et al. (2005); Gökmen e Acar (1998); Machinski Junior e Midio (1996).

Caracterização do Perigo

A patulina é uma micotoxina, cuja molécula é uma lactona heterocíclica insaturada apresentando a particularidade de ser solúvel em água e facilmente dissolvida em meio de cultura (MAHFOUD et al., 2002) (Figura 1). É encontrada em maçãs (seu teor nutritivo apresenta condições propícias para o crescimento fúngico) e produtos derivados, quando estes resultam de processos, nos quais foram utilizados frutos apodrecidos contendo altas concentrações da toxina (ROSS et al., 1998).

Sua presença vem sendo motivo de constantes investigações, devido à contaminação natural (ROSS et al., 1998). Embora seja objeto de vários estudos, o mecanismo de toxicidade da patulina permanece em controvérsia; sabe-se, porém, que é tóxica para animais, mutagênica, carcinogênica e teratogênica, incluindo injúrias intestinais com degeneração de células epiteliais, inflamação, ulceração e hemorragia (MAHFOUD et al., 2002).

Avaliando o efeito tóxico da patulina, o Joint Expert Comittee on Food Additives (JECFA) propôs nível provisório de ingestão máxima tolerável semanal (PTWI) de 7µg/Kg de peso corporal/semana para um nível provisório de ingestão máxima diária tolerável (PTDI) de 0,4µg/Kg de peso corporal/ dia (JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 1995). Estes valores são baseados em estudos realizados por Becci et al (1981 apud CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION, 2001) que estabeleceram 0,3 mg/kg por semana como sendo nível de efeito adverso não observado (NOAEL). Desta forma, a ingestão semanal foi convertida para uma ingestão diária sendo dividida por sete. A partir daí, o resultado obtido é dividido por 100 através da aplicação de dois fatores de segurança (10-fold safety factors) para chegar ao PTDI, da seguinte maneira (CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION, 2001):

- 1) 0,3 mg/kg peso corporal por semana dividido por 7 = 0,043 mg/kg peso por dia
- 2) 0,043 mg/kg peso corporal por dia dividido por 100 (fator de segurança) = 0,00043 µg/kg peso por dia ou 0,43 µg/kg peso por dia.

Assim, uma pessoa de peso corpóreo de 75kg pode ter uma ingestão diária tolerável de 32,25 µg/dia de patulina sem que ocorra alguma efeito adverso à sua saúde.

O fator de segurança, também conhecido como fator de incerteza, foi introduzido por Lehman e Fitzhugh em 1954, para avaliar a margem de segurança de substâncias em alimentos (CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION, 2001). A aplicação de dois fatores de segurança, para a patulina no suco de maçã, justifica-se pela variação interespecies (dados extrapolados de animais para o homem) e variação intraespecies (variação na sensibilidade aos efeitos de um contaminante entre humanos). Desta forma, o FDA considera que há uma margem de segurança adequada se a exposição estimada para patulina for menor ou igual ao PTDI (CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION, 2001).

Mahfoud et al. (2002), estudando o mecanismo celular, associado à toxicidade da patulina em dois tipos de células intestinais humanas (HT-29-D24 e Caco-2-14) descobriram que concentrações micromolares da toxina induzem uma rápida e dramática diminuição da resistência do epitélio ocasionada pela inativação química da tirosina fosfatase. Essa inativação é decorrente da similaridade da toxina com inibidores desta enzima. Os autores alertam para o fato de que a toxicidade da patulina é devido, principalmente, à sua reatividade com grupos SH, os quais, podem ser neutralizados pela glutathione.

Ainda permanece desconhecido se doses subletais de patulina (doses inferiores ao limite aceitável pela OMS de 50µg/L) poderiam ocasionar alguma alteração da permeabilidade intestinal (MAHFOUD et al., 2002).

Legislação

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu 50µg/L como o limite máximo para suco de maçãs, porém tendências atuais sugerem reduções ainda maiores neste limite. Em alguns países, os níveis adotados são ainda menores, variando entre 20 e 30µg/L para produtos destinados à alimentação infantil (ROSS et al., 1998). Neste sentido e de acordo com Pádua e Machinski Junior (2005), o Codex Alimentarius já está considerando uma possível redução do nível de 50µg/L para 25µg/L, em função do alto consumo de suco de maçã por bebês e crianças com possibilidade de excederem a ingestão diária tolerável.

Vários países, incluindo África do Sul, determinaram que concentrações residuais de patulina, para produtos à base de maçãs destinados ao consumo humano, sejam menores que 50µg/L (LEGGOTT; SHEPHARD, 2001). Embora muitos países tenham adotado um limite aceitável de

patulina em alimentos (McELHATTON; MARSHALL, 2007), o Brasil e os países do Mercosul, excetuando-se o Uruguai, ainda não têm em sua legislação níveis permitidos para esta micotoxina.

Quadro 2. Legislação sobre os níveis de patulina em diferentes países.

País	Alimento	Quantidade de patulina (µg/kg)
Finlândia	Todos os alimentos	50
França	Suco de maçã	50
Grécia	Suco de maçã, produtos de maçã	50
Hungria	Alimentos conservados	0 (para todas as micotoxinas)
Israel	Suco de maçã	50
Itália	Suco de frutas	50
Noruega	Suco de maçã concentrado	50
República Checa	Todos os alimentos	50 ppb
	Alimentos para crianças	30 ppb
	Alimentos infantis	20ppb
Romênia	Todos os alimentos	50
Suécia	Bagas, frutas e sucos	50
Suíça	Suco de frutas	50
Uruguai	Sucos de frutas	50
União Européia	Alimentos infantis	10 ppb

Fontes: Fonseca (2006); Richard, Payne e Desjardins (2003); Universidade Federal de Santa Maria (2007b).

Avaliação da Exposição

Muitas pesquisas têm sido realizadas no intuito de investigar a presença de patulina em produtos derivados de maçãs. Dados registrados na literatura demonstram que a concentração desta micotoxina atinge níveis, significativamente, mais elevados que o limite estabelecido pela OMS.

Em estudos realizados na Turquia entre os anos de 1993-1994 foi observado que 11% dos sucos de maçã excederam o limite tolerável, num total de 20 amostras analisadas (GÖKMEN; ACAR, 1998). Em outro trabalho, de 215 amostras analisadas de suco concentrado de maçã,

coletadas de três produtores diferentes, todas as amostras apresentaram contaminação por patulina, em concentrações variando de 7 a 376µg/L. Os níveis de patulina, conforme tabela 8, excederam 50µg/L em 46% de todas as amostras analisadas, sendo o limite máximo encontrado de 376¼g/L para um dos produtores (GÖKMEN; ACAR, 1998). Outro experimento apresentou 60% da concentração de patulina variando entre 19,1 a 732,8µg/L em 45 amostras de suco de maçã analisadas (YURDUN; OMURTAG; ERSOY, 2001).

A contaminação por patulina em sucos de maçã está distribuída onde este produto é cultivado e consumido. Por exemplo, na Austrália em 1992, em 60 amostras de concentrado de maçã analisadas, 50% apresentaram contaminação por patulina, atingindo o nível de 646µg/L (GÖKMEN; ACAR, 1998).

Tabela 8. Contaminação por patulina em sucos concentrados de maçã processados por três diferentes produtores.

Produtores	Número (%) de amostras positivas para patulina	
	≤50µg/l patulina	>50mg/l patulina
A ^a	24 (36%)	43 (64%)
B ^b	51 (64%)	29 (36%)
C ^c	42 (62%)	26 (38%)

^aConcentração máxima de patulina em amostra do produtor A: 376?g/l.

^bConcentração máxima de patulina em amostra do produtor B: 341?g/l.

^cConcentração máxima de patulina em amostra do produtor C: 130?g/l.

Fonte: Gökmen e Acar (1998).

Entre Abril e Dezembro de 1992, na Espanha, foram selecionadas, casualmente do comércio local, 100 amostras de sucos de maçã e sete amostras de alimentos infantis à base de maçã. Oitenta e duas das 100 amostras estavam contaminadas com patulina, das quais sete encontravam-se dentro do limite estabelecido de 50µg/L com uma média de 13,8µg/L; para as demais, a concentração mais alta foi de 170µg/L. Nas amostras dos alimentos infantis não foi detectada a presença de patulina (PIETRA et al., 1994).

No Iran, entre os anos de 2001 e 2002, Cheraghali et al. (2005), avaliando a incidência de patulina em sucos de maçã e concentrados de maçã produzidos naquele país, observaram que das 65 amostras analisadas, 69% de sucos e 78% de concentrados de maçã tinham níveis de patulina mais altos que 15µg/L. Porém, 33% das amostras de suco apresentavam níveis

mais altos que 50µg/L, sendo que o nível máximo de contaminação encontrado foi de 285,3µg/L; já para os concentrados, 56% das amostras apresentaram níveis acima do limite tolerável com nível máximo de 148µg/L (Tabela 9).

Tabela 9. Resultados da pesquisa sobre a contaminação por patulina em sucos e concentrados de maçã.

Amostras	Nº	Concent. Patulina <15πg/l	Concent. Patulina 15-50πg/l	Concent. Patulina >50πg/l	Máx.(πg/l)
Suco de maçã	42	13 (31%)	15 (36%)	14 (33%)	285,3
Suco de maçã	23	5 (22%)	5 (22%)	13 (56%)	148,8
Concentrado					
Total	65	18 (28%)	20 (31%)	27 (41%)	285,3

Fonte: Cheraghali et al. (2005).

Na África do Sul, pesquisadores conduziram um trabalho sobre o potencial da contaminação por patulina em produtos derivados de maçã. De um total de 60 amostras, incluindo sucos de frutas, cidra de maçã, molhos, geléias, conservas e compotas de frutas, os níveis de patulina encontrados estavam abaixo do limite tolerável de 50µg/L; a bebida carbonatada de maçã apresentou o maior nível (45µg/L). De oito amostras de cidra de maçã, somente duas estavam contaminadas com níveis de patulina de 5 e 10µg/L (LEGGOTT; SHEPHARD, 2001).

No Brasil, Sylos e Rodriguez-Amaya (1999 apud PÁDUA; MACHINSKI JUNIOR, 2005), verificando a incidência de patulina em 111 amostras de sucos de frutas, incluindo maçã, abacaxi, uva, mamão, goiaba, banana e manga, comercializados em Campinas, encontraram patulina em apenas uma amostra de suco de maçã com concentração de 17 µg/L.

Machinski Junior e Midio (1996), com a finalidade de avaliar o grau de contaminação do suco de maçã por patulina e, conseqüentemente, verificar a exposição humana à toxina, analisaram 73 amostras de diferentes tipos de sucos de maçãs industrializados, expostos à venda no mercado da cidade de Maringá, durante o período de janeiro de 1992 a abril de 1993. Das amostras analisadas, conforme mostrado na tabela 10, foram encontradas 15 amostras contaminadas por patulina, representando 21% do total, e, somente uma destas, apresentou nível máximo de contaminação acima do limite aceitável, considerando o padrão do *Codex Alimentarius*.

Tabela 10. Quantidade ($\mu\text{g/L}$) de patulina em sucos de maçãs encontrada em 15 das 73 amostras analisadas.

No das amostras	Patulina (mg/L)	Nº das amostras	Patulina (mg/L)
1	10	9	8,8
2	8	10	19,8
3	7,2	11	9,9
4	8,1	12	7,1
5	10,5	13	7,7
6	8,4	14	6,5
7	34,8	15	6,4
8	77,5		

Fonte: Machinski Junior e Midio (1996).

Em uma revisão sobre a incidência de micotoxinas no Brasil, Rodriguez-Amaya e Sabino (2002), incluindo a pesquisa realizada por Machinski Junior e Midio (1996), verificam a presença de patulina em 16 das 258 amostras analisadas, conforme evidenciado na tabela abaixo:

Tabela 11. Dados da incidência de patulina em sucos de frutas ingeridos pela população brasileira.

Estado	Alimento	Nº de amostras	Amostras Positivas	Variação(mg/L)
São Paulo	Sucos de frutas	36	0	-
Paraná	Suco de maçã	73	15	6 – 77
São Paulo	Sucos de frutas	149	1	17

Tabela adaptada de: Rodriguez-Amaya e Sabino (2002).

Através dos dados obtidos na literatura, pode-se verificar a presença da patulina em diferentes graus de concentração nos produtos analisados. Desta forma, mesmo em concentrações consideradas seguras à saúde humana, sua presença deve ser levada em consideração uma vez que estes produtos fazem parte da dieta de várias populações, como por exemplo, a americana, consumidora habitual de sucos e derivados de maçãs.

Avaliação do Risco

Quanto aos aspectos de saúde pública, a presença da patulina é de extrema relevância uma vez que possui propriedades mutagênicas, teratogênicas e carcinogênicas evidenciadas através de estudos realizados

em animais de laboratório (TANIWAKI; BLEINROTH; MARTIN, 1989). Geralmente, o potencial dos efeitos adversos observados nesses estudos é semelhante aos que poderiam ocorrer em humanos se, de acordo com peritos em segurança, não foram estabelecidos mecanismos ou outros estudos que comprovem que esses efeitos não estejam diretamente relacionados aos que poderiam acometer a saúde humana (CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION, 2001).

Embora não existam registros epidemiológicos que associem doenças ou óbitos ao consumo de alimentos contaminados por patulina, o FDA considera que os efeitos verificados em estudos com animais possam ser extrapolados para o homem (CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION, 2001). Sendo assim, os níveis de exposição à patulina podem ser nocivos à saúde da população.

A toxicidade da patulina em humanos pode ser verificada em estudo realizado por Mahfoud et al. (2002), quando expuseram dois tipos de células do epitélio intestinal humano (*in vitro*) a concentrações micromolares da toxina, o que levou a uma rápida e drástica redução da resistência deste epitélio.

Manejo ou Gerenciamento do Risco

Tendo em vista a contaminação por patulina em produtos, principalmente, derivados de maçã, medidas de controle têm sido sugeridas com o objetivo de minimizar e até mesmo eliminar a presença de fungos produtores desta micotoxina.

A Associação Britânica de Refrescos (British Soft Drinks Association, BSDA) sugere como método para reduzir a contaminação por patulina a utilização de matéria-prima de boa qualidade (seleção das frutas sadias com remoção daquelas com tecido apodrecido), condições ótimas de higiene durante o armazenamento associado ao controle de atmosfera, filtração através de carvão vegetal ativado, pasteurização e adição de dióxido de enxofre ou ascorbato, fermentação do suco de maçã, adição de ácido ascórbico e irradiação (CHERAGHALI et al., 2005; LEGGOTT; SHEPHARD, 2001).

Em relação ao elevado consumo de suco de maçã por bebês e crianças, a Academia Americana de Pediatria, temendo uma possível ingestão acima do limite diário tolerável (PDTI), recomenda que esses sucos sejam diluídos numa proporção de 1:1, ou seja, meia porção de suco para meia porção de água (CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION, 2001).

O Codex Alimentarius recomenda, como método de redução da contaminação por patulina em suco de maçã, a observação das boas práticas agrícolas (BPA), com ênfase na pré-colheita, no transporte das frutas colhidas e temperaturas de armazenamento (Quadro 3); e das boas práticas de fabricação (BPF), compreendendo desde o transporte da unidade de refrigeração para a indústria até a avaliação da qualidade do suco (CODEX ALIMENTARIUS, 2003; RECOMENDAÇÃO..., 2003).

Quadro 3. Temperaturas recomendadas para o armazenamento de maçãs.

Variedade	Temperatura (°C)	Variedade	Temperatura(°C)
Bramley	3,0 – 4,0	Idared	3,5 – 4,0
Cox's Orange Pippin	3,0 – 3,5	Jonagold	0,0 – 0,5
Discovery	1,5 – 2,0	Red Delicious	0,0 – 1,0
Egremont	3,0 – 3,5	Spartan	0,0 – 0,5
Golden Delicious	1,5 – 2,0	Worcester	0,0 – 1,0
Crispin	1,5 – 2,0		

Fonte: Codex Alimentarius (2003).

McElhatton e Marshall (2007) evidenciam o emprego do sistema APPCC (Análises de Perigos por Pontos Críticos de Controle) (Quadro 4), como uma possível medida de controle para a contaminação por patulina em suco de maçã, embora não tenham nenhuma confirmação de que, após implementadas as etapas do sistema, os níveis da toxina possam ser reduzidos a níveis aceitáveis.

Quadro 4. Emprego do sistema APPCC para o controle dos níveis de patulina em sucos de maçã.

Etapas	Identificação de Pontos Críticos/Implantação de Medidas de Controle	Objetivos
1. Pré-colheita	BPA (Boas Práticas Agrícolas)	Evitar o crescimento de <i>Penicillium expansum</i> e conseqüente produção de patulina, a qual está associada com frutas defeituosas. As BPAs poderão minimizar defeitos no fruto causados por insetos e pássaros e conseqüentemente os níveis de contaminação por fungos.
2. Colheita	1° PCC (Ponto Crítico de Controle)	Descartar maçãs apodrecidas e defeituosas durante a colheita pode reduzir a contaminação a níveis aceitáveis.
3. Armazenamento	BPAs e BPFs (Boas Práticas de Fabricação)	Reduzir o apodrecimento das frutas e, conseqüentemente, a produção de patulina durante o período de armazenamento. É importante que o tempo de armazenamento seja reduzido quando não houver refrigeração.

continua...

...continuação Quadro 4

4. Transporte	BPA's	Reduzir qualquer injúria física ocorrida nesta etapa, incluindo carga e descarga, a qual poderá predispor a fruta ao ataque de fungos e possível produção de patulina. A correta manipulação da fruta e utilização de baixas temperaturas, em períodos de transportes mais longos, são necessários.
5. Recepção	2° PCC / BPF	Evitar recepção de lotes apresentando alta porcentagem de frutas defeituosas e apodrecidas.
6. Seleção	3° PCC	Remover as frutas visivelmente contaminadas. O ponto crítico desta etapa consiste na percentagem aceitável de maçãs mofadas que permanecerão após a seleção que deve ser realizada por um supervisor treinado.
7. Lavagem	4° PCC	Remover polpas apodrecidas das frutas através da utilização de água com alta pressão. Os níveis de patulina serão reduzidos nesta etapa, no entanto os esporos ficarão suspensos na água podendo aumentar o risco de crescimento fúngico durante o armazenamento.
8. Armazenamento pós lavagem	5° PCC	Prevenir o crescimento fúngico e produção de patulina através do armazenamento a baixas temperaturas. Caso não haja refrigeração, o tempo deve ser reduzido.
9. Processo de extração	BPF's	Garantir que as máquinas de prensa permanecerão regularmente limpas prevenindo a instalação de fungos provenientes dos resíduos de maçãs os quais constituem uma fonte de contaminação por patulina.
10. Filtração	6° PCC	Remover uma fina camada, rica em partículas de patulina, em suspensão no suco bruto. Este ponto crítico é monitorado por avaliação microscópica de amostras do suco de maçã.
11. Pasteurização	7° PCC	Controlar o risco da patulina considerando-se que elimine os esporos de <i>P. expansum</i> ; embora espécies termorresistentes como <i>Byssoschlamys</i> devam ser consideradas, pois a temperatura de pasteurização não elimina seus ascósporos.
12. Embalagem	BPF	Impedir a recontaminação do suco por microrganismos e esporos.
13. Armazenamento e comercialização	BPF	Não é provável que nesta etapa ocorra contaminação subsequente por patulina.

Outro método que pode contribuir para o controle de patulina é a aplicação de ozônio durante o processo de lavagem das maçãs, realizado antes da prensagem (CODEX ALIMENTARIUS, 2003). Karaca e Velioglu (2007) verificaram que o tratamento de sucos de maçã com ozônio, associado a valores baixos de pH e elevados para temperatura, foi eficaz para degradar a patulina presente.

A eficácia de medidas de controle pode ser comprovada ao se analisar os resultados de pesquisas como as realizadas por Leggott e Shephard (2001), na África do Sul, os quais demonstraram concentrações de patulina abaixo do nível de segurança recomendado pela OMS; e por Machinski Junior e Midio (1996) no Brasil que, das 73 amostras analisadas, apenas uma excedeu o limite máximo tolerável. Ambos os resultados indicam a presença de frutas de boa qualidade no processamento.

Comunicação do Risco

A contaminação dos produtos por patulina pode resultar em perdas econômicas, devido à sua rejeição pelo mercado importador, compreendendo custos de desintoxicação com vistas a tornar o produto aceitável, uma vez que a presença desta toxina pode ser usada como um indicador da qualidade de sucos e produtos de frutas processadas, pois sua concentração não se altera após o processamento, com exceção da cidra.

Embora a presença da patulina esteja, principalmente, relacionada com a área afetada da fruta, as partes não afetadas, consideradas sadias, também podem estar contaminadas, conforme descrito por Taniwaki et al. (1992) que estudaram a migração da patulina em maçãs e verificaram a penetração da toxina em até um centímetro da região sadia da fruta.

Conclusão

Resultados laboratoriais, mostrando os efeitos deletérios da patulina em cobaias e em células intestinais humanas *in vitro*, vêm sendo motivo de preocupação das autoridades de saúde pública em diversos países, principalmente quanto ao consumo de maçã e seus produtos derivados (matrizes mais suscetíveis a contaminação por fungos produtores desta micotoxina). Esses resultados, embora não sejam conclusivos em relação à saúde humana, evidenciam o potencial toxigênico deste metabólito inferindo a necessidade da implementação de medidas de controle suficientemente eficazes, a fim de reduzir a contaminação de maçãs por fungos produtores de patulina.

Tendo em vista os dados obtidos a respeito deste contaminante, infere-se que a Análise de Risco, ao apresentar um caráter investigativo, atua como uma ferramenta eficaz de apoio às autoridades de saúde pública, à medida que alerta para os riscos, neste caso, decorrentes da ingestão de algum alimento, que uma determinada população está exposta e oferece, através de seus componentes, alternativas de gerenciamento e controle com vistas a tornar o alimento seguro.

No Brasil, o consumo de maçãs é mais elevado nas regiões sul e sudeste, por isso, as populações destas regiões apresentam um maior grau de exposição à patulina e, conseqüentemente, estão mais susceptíveis aos efeitos deste contaminante. Desta forma, é aconselhável que sejam introduzidos em nossa legislação limites máximos para esta micotoxina,

observando as orientações do Codex Alimentarius para controlar a presença e concentração nos produtos alimentícios de maior incidência, maçãs e produtos que tenham a fruta em sua composição.

Referências Bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ. Disponível em: <<http://www.abpm.org.br>>. Acesso em: 25 mar. 2007.

BHAT, R. V.; VASANTHI, S. Mycotoxin food safety risk in developing countries. In: UNNEVEHR, L. J. (Ed.). **Food safety in food security and food trade**. Disponível em: <<http://www.ifpri.org/2020/focus/focus10/focus10.pdf>>. Acesso em: 14 maio 2007.

BIBI, R.; PELLI, S.; PECORELLI, I. Determination of patulin in apple juice, solid apple products and solid apple products intended for infants and young children by HPLC-DAD: method validation according to Commission Regulation (EC) N° 401/2006. In: INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS AND PHYCOTOXINS, 12., 2007, Istanbul, Turkey. **Proceedings...**, 2007.

CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION (Estados Unidos). Office of Plant and Dairy Foods and Beverages. **Patulin in apple juice, apple juice concentrates and apple juice products**. 2001. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/patubck2.html>>. Acesso em: 17 ago. 2006.

CHERAGHALI, A. M.; MOHAMMADI, H. R.; AMIRAHMADI, M.; YAZDANPANAH, G. A.; ABOUHOSSAIN, G.; ZAMANIAN, F.; KHANSARI, M. G.; AFSHAR, M. Incidence of patulin contamination in apple produced in Iran. **Food Control**, 16, p.165-167, 2005.

CODEX ALIMENTARIUS. **Código de Prácticas para la Prevención y la Reducción de la Contaminación por Patulina del Zumo (Jugo) de Manzana e Ingredientes de Zumo (Jugo) de Manzana en Otras Bebidas**. CAC/RCP 50–2003. 2003. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/download/standards/405/CXC_050s.pdf> Acesso em: 02 out. 2006.

COELHO, A. R.; HOFFMANN, F. L.; HIROOKA, E.Y. Biocontrole de doenças pós-colheita de frutas por leveduras: perspectivas de aplicação e segurança alimentar. **Semina**. Ciências Agrárias, Londrina, v. 24, n. 2, p. 337-358, jul./dez. 2003.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (São Paulo). **Manual de gerenciamento de áreas contaminadas**. São Paulo:

CETESB, 2004. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/Capitulo_IX.pdf> Acesso em: 03 mar. 2007.

FAO/WHO. **Hazard characterization for pathogens in food and water: guidelines**. 2003. (Microbiological risk assessment series, n. 3). Disponível em: <<http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241562374.pdf>>. Acesso em: 19 jun. 2007.

FERNANDES, F. C. Micotoxinas: risco biológico para trabalhadores em aviários. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, Belo Horizonte, v. 2, n. 3, p. 200-208, jul./set. 2004.

FERNÁNDEZ-TREVEJO, E. O; VERDÉS, J. A. A; ESPINOSA, R. S. Validación de um método para la determinación de patulina em jugos y purês de frutas por HPLC. **Revista Cubana de Alimentación y Nutrición**. v. 15, n. 1, p. 20-25, 2001.

FONSECA, H. **Micotoxinas**. Disponível em: <<http://www.micotoxinas.com.br>>. Acesso em: 04 ago. 2006.

GÖKMEN, V.; ACAR, J. Incidence of patulin in apple juice concentrate produced in Turkey. **Journal of Chromatography A**, v. 815, p. 99-102, 1998.

GONÇALEZ, E.; PINTO, M. M.; FELICIO, J. D. Análise de Micotoxinas no Instituto Biológico de 1989 a 1999. **Biológico**, São Paulo, v. 63, n. 1/2, p. 15-19, jan./dez. 2001.

HOCKING, A. D.; PITT, J. I.; SAMSON, R. A.; THRANE, U. **Advances in food mycology**. New York: Springer, 2006.

HOFFMANN, M. V. G. S. **Estudo da resistência térmica *Byssoschlamys nivea* e *Talaromyces flavus* em suco de maçã**. 2004. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química e Engenharia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Disponível em: <<http://www.iarc.fr>>. Acesso em: 08 jun. 2007.

JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. **Evaluation of certain food additives and contaminants: forty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives**. Geneva: WHO, 1995. (WHO Technical Report Series, 859). p. 36-38.

JOINT FAO/WHO EXPERT CONSULTATION ON THE APPLICATION OF RISK ANALYSIS TO FOOD STANDARDS ISSUES. **Application of risk analysis to food standards issues: report of the Joint FAO/WHO Expert**

Consultation. WHO/FNU/FOS/95.3. Geneva, Switzerland, 13 - 17 March 1995. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/march1995.pdf>>. Acesso em: 19 jun. 2007.

KÄFERSTEIN, F. K. Food safety as a public health issue developing countries. In: UNNEVEHR, L. J. (Ed.). **Food safety in food security and food trade**. Disponível em: <<http://www.ifpri.org/2020/focus/focus10/focus10.pdf>>. Acesso em: 14 maio 2007.

KARACA, H.; VELIOGLU, H. Ozone application, as a promising technology for patulin degradation: influence of pH and temperature. In: INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS AND PHYCOTOXINS, 12., 2007, Istanbul, Turkey. **Proceedings...**, 2007.

KAWASHIMA, L. M.; SOARES, L. M. V.; MASSAGUER, P. R. The development of an analytical method for two mycotoxins, patulin and verruculogen, and survey of their presence in commercial tomato pulp. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 33, n. 3, jul./sep. 2002.

LEGGOTT, N. L.; SHEPHARD, G. S. Patulin in South African commercial apple products. **Food Control**, v. 12, p. 73-76, 2001.

LEVY, R. M.; HIROOKA, E. Y. Detoxificação de patulina por leveduras antagonistas a *Penicillium* spp. **Ciênc. Biol. Saúde**, Londrina, v. 1, n. 1, p. 57-62, 1999.

MACHINSKI JUNIOR, M.; MIDIO, A. F. Incidência de patulina em jugo de manzana industrializado. **Alimentaria**, p. 61-64, oct. 1996.

MAHFOUD, R.; MARESCA, M.; GARMY, N.; FANTINI, J. The micotoxin patulin alters the barrier function of the intestinal epithelium: mechanism of action of the toxin and protective effects of glutathione. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 181, p. 209-218, 2002.

McELHATTON, A.; MARSHALL, R. J. The challenge of mycotoxins. In: **Food safety: a practical and case study approach**. New York: Springer, 2007. cap. 2, p. 26-49.

MELLO, L. M. R. de. **Produção e mercado da maçã brasileira**: panorama 2005. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006. 4 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 64).

MERCOSUL. Grupo Mercado Comum. Resolução nº 59, de 29 de setembro de 1999. **Princípios, Diretrizes, Critérios e Parâmetros para o Reconhecimento da Equivalência dos Sistemas de Controle de Alimentos entre os Estados Partes do MERCOSUL**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/mercosul/alimentos/59_99.htm>. Acesso em: 14 mar. 2007.

PÁDUA, R. A. F. de; MACHINSKI JUNIOR, M. Aspectos toxicológicos e ocorrência de patulina em suco de maçã. **Semina**. Ciências Agrárias, Londrina, v. 26, n. 4, out./dez. 2005.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; DENARDI, F.; WOSIACKI, G. Análise da aptidão industrial de seis cultivares de maçãs, considerando suas avaliações físico-químicas (dados da safra 2001/2002). **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 28, n. 6, p.1336-1343, nov./dez. 2004.

PEREZ, L. H. **Produção da maçã**: produção e comércio internacional de maçã, 2003 a 2005. Data Edição: 02/10/2006. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=13795>. Acesso em: 27 mar. 2007.

PIETRA, J.; MORENO, M. A.; DIAS, S.; SUÁREZ, G.; DOMINGUEZ, L. Survey of patulin in apple juice and children's apple food by the diaphasic dialysis membrane procedure. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 42, p. 1701-1703, 1994.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S. de; CUNHA, M. R. da; GOMES, M. de R.; ABRANTES, M. R.; SANTOS, L. G. dos; VELOSO, T.; BARROSO, R. E. de S. Ocorrência de patulina em suco de maçã por cromatografia líquida de alta eficiência. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 59, n. 1/2, p. 21-25, 2000.

RECOMENDAÇÃO da Comissão de 11 de Agosto de 2003, relativa à prevenção e redução da contaminação por patulina do sumo de maçã e dos ingredientes do sumo de maçã noutras bebidas. **Jornal da União Européia**. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/pt/oj/2003/L_203/L_203200308/2pt00540059.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2007.

RICHARD, J. L.; PAYNE, G. A.; DESJARDINS, A. E. Risk assessment and regulations for mycotoxins. In: MYCOTOXINS: risks in plant, animal, and human systems. Iowa: Council for Agricultural Science and Technology, 2003. cap. 8, p. 104-128.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SABINO, M. Micotoxin research in Brazil: the last decade in review. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 1-11, 2002.

ROSS, G. U.; TANIWAKI, M. H.; SABINO, M.; VIZONI, T.; HIROOKA, E. Y. Produção de patulina em maçã (*Malus domestica* Borkhausen), cultivares gala e fuji inoculadas com *Penicillium* spp. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 18, n. 1, jan./abr. 1998.

ROVISCO, I. **Tipos de análise de risco**. Disponível em: <<http://www.dct.fct.unl.pt/Ensino/cursos/Disc/Geoamb/Analiserisco.pdf>>. Acesso: 15 maio 2007.

SAMSON, R. A.; HOESKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. Ascomycetes, Aspergillus, Penicillium, Deuteromycetes. In: SAMSON, R. A. (Ed.). **Introduction to food-borne fungi**. 4. ed. Baarn: CBS, 1995. cap. 1, p. 30; 52; 120; 170.

SANHUEZA, R. M. V. **Produção integrada de maçãs no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. (Embrapa Uva e Vinho. Sistemas de Produção, 1). Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/ProducaoIntegradaMaca/>>. Acesso em: 17 mar. 2007.

SERRA, R. **Microflora das uvas portuguesas e seu potencial para a contaminação das uvas com micotoxinas, com destaque para a Ocratoxina A**. 2005. 399 f. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) - Universidade do Minho, Portugal.

SILVA, V.; AMARAL, A. M. P. Segurança alimentar, comércio internacional e segurança sanitária. **Informações Econômicas**, v. 34, n. 6, jun. 2004.

TANIWAKI, M. H.; BLEINROTH, E. W.; MARTIN, Z. J. Bolores produtores de patulina em maçã e suco industrializado. **Colet. ITAL**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 42-49, 1989.

TANIWAKI, M. H.; HOENDERBOOM, C. J. M.; VITALI, A. A.; EIROA, M. N. U. Migration of patulin in apples. **Jornal of Food Protection**, v. 55, nov. 1992.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. **Fungos em alimentos: ocorrência e detecção**. Campinas: Núcleo de Microbiologia/ITAL, 2001.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. Laboratório de Análises Micotoxicológicas. **Atividade de água**. Disponível em: <http://www.lamic.ufsm.br/info_aw.html>. Acesso em: 22 abr. 2007a.

_____. **Legislação sobre micotoxinas**. Disponível em: <<http://www.lamic.ufsm.br/legislacao>>. Acesso em: 22 abr. 2007b.

UNNEVEHR, L. J. Overview. In: UNNEVEHR, L. J. (Ed.). **Food safety in food security and food trade**. Disponível em: <<http://www.ifpri.org/2020/focus/focus10/focus10.pdf>>. Acesso em: 14 maio 2007.

VISMER, H. F.; SYDENHAM, E. W.; SCHLECHTER, M.; BROWN, N. L.; HOCKING, A. D.; RHEEDER, J. P.; MARASAS, W. F. O. Patulin-producing *Penicillium* species isolated from naturally infected apples in South Africa. **South African Journal of Science**, v. 92, nov./dec. 1996.

YURDUN, T.; OMURTAG, G. Z.; ERSOY, O. Incidence of patulin in apple juices marketed in Turkey. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 11, p. 1851-1853, 2001.



Agroindústria de Alimentos