

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

RAFAEL BATISTA COLAÇO

**DETERMINAÇÃO DE MICOTOXINA DESOXINIVALENOL (DON) EM
GRÃOS DE TRIGO SECOS E UMEDECIDOS DE DIFERENTES
NACIONALIDADES**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2019

RAFAEL BATISTA COLAÇO

**DETERMINAÇÃO DE MICOTOXINA DESOXINIVALENOL (DON) EM
GRÃOS DE TRIGO SECOS E UMEDECIDOS DE DIFERENTES
NACIONALIDADES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, da Coordenação de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Luis Alberto Chavez Ayala

PONTA GROSSA

2019



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Ponta Grossa

Diretoria de Graduação e Educação Profissional

Departamento Acadêmico de Engenharia de
Bioprocessos e Biotecnologia



TERMO DE APROVAÇÃO

DETERMINAÇÃO DE MICOTOXINA DESOXINIVALENOL (DON) EM GRÃOS DE TRIGO SECOS E UMEDECIDOS DE DIFERENTES NACIONALIDADES

por

RAFAEL BATISTA COLAÇO

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 20 de novembro de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^o. Msc. Luis Alberto Chavez Ayala
Prof. Orientador.

Prof^a. Dra. Sabrina Avila Rodrigues
Membro titular

Prof^a. Msc. Simone Bowles
Membro titular.

***O termo de aprovação original assinado pelos membros da banca está arquivado na
coordenação de alimentos.***

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ser tão paciente comigo e ter me dado a sabedoria e o conhecimento que tenho hoje. Tudo em minha vida dou graças a Ele.

Agradeço a minha linda tia Delair por ter me incentivado todos os dias a ir para a faculdade e sempre me apoiar nas escolhas do curso.

Não posso esquecer-me da minha líder linda Viviane. Obrigado pelas orações e pelo incentivo nos trabalhos e pela motivação para fazer meu TCC.

Obrigado também Vanessa por me apresentar este curso e pela ajuda que me deu no começo referente às bolsas.

Obrigado a Lorena Prado por me ajudar a conseguir as latas utilizadas para as análises.

Agradeço aos professores do curso por serem tão atenciosos no ensino. Tudo o que sei é graças a vocês.

Obrigado professor Luis Alberto Chavez Ayala por me orientar nessa etapa do curso tão importante. Você é 10.

Agradeço também ao Moinho Cidade Bella pela oportunidade de trabalhar no laboratório e aperfeiçoar minhas práticas aprendidas no curso. Obrigado também por bancar minhas análises deste trabalho.

Obrigada VCG por durante três anos e meio em um ônibus apertado e quente me motivar a comprar um carro, embora ainda não tenha feito.

Então tomou Samuel uma pedra,
e a pôs entre Mizpá e Sem, e
chamou-lhe Ebenézer; e disse:
Até aqui o Senhor nos ajudou.
(1 Samuel 7:12)

RESUMO

COLAÇO, Rafael Batista. **Determinação de micotoxina desoxinivalenol (DON) em grãos de trigo secos e umedecidos de diferentes nacionalidades.** 2019. 34 p. Trabalho de Conclusão de Curso de Tecnologia em Alimentos – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2019.

O trigo é um dos grãos mais consumidos no Brasil. Sua maior utilização é feita através do processamento do grão para obtenção da farinha, que é comumente utilizada em padarias para a confecção de bolos e pães. Como todo alimento, o trigo é alvo de contaminações por microrganismos e por ser um alimento seco, seu maior inimigo são as micotoxinas produzidas pelos bolores da família tricotecenos. A contaminação pode ocorrer durante a colheita ou após. Os fungos capazes de produzir a toxina Desoxinivalenol (DON) são os *Mirothecium*, *Cephalosporium*, *Verticimosporium*, *Stachybotrys* e principalmente *Fusarium*. A ingestão em níveis alarmantes pode causar vários danos à saúde humana. A legislação brasileira determinou que o nível tolerável para presença da micotoxina DON no trigo é de 3000 partes por bilhão, levando em consideração o processamento do trigo até se tornar farinha e o limite reduzir para 750 partes por bilhão desta micotoxina. Com as análises realizadas neste trabalho, objetivou-se determinar em 30 dias se há a possibilidade dos níveis da micotoxina desoxinivalenol ficarem acima do permitido pela legislação legal vigente em amostras de trigo nacional e importados. Foram realizados testes com trigo umedecido, que durou 18 dias, e com o trigo seco, com duração de 35 dias. Os resultados foram conclusivos e verificou-se que após 35 dias de armazenamento, os níveis de DON mantiveram-se adequados para processamento e consumo.

Palavras-chave: Micotoxinas. Trigo. Desoxinivalenol.

ABSTRACT

COLAÇO, Rafael Batista. **Determination of deoxynivalenol mycotoxin (DON) in dried and wet wheat grains of different nationalities.** 2019. 34 p. Food Technology Course Completion Paper - Federal Technological University of Paraná. Ponta Grossa, 2019.

Wheat is one of the most consumed grains in Brazil. Its greatest use is made by processing the grain to obtain flour, which is commonly used in bakeries to make cakes and breads. Like all foods, wheat is the target of contamination by microorganisms and being a dry food, its biggest enemy is the mycotoxins produced by the trichothecene family molds. Contamination may occur during or after harvest. The fungi capable of producing the deoxynivalenol toxin (DON) are *Mirothecium*, *Cephalosporium*, *Verticimosporium*, *Stachybotrys* and mainly *Fusarium*. Ingestion at alarming levels can cause various damage to human health. Brazilian law has determined that the tolerable level for the presence of DON mycotoxin in wheat is 3000 parts per billion, taking into account the processing of wheat to flour and the limit to reduce to 750 parts per billion of this mycotoxin. With the analyzes performed in this work, the objective was to determine in 30 days if there is a possibility that the levels of deoxynivalenol mycotoxin are above the allowed by the current legislation in national and imported wheat samples. Tests were performed with 18 days moistened wheat and 35 days dry wheat. The results were conclusive and it was found that after 35 days of storage, DON levels remained adequate for processing and consumption.

Keywords: Mycotoxins. Wheat. Deoxynivalenol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espaçamento das plantas de trigo.....	12
Figura 2 - Folha de trigo com a doença Ferrugem da Folha.	13
Figura 3 - Trigo com a doença Giberela.....	14
Figura 4 - Processamento do grão de trigo até seus derivados fins.....	16
Figura 5 - Equipamento para leitura das amostras Stat Fax 4700 Awareness Technology Inc. com filtro de leitura 650nm.	21
Figura 6 - Separação das amostras para suas devidas análises e armazenamento.....	23
Figura 7 - Identificação dos micropoços.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Limites máximos tolerados (lmt) para Aflatoxina em ppb.	18
Tabela 2 - Limites máximos tolerados (lmt) para Zearalenona em ppb.....	19
Tabela 3 - Limites máximos tolerados (lmt) para Ocratoxina em ppb.	19
Tabela 4 - Limites máximos tolerados (lmt) paraDesoxinivalenol em ppb.....	20
Tabela 5 - Fórmula para umedecer 700g de amostra.	22
Tabela 6 - Fórmula para umedecer 350g de amostra.	23
Tabela 7 - Identificação da nacionalidade das amostras.....	24
Tabela 8 - Resultados iniciais de DESOXINIVALENOL para trigo seco, em ppb.	27
Tabela 9 - Resultados finais de DESOXINIVALENOL para trigo seco, em ppb.	28
Tabela 10 - Resultados de DESOXINIVALENOL para trigo umedecido, em ppb.	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
3.1 TRIGO	11
3.2 CULTIVO DO TRIGO	11
3.3 PRINCIPAIS DOENÇAS E CONTROLE	13
3.3.1 FERRUGEM DA FOLHA.....	13
3.3.2 GIBERELA	13
3.4 COLHEITA	14
3.5 ARMAZENAMENTO.....	14
3.6 MOAGEM DO TRIGO (FLUXOGRAMA).....	16
3.7 PRINCIPAIS MICOTOXINAS	17
3.7.1 DESOXINIVALENOL (DON).....	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1 MATERIAIS	21
4.2 MÉTODOS	22
4.2.1 UMEDECENDO AS AMOSTRAS	22
4.2.2 PROCEDIMENTO.....	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
5.1 TRIGO SECO	27
5.2 TRIGO ÚMIDO	29
5.3 COMPARANDO RESULTADOS	30
5.4 POSSÍVEIS INTERFERÊNCIAS	30
6 CONCLUSÃO.....	32
7 REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

A produção de trigo no Brasil tem predominância na região sul do país, tendo como líder em produção o estado do Paraná, responsável por 53% da produção e Rio Grande do Sul, com 30% da produção. É um produto que contribui significativamente para a ingestão diária de calorias e mesmo o Brasil possuindo uma grande produção, a demanda de consumidores e produtos fabricados exige a importação dos produtos por outros países (SANTOS *et al.*, 2010).

O trigo é responsável por um leque gigantesco de produtos. Todo o grão é aproveitado e sua destinação vai para os mais variados tipos de produto. A farinha extraída é utilizada por padarias e donas de casa na confecção de pães e bolos. É utilizada também pela indústria para a confecção de massas alimentícias como macarrão, lasanha etc. O gérmen, conhecido como ração por algumas indústrias, é destinado para a produção de ração animal, extração de óleo e uso farmacêutico. O farelo é usado para a produção de ração animal e também usado como complemento alimentar de fibras para alguns alimentos dietéticos (GUARIENTI, 1996).

Uma das preocupações, desde o plantio do trigo até o seu processamento, é a contaminação por desoxinivalenol. Essa é uma micotoxina conhecida por DON, produzida por um fungo da família *Fusarium*. Ela causa uma doença no grão do trigo chamada fusariose. No homem e em animais, pode causar náuseas, vômitos e diarreia. A contaminação e a proliferação do fungo, junto com a produção da micotoxina devem-se as condições climáticas e de temperaturas, e as práticas de cultivo do grão (DOMINGUES, 2007).

O fungo em suas condições ideais de temperatura e ambiente tende a crescer e aumentar a produção de sua micotoxina. Com base nisso, o presente trabalho tem como objetivo verificar o tempo de armazenamento do grão de trigo sem que haja a contaminação por desoxinivalenol a níveis que ultrapassem os estipulados pela legislação legal vigente, utilizando trigos de diferentes nacionalidades e teores de umidade.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Quantificar o teor da micotoxina desoxinivalenol em grãos de trigos secos e umedecidos de diferentes nacionalidades, a fim de verificar quanto tempo o mesmo permanece armazenado sem que haja o aumento da micotoxina além dos padrões estabelecidos pela RDC N° 138, de 8 de fevereiro de 2017.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o tempo adequado para armazenamento do grão de trigo.
- Verificar o trigo de qual nacionalidade apresenta valores para Desoxinivalenol mais satisfatórios.
- Analisar diferentes teores de umidade do grão de trigo e relacionar a diferença dos teores de micotoxinas.
- Levantar hipóteses de possíveis meios de contaminação do trigo e interferências no processamento.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 TRIGO

A farinha de trigo é com certeza um dos produtos mais utilizados pela culinária brasileira. Seus derivados podem estar presentes em todas as refeições, desde o pão do café da manhã até o macarrão do jantar. Por ser um alimento bastante consumido, seu padrão de qualidade deve possuir uma atenção elevada. Embora seja um alimento seco, a possibilidade do crescimento de microrganismos e pragas em seu cultivo é considerável (GUARIENTI, 1996).

O trigo é um grão formado basicamente pelo endosperma, pericarpo e germe. Sua participação no ramo alimentício varia de humanos para animais. O farelo que é obtido no processo de moagem pode ser usado na fabricação de ração animal, assim como o gérmen (GUARIENTI, 1996).

Seguindo a INSTRUÇÃO NORMATIVA SARC Nº 7, DE 15 DE AGOSTO DE 2001, trigo é o grão proveniente das espécies *Triticumaestivum L.* e *Triticumdurum L.* O trigo é classificado em cinco classes: Trigo Brando, Trigo Pão, Trigo Melhorador, Trigo para outros usos e Trigo Durum, que são definidas em função da força do glúten e número de queda do falling number (PALMA, 2001).

3.2 CULTIVO DO TRIGO

O cultivo do trigo depende tanto das condições do grão quanto da sua localização. O manuseio adequado também interfere na qualidade de seu crescimento. As boas práticas de colheita e plantio determinam a boa qualidade do produto final.

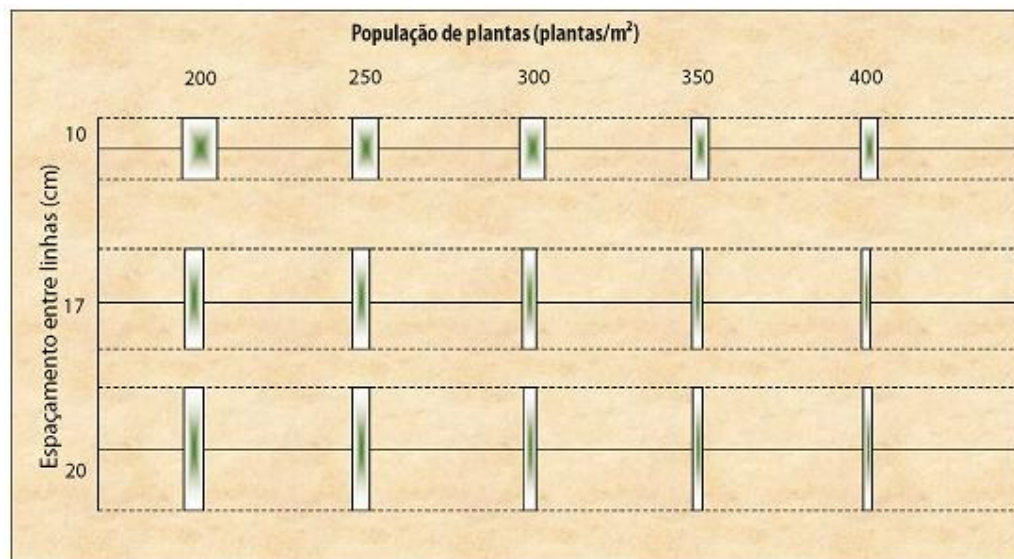
Primeiramente, o cultivar precisa estar registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. O grão adequado para cultivo precisa também apresentar algumas características como resistência as principais doenças, estatura da planta baixa, resistência à debulha natural e aptidão industrial definida (BORÉM, 2015).

O cultivo do trigo inicia-se pelo preparo do solo e plantio, em seguida cultivares, adubação, irrigação, manejo e controle de plantas daninhas, manejo de insetos-pragas, manejo de doenças e pôr fim a colheita.

O solo precisa ser analisado e preparado pelo menos um mês antes da semeadura. Algumas correções são feitas utilizando calcário e fertilizante. O calcário é utilizado com o objetivo de corrigir a acidez do solo, o que faz as plantas conseguirem absorver mais os nutrientes que estão ali presentes. Os fertilizantes têm o objetivo de incrementar a produtividade e tem grande influência na qualidade dos grãos. O fertilizante mais utilizado é a ureia, devido seu baixo custo e grande eficácia (BORÉM, 2015).

A semeadura deve ser feita em cada região de acordo com as condições climáticas adequadas para o grão. A distribuição das plantas de trigo na área pode ser modificada pela variação na população de plantas e no espaçamento entre linhas, o que define a área disponível para cada planta de trigo na lavoura, como mostra a figura 1 (BORÉM, 2015).

Figura 1 - Espaçamento das plantas de trigo.



Fonte: Marsaro (2014).

3.3 PRINCIPAIS DOENÇAS E CONTROLE

3.3.1 Ferrugem da Folha

É identificada por manchas amarelas nas folhas da planta. Pode ocorrer nas plantas novas e nas adultas. Em temperatura de 20°C, três horas de molhamento é necessário para que essa doença ocorra e se for à temperatura mais baixa, o tempo de molhamento precisa ser maior, como mostra a figura 2 a seguir.

Figura 2 - Folha de trigo com a doença Ferrugem da Folha.



Fonte: Marsaro (2014).

O controle desta doença pode ser feito utilizando fungicida, desde que sejam aplicados no início da doença. Fungicidas de proteção podem ser usados também antes do incidente com a doença (MARSARO *et al.*, 2014).

3.3.2 Giberela

A giberela é uma doença que ataca as espigas, causando despigmentação das espiguetas afetadas. Os grãos aí produzidos são chochos, enrugados e de coloração branca a rosada, como mostra a figura 3, na sequência.

Figura 3 - Trigo com a doença Giberela.



Fonte: Marsaro (2014)

Para o controle, uma alternativa que pode ser agregada no manejo dessa doença é o escape, por meio de escalonamento de semeadura e uso de cultivares com ciclos reprodutivos diferentes, evitando assim a coincidência de condições favoráveis e fases reprodutivas das cultivares (MARSARO *et al.*, 2014).

3.4 COLHEITA

A colheita é a etapa da produção de trigo mais importante de todo o processo, principalmente para garantir a boa qualidade do trigo no final da produção. As regulagens dos cilindros de colheita devem estar regulares e compatíveis com a umidade do grão. Quaisquer irregularidades podem ocasionar na perda de boa porcentagem da colheita (MARSARO *et al.*, 2014).

Após a colheita, o trigo passa pela secagem, onde o trigo tende a ter sua umidade padronizada em 13%. Alguns lotes de trigo possuem umidade em torno de 16%, e para reduzir esse teor, deve-se realizar uma secagem lenta para não danificar o grão e não prejudicar na boa qualidade do produto final (MARSARO *et al.*, 2014).

3.5 ARMAZENAMENTO

No Brasil, a perda de grãos no armazenamento chega a 10% do volume total de produção. Isso se deve a fatores como temperatura e umidades inadequadas,

pois, esses dois fatores estando fora do correto, permitem a proliferação de pragas e microrganismos patogênicos e deterioradores do trigo (MARSARO *et al.*, 2014).

As principais causas da perda em quantidade e qualidade do trigo são

- A carência de estrutura física para armazenagem;
- Logística deficiente;
- Escassez de treinamento e de capacitação para colaboradores;
- Ausência de segregação dos produtos agrícolas de acordo com sua qualidade tecnológica e inocuidade.

Os fatores que precisam ser cuidados na hora do armazenamento do trigo são as pragas que podem destruir a estrutura do grão e a proliferação de fungos que liberam micotoxinas patogênicas à saúde do homem (EMBRAPA, 2015).

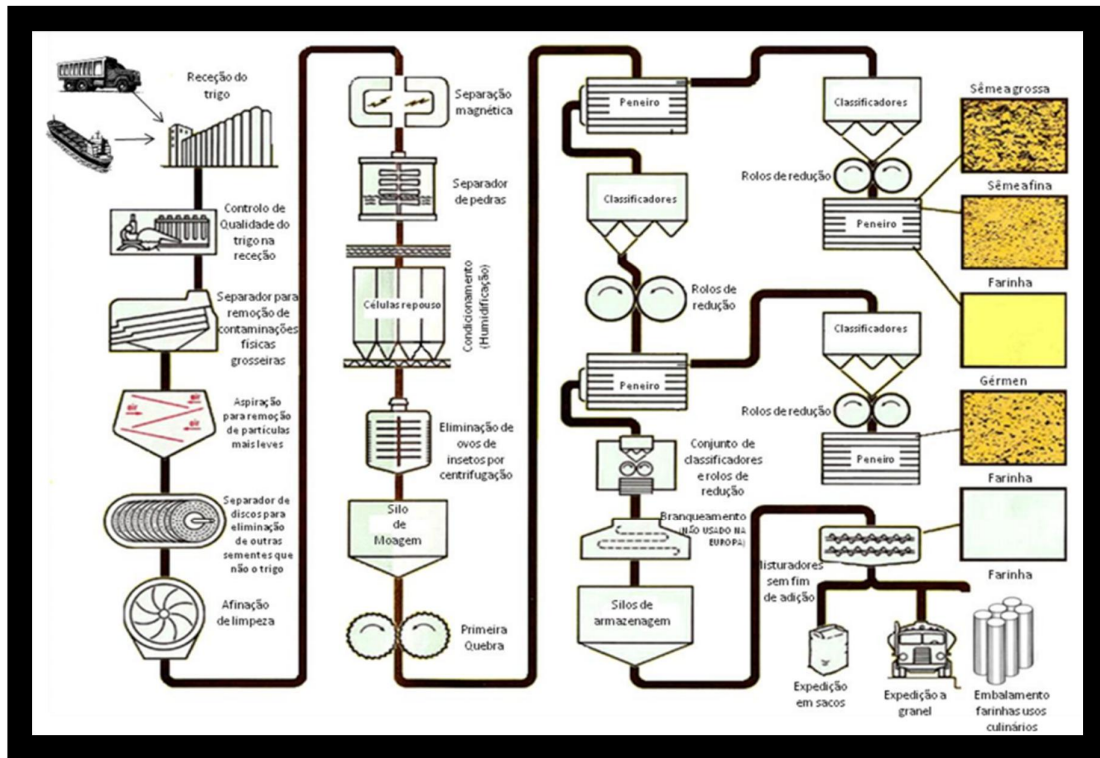
Algumas medidas preventivas devem ser tomadas no armazenamento do trigo, dentre elas se destaca:

- A umidade do trigo deve estar no máximo em 13%. Caso contrário, a possibilidade do crescimento de fungos aumenta;
- A limpeza e higienização adequada dos silos. Vestígios de sujeira são atrativos para pragas se acomodarem e crescimento de microrganismos;
- Pulverização adequada de pesticidas e produtos que visam inibir a presença de pragas e microrganismo;
- Tomar cuidado na mistura de lotes de grão nos silos. Um lote pode estar infestado e outro não;
- Manter a temperatura baixa e adequada, assim o tempo de vida do grão pode se estender;
- Permitir a circulação de ar no silo, assim a temperatura e a umidade baixam e o trigo pode ser armazenado por mais tempo.

4 MOAGEM DO TRIGO (FLUXOGRAMA)

A moagem é o processo que vai separar a farinha do farelo e do gérmen, como mostra a figura 4.

Figura 4 - Processamento do grão de trigo até seus derivados fins.



Fonte: Antunes (2014)

O processamento do trigo começa com a recepção da matéria prima. O trigo deve ser transportado de modo correto, visando inibir qualquer tipo de contaminação ou sujeira exterior. O trigo chegando ao centro de processamento, um responsável técnico faz a coleta de amostras para que o mesmo seja analisado. As análises físico-químicas vão determinar a finalidade do trigo.

Após a recepção, o trigo passa por uma peneira onde materiais grosseiros ficam para trás, em seguida, os materiais mais leves são aspirados. O trigo passa por um disco onde os grãos que não são trigo são separados. É bastante comum encontrar grãos de soja e milho no meio do trigo. Essa contaminação pode ocorrer no momento da colheita.

É comum as porcas e parafusos dos equipamentos se desprenderem e irem junto com os grãos. Alguns materiais metálicos passam pelas peneiras, assim, o trigo passa por um separador magnético que puxa o material metálico. Não somente metais, mas pedras também se passam como trigo, assim, um separador de pedras é utilizado para remoção das mesmas.

O trigo chega aos centros de processamento com umidade variando de 11% até no máximo 13%. No processo de moagem, a temperatura do grão, somado a temperatura do equipamento e do ambiente tende a promover a desidratação do grão. Por este motivo, realiza-se a umidificação do trigo e o repouso, para que no final do processo, a farinha se estabilize com umidade em torno de 14%.

Na moagem propriamente dita, o trigo passa por três rolos de redução. Em cada rolo, obtém-se um produto. A pós a primeira moagem, o farelo é separado. Na segunda moagem, o gérmen é obtido e também armazenado e por fim a farinha de trigo. No ultimo rolamento, são adicionados à farinha branqueadores, ferro e ácido fólico a fim de cumprir o exigido na legislação legal vigente.

Por fim, a farinha é embalada para seus devidos fins, podendo ser a granel, em sacos ou para fins culinários. As informações aqui prestadas referente a moagem do trigo são com base nos processos de fabrico do *Moinho Cidade Bella* e da dissertação de *Patrícia Isabel da Conceição Antunes*, com o titulo *Aplicação do método da capacidade de retenção de solventes na determinação da qualidade de farinhas panificáveis*.

4.1 PRINCIPAIS MICOTOXINAS

Micotoxinas são metabólitos produzidos por fungos, patógenos à saúde humana e de animais. Os alimentos com maior índice de contaminação no mundo todo são principalmente os grãos e cereais (BERSOT *et al.*, 2010).

A produção de micotoxina depende do crescimento do fungo que a produz, sendo assim, pode ocorrer em qualquer momento do crescimento, na colheita ou no armazenamento. Os fungos mais associados a micotoxinas são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, porém, a micotoxina permanece no alimento mesmo após a morte do fungo que a produziu (IAMANAKA *et al.*, 2010).

As principais micotoxinas são as aflatoxinas (AFLA), ocratoxina A (OTA), desoxinivalenol (DON) e zearalenona (ZEA).

As Aflatoxinas estão divididas em quatro tipos: B₁, B₂, G₁ e G₂, sendo a B₁ a mais tóxica de todas, causando diversos problemas de saúde em animais e nos humanos foi classificado como carcinógeno. As aflatoxinas B₁ e B₂ produzem metabolitos hidroxilados que podem estar presentes no leite e seus derivados. Na ração animal, os principais focos de contaminação por aflatoxina são o milho, caroço de algodão e torta de amendoim, segundo a Organização Mundial da Saúde. O principal órgão do corpo tanto humano quanto animal atingido é o fígado. As espécies produtoras de aflatoxinas são *Aspergillus flavus*, produtores de aflatoxinas do grupo B, *A. parasiticus* e *A. nomius*, produtores de aflatoxinas do grupo B e G (IAMANAKA *et al.*, 2010).

Os limites de AFLA estão estabelecidos na tabela 1 a seguir.

Tabela 1 - Limites máximos tolerados (lmt) para Aflatoxina em ppb.

ALIMENTO	LMT (ppb)
Cereais e produtos de cereais, exceto milho e derivados, incluindo cevada malteada.	5
Alimentos à base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	1
Milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmolas de milho	20

Fonte: Anvisa (2011)

A Zearalenona é um metabólito secundário do *Fusarium* mais comumente encontrado no milho, mas pode contaminar outros grãos como arroz e o trigo. O desenvolvimento do fungo e conseqüentemente sua micotoxina está relacionada a temperaturas e umidades elevadas. Os surtos mais comuns dessa micotoxinas são nos suínos. Os mesmos são mais sensíveis à ação de ZEA, pois, aumentam a síntese de proteína dos órgãos reprodutores, conseqüentemente, a secreção das células endometriais, a síntese das proteínas uterinas e o peso do trato reprodutivo se elevam. A toxicidade da ZEA altera o sistema imunológico e interfere nos aspectos bioquímicos da lipogênese e lipólise (HAUSCHILD *et al.*, 2007).

Os limites de ZEA estão estabelecidos na tabela 2 a seguir.

Tabela 2 - Limites máximos tolerados (lmt) para Zearalenona em ppb.

ALIMENTO	LMT (ppb)
Milho em grão e trigo para posterior processamento	40
ALIMENTO	LMT (ppb)
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

Fonte: Anvisa (2011).

As Ocratoxinas estão classificadas em sete tipos, porém, a mais nociva à saúde é a Ocratoxina A e é produzida principalmente pelo *Aspergillus alutaceus* em climas quentes e *Penicillium viridicatum* em climas frios. Se o grão for armazenado com umidade abaixo de 15%, o crescimento do fungo não acontece. A nefropatia é uma doença que acontece em todos os animais que ingerem a toxina, além disso, a ocratoxina A é cancerígena, hepatóxica e imuno-supressora (COSTA *et al.*, 2010).

Os limites de OCTA estão estabelecidos na tabela 3 a seguir.

Tabela 3 - Limites máximos tolerados (lmt) para Ocratoxina em ppb.

ALIMENTO	LMT (ppb)
Cereais para posterior processamento, incluindo grão de cevada	20

Fonte: Anvisa (2011)

4.1.1 Desoxinivalenol (DON)

É a micotoxina mais comum encontrada em grãos, principalmente nos grãos de trigo. Quando ingerida, pode causar náuseas, vômitos e diarreias. Nos animais, a ingestão dessas micotoxinas causa a perda de peso nos mesmos e a falta de apetite (FREIRE *et al.*, 2007).

A ocorrência dessa micotoxina está associada principalmente a *Fusarium graminearum* e *F. culmorum*. Os efeitos da ingestão dessa micotoxina podem

ocorrer meia hora após sua ingestão. Um controle para essa toxina não ocorre devido seus sintomas e efeitos consideravelmente não mortais (LAMARDO *et al.*, 2006).

O *Fusarium graminearum* causa a giberela ou fusariose, doenças causadas pela ingestão da micotoxina DON. Sua proliferação depende das condições meteorológicas e práticas culturais. Segundo a *International Agency for Researchon Cancer*, DON não pertence ao grupo dos carcinogênicos para humanos. Devido ser a micotoxina mais reportada no mundo, DON é utilizado como indicador de contaminação do *Fusarium spp.* (SANTOS *et. al.* 2011)

Os limites de DON estão estabelecidos na tabela 4 a seguir.

Tabela 4 - Limites máximos tolerados (lmt) para Desoxinivalenol em ppb.

ALIMENTO	LMT (ppb)
Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada.	1000
Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada.	750
Trigo e milho em grãos para posterior processamento	3000

Fonte: Anvisa (2011)

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 MATERIAIS

Para realização das análises, utilizaram-se os seguintes materiais:

- Para simular os silos de armazenamento, utilizaram-se latas de alumínio de leite em pó. No total utilizou-se 12 latas para armazenar as amostras;
- Dois Kits Veratox DON HS Quantitativo Test Kit NEOGEN Corporation;
- Equipamento para leitura das amostras Stat Fax 4700 Awareness Technology Inc. com filtro de leitura 650nm, imagem exemplificada na figura 5;
- Equipamentos de análises diárias e comuns.

Utilizou-se 39 amostras de trigo para realização de todas as análises. Foi utilizado trigo argentino, paraguaio e brasileiro. As análises foram realizadas com o trigo para posterior processamento, o mesmo sendo moído em moinho martelo para ter o gérmen, farelo e farinha toda homogeneizada. Uma análise feita somente da farinha teria resultados diferentes, não podendo ultrapassar 750 ppb.

O equipamento para leitura das amostras Stat Fax 4700 Awareness Technology Inc. com filtro de leitura 650nm deve ser ligado antes de começar as análises, de preferência 30 minutos antes da leitura dos resultados. O Kit Veratox DON HS Quantitativo Test Kit NEOGEN Corporation também deve ser retirado da refrigeração pelo menos meia hora antes de sua utilização. Todo o equipamento, os kits de análise e os materiais foram fornecidos pela empresa *Moinho Cidade Bella*.

Figura 5 - Equipamento para leitura das amostras Stat Fax 4700 Awareness Technology Inc. com filtro de leitura 650nm.



Fonte: Moinho Cidade Bella (2019)

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Umedecendo as Amostras

O objetivo é deixar algumas amostras com umidade 16,5%, para isso, determinou-se a umidade inicial do trigo com um medido de umidade e utilizou-se a seguinte fórmula:

$$x = \frac{(Umidade\ Final - Umidade\ Inicial)}{((100 - Umidade\ Final). 100). peso\ da\ amostra. 100}$$

O resultado é obtido em ml. A quantidade de água destilada é adicionada a amostra, homogeneizada e reservada em temperatura ambiente por 18 horas. Em seguida, a mesma é moída e dá-se continuidade ao procedimento para realização das análises.

Para cada tipo de trigo foi determinado a sua umidade inicial e a quantidade de amostra a ser armazenada e aplicada a fórmula, que está disposta na tabela 5. Para realizar as análises de zero dia, utilizou-se apenas 350g de cada amostra, pois não haveria incubação, então houve também a umidificação de amostras de apenas 350g como na tabela 6.

Tabela 5 - Fórmula para umedecer 700g de amostra.

Quantidade de amostra	Umidade Inicial	Fórmula aplicada	Resultado
700g	Argentino 12,53	$x = \frac{(16,5 - 12,53)}{((100 - 16,5). 100). 700.100}$	33,2 ml
700g	Nacional 13,12	$x = \frac{(16,5 - 13,12)}{((100 - 16,5). 100). 700.100}$	28,4 ml
700g	Paraguaio 12,88	$x = \frac{(16,5 - 12,88)}{((100 - 16,5). 100). 700.100}$	30,4 ml

Fonte: Moinho Cidade Bella (2019)

Tabela 6 - Fórmula para umedecer 350g de amostra.

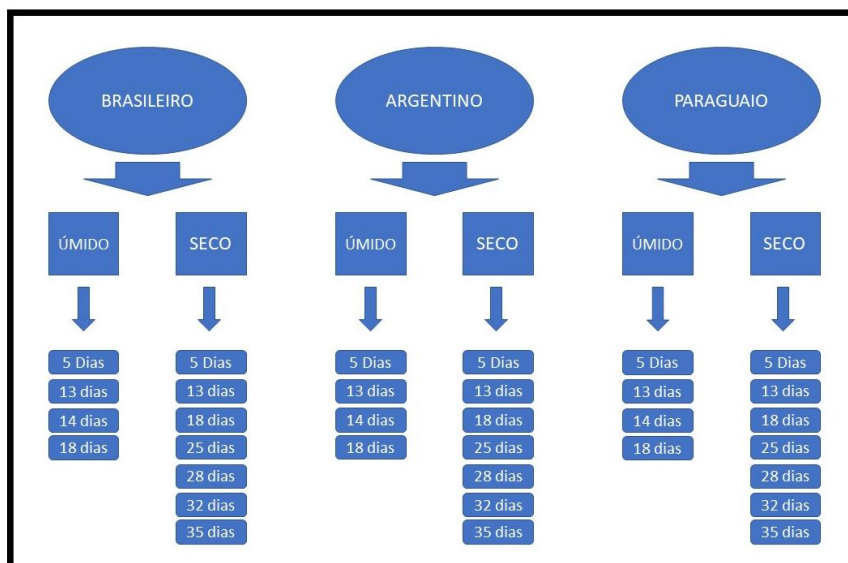
Quantidade de amostra	Umidade Inicial	Fórmula aplicada	Resultado
350g	Argentino 12,53	$x = \frac{(16,5 - 12,88)}{((100 - 16,5) \cdot 100) \cdot 350 \cdot 100}$	16,6 ml
350g	Nacional 13,12	$x = \frac{(16,5 - 12,88)}{((100 - 16,5) \cdot 100) \cdot 350 \cdot 100}$	14,2 ml
350g	Paraguaio 12,88	$x = \frac{(16,5 - 12,88)}{((100 - 16,5) \cdot 100) \cdot 350 \cdot 100}$	15,2 ml

Fonte: Moinho Cidade Bella (2019)

5.2.2 Procedimento

Inicialmente, as amostras foram coletadas por um funcionário do Moinho Cidade Bella especializado e treinado para esta função. A amostra foi coletada de maneira correta e levada ao laboratório do Moinho para suas devidas finalidades. Chegando ao laboratório, cada amostra de cada nacionalidade foi separada nas latas de alumínio e identificada. As amostras foram separadas conforme figura 13.

Figura 6 - Separação das amostras para suas devidas análises e armazenamento.



Fonte: Autoria Própria

Não foi utilizada uma lata para cada período de cada nacionalidade e cada tipo de armazenagem. As amostras foram dispostas em 12 latas, sendo três para os trigos úmidos de cada tipo para o período de até 18 dias, três para amostras secas de trigo paraguaio, três para amostras de trigo argentino e três para amostras de trigo brasileiro. As amostras foram devidamente identificadas e armazenadas em uma estufa com temperatura variante de 28°C e 32°C. No decorrer das análises, as amostras foram sendo retiradas e utilizadas.

Cada lata armazenou 700g de trigo e para a moagem foi utilizado 350g. As amostras foram moídas em moinho martelo e para cada moagem realizou-se a limpeza do equipamento para que não haja contaminação de um trigo para outro. Na medida em que o trigo foi sendo moído, as amostras foram armazenadas em embalagens plásticas e identificadas com o tipo de trigo e tempo de armazenagem. Após cada moagem a farinha integral era homogeneizada no plástico para obtenção de um resultado mais preciso de toda a amostra.

Para melhor identificação das análises, cada tipo de amostra foi identificada com um número, conforme mostra a tabela 7.

Tabela 7 - Identificação da nacionalidade das amostras.

Tipo de amostra	Identificação
Argentino	1
Nacional	2
Paraguaio	3
Argentino Úmido	4
Nacional Úmido	5
Paraguaio Úmido	6

Fonte: Autoria Própria

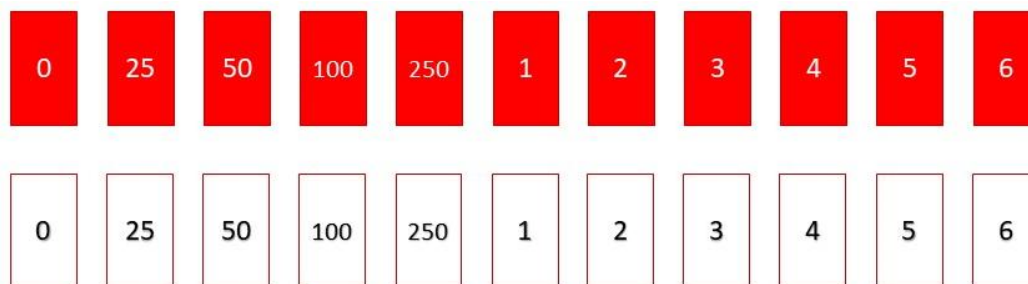
Pesou-se 10g de cada amostra em copos descartáveis de 50ml identificados com a numeração de cada amostra. No Erlenmeyer para cada amostra foi adicionado 200ml de água destilada e em seguida adicionada a amostra. A solução é homogeneizada durante 3 minutos a mão e em seguida repousada por alguns minutos para uma leve decantação das partículas sólidas.

A solução é filtrada nos copos descartáveis de 50 ml através de filtros descartáveis de café com tamanho adaptado para esta filtração. Após a filtração de pelo menos 2 ml de solução, os filtros são descartados. O kit para análise da

micotoxina desoxinivalenol foi o Veratox para DON HS NEOGEN Corporation Teste Elisa. O mesmo fica armazenado em refrigeração em temperatura ente 2-8°C e retirado da refrigeração cerca de meia hora antes de iniciar as análises.

Para saber a quantidade de micropoços a ser utilizado, soma-se a quantidade de amostras com a quantidade de reagentes de controle. No caso, são cinco reagentes de controle com seis amostras, totalizando a utilização de 11 micropoços de cada cor. Os micropoços são identificados com a quantidade em ppb de cada reagente de controle e o número de identificação de cada amostra, como mostra a figura 12.

Figura 7 - Identificação dos micropoços.



Fonte: Autoria Própria

Utilizou-se uma pipeta multicanal para adicionar 100 microlitros do reagente conjugado aos micropoços vermelhos. Descartaram-se as ponteiros e com uma pipeta simples adicionou-se 100 microlitros de cada reagente de controle em seus devidos micropoços e das amostras dispostas nos copos descartáveis. Para cada adição de reagente e amostra troca-se a ponteira. No momento da adição da amostra no micropoço, pipeta-se três vezes a solução formada para homogeneização da mesma. Em seguida, com o auxílio da pipeta multicanal, pipetou-se 100 microlitros da solução dos micropoços vermelhos para os transparentes. Homogeneizou-se manualmente por 30 segundos e incubaram-se a temperatura ambiente os micropoços transparentes por 10 minutos cronometrados.

Após a incubação, o líquido dos micropoços transparente foi descartado. Em seguida, com a ajuda de um *pisset*, lavaram-se os micropoços com água destilada cinco vezes. O excesso de água dos micropoços foi retirado batendo-os contra um papel absorvente até que não fiquem partículas de água nos mesmos. Caso não seja possível tirar as partículas do fundo, lavar mais uma vez os micropoços e

novamente batê-los contra o papel absorvente até que estejam adequados para prosseguir com a análise.

Novamente com o auxílio da pipeta multicanal, transferiu-se 100 microlitros do substrato na embalagem marrom para os micropoços transparentes. Homogeneizou-se por 30 segundos e foram incubados por 10 minutos a temperatura ambiente. Após o término da incubação, adicionou-se 100 microlitros do reagente vermelho Stop aos micropoços transparentes, pipetados 3 vezes para homogeneizar bem e em seguida levados para o equipamento que fará a análise DON. A leitura deve ser feita no máximo em 20 minutos. O equipamento que realizou a leitura das amostras foi o Stat Fax 4700 Awareness Technology Inc. com filtro de leitura 650nm. O aparelho deve estar ligado, pelo menos, meia hora antes da análise das amostras.

O resultado é impresso e multiplicado por quatro, para se obter o resultado na unidade parte por bilhão (ppb).

Os micropoços e as ponteiras utilizadas são todas descartadas.

O procedimento realizado acima foi apenas para um dia de análise. Para todas as outras se realiza o mesmo procedimento, adaptando apenas a quantidade de amostras que vão ser analisadas. Os resultados são impressos três vezes para confirmação da leitura do aparelho e obtém-se a média dos resultados. No decorrer das análises, os resultados foram sendo registrados em uma planilha do Excel.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As análises tiveram uma duração de 35 dias, incluindo a análise *start* de um dia. O trigo foi moído um dia antes do início das análises e a coleta das amostras dois dias antes. No total, o trabalho teve uma duração de 37 dias. O planejado era uma bateria de análises com duração de 30 dias apenas, intercalando as análises de dez em dez dias. Isto não ocorreu, pois, as análises iniciais estavam dando inconclusivas, sendo assim, verificou-se a necessidade de realizar mais análises para resultados mais precisos e confiáveis.

Foram realizados dois tipos de análises: trigo seco e trigo umedecido. Esperavam-se resultados acima do permitido na legislação, pois, no Moinho Cidade Bella, o trigo seco nunca ficou mais de 10 dias armazenado para moagem. O trigo é umedecido sempre 18 horas antes da moagem, porém já aconteceu de o mesmo ficar três dias em repouso.

6.1 TRIGO SECO

Os resultados das análises para o trigo seco estão disponíveis na tabela 8 e 9. Os mesmos foram expressos na medida em partes por bilhão (ppb).

Tabela 8 - Resultados iniciais de DESOXINIVALENOL para trigo seco, em ppb.

	1 dia	5 dias	13 dias
Argentino	975,6	1139,2	717,2
	988,4	1118,8	701,6
	980,8	1080,47	732,8
	\bar{X} 981,6	1112,8	717,2
Brasileiro	892	772	513,2
	899,2	766,8	481,6
	901,6	749,2	557,6
	\bar{X} 897,6	762,7	517,5
Paraguaio	62,8	72	57,2
	68,4	80	55,6
	60,4	72	55,2
	\bar{X} 63,9	74,7	56

Fonte: Autoria Própria

Os resultados das três primeiras análises para o trigo seco deram bem variados. O trigo argentino teve um aumento significativo com cinco dias de armazenamento e uma redução significativa com 13 dias de armazenamento. Com base nesse resultado, verificou-se a necessidade de maior quantidade de análises para obtenção de resultados mais confiáveis.

O trigo nacional teve redução dos resultados nas três primeiras análises. Ainda para garantir maior precisão nos resultados, prosseguiu-se com a realização das análises por mais tempo, até completar 35 dias de análise.

Os resultados para o trigo paraguaio deram bem baixos, variando aproximadamente 10 ppb. Seguindo o mesmo raciocínio do trigo nacional, deu-se sequência para as análises do trigo paraguaio para resultados mais confiáveis.

Tabela 9 - Resultados finais de DESOXINIVALENOL para trigo seco, em ppb.

	18 dias	25 dias	33 dias	34 dias	35 dias	Legislação
Argentino	838	888	811,5	795,6	827,6	3000
	832,4	895,8	865,9	804,8	842,8	
	800,4	845	897,9	804	828,4	
	\bar{X} 823,6	876,3	858,4	801,5	832,9	
Brasileiro	650,4	661,6	650,7	578,4	582,3	
	656,4	688	626,9	588,4	590	
	622	688,8	630	582,4	568,9	
	\bar{X} 642,9	679,5	635,9	583,1	580,4	
Paraguaio	100,5	90	83	84,6	78,2	
	99	93,2	83,4	81	78,4	
	98,2	89,6	76,6	80	77,9	
	\bar{X} 99,2	90,9	81	81,9	78,2	

Fonte: Autoria Própria

A partir do 18º dia de análise, algumas amostras começaram a mostrar estabilidade nos resultados. O trigo argentino apresentou resultados entre 801 ppb e 876 ppb, ou seja, uma variação de 75 ppb. Segundo a legislação legal vigente RDC N° 138, DE 8 DE FEVEREIRO DE 2017, os resultados podem ter como limite máximo tolerável 3000 partes por bilhão. Os resultados para esse tipo de trigo mostram que, mesmo após 35 dias de armazenamento com temperatura entre 28 e 32°C, o mesmo está próprio para moagem e prosseguir com o seu processamento (ANVISA, 2017).

O trigo nacional teve variação de resultados com valores entre 580 ppb e 679 ppb, ou seja, uma variação de 99 ppb. Os resultados não ficaram acima do permitido pela legislação para consumo, sendo assim, após 35 dias de armazenamento o trigo pode ser processado normalmente.

O trigo paraguaio apresentou resultado positivo para micotoxina Don em um valor bem baixo. Obteve valores entre 81 ppb e 99 ppb, ou seja, 18 ppb. Os valores estão dentro do permitido pela legislação. O trigo está adequado para processamento após 35 dias de armazenamento.

6.2 TRIGO ÚMIDO

Os resultados para o trigo úmido estão dispostos na tabela 10.

Tabela 10 - Resultados de DESOXINIVALENOL para trigo umedecido, em ppb.

	1 dia	5 dias	13 dias	14 dias	18 dias	Legislação
Argentino Úmido	1102,8	1036	723,6	412,7	402,4	3000
	1127,6	1045,2	725,6	400,8	404,8	
	1124	999,6	730,4	420,5	389,2	
	\bar{X} 1118,1	1026,9	726,5	411,3	398,8	
Brasileiro Úmido	496,8	293,6	528,8	694	722,7	
	496	272	525,6	694,7	741,2	
	485,6	251,6	537,6	700,8	700	
	\bar{X} 492,8	272,4	530,7	696,5	721,3	
Paraguaio Úmido	52,4	182,4	80,8	78,4	82,2	
	53,6	196	80,8	80	70,9	
	46,8	195,2	85,6	78,8	90,1	
	\bar{X} 50,9	191,2	82,4	79,1	81,1	

Fonte: Autoria Própria

Os resultados do trigo úmido se estabilizaram a partir de 14 dias de análise. Esta análise durou 18 dias.

O trigo Argentino apresentou variações significativas de resultados. Inicialmente começou com resultado de 1118 ppb e reduziu para 398 ppb. Entre os dias 14 e 18 de análise, houve variação de 13 ppb, o que é muito baixo. O trigo úmido após 18 dias de armazenamento ainda se apresentou próprio para processamento e consumo.

O trigo nacional teve um aumento nos resultados. Iniciou-se as análises com 492 ppb e terminou com 721. Os resultados se estabilizaram também após 14 dias de análise, com variação de 25 ppb. O trigo após 18 dias de armazenamento apresentou-se próprio para consumo e processamento.

Como o seco, o trigo paraguaio úmido mostrou resultados significativamente baixos. Iniciou-se as análises com 50 ppb e encerrou com 81 ppb. Para esse trigo, houve estabilidade nos resultados após 13 dias de armazenamento, com variação de três ppb.

6.3 COMPARANDO RESULTADOS

As amostras se mostraram contaminadas, porém com valor abaixo permitido pela legislação, que é 3000 ppb. Análises feitas por GOES (2013) utilizaram o mesmo método de análise deste trabalho e os resultados também foram satisfatórios, sendo que todas as amostras apresentaram contaminação, porém abaixo do permitido, que na época era de 1750 ppb.

DOMINGUES, *et al.* mostra que as amostras de trigo nacional apresentam maior índice de contaminação, onde 94% das amostras nacionais estavam contaminadas e 88% das importadas. Em comparação com as análises deste trabalho, o trigo seco argentino apresentou um nível maior de contaminação em relação ao nacional. Já o trigo úmido, quem predominou o nível de contaminação foi o nacional. O trigo paraguaio apresentou em ambas as análises um valor relativamente baixo de micotoxinas, comparado com as demais nacionalidades.

Estudos com farinha de trigo e trigo de São Paulo realizados por LAMARDO *et al.* (2006) mostram que das 42 amostras de farinha de trigo e trigo analisadas, 45% estavam contaminadas com teores que ficavam acima do permitido e próximo do limite.

6.4 POSSÍVEIS INTERFERÊNCIAS

Quando uma bateria de análises é iniciada, uma série de situações pode acontecer que vêm a interferir no resultado final das análises. Os resultados foram obtidos de maneira correta, seguindo à risca todo o procedimento para determinação da micotoxina DON. Não houve atalhos ou maneira diferente para realização das

análises. Todas foram feitas da mesma maneira, sendo assim, eliminando a possibilidade de erros pelo analista.

Outra possibilidade de erro poderia ser a contaminação pelo ar com partículas de farinha contaminada. O laboratório onde foram realizadas as análises sé um lugar onde não somente a micotoxina DON é determinada. Vários tipos de análises são feitas e existe uma pequena possibilidade de uma partícula de farinha ter contaminado as amostras. Isso poderia explicar resultados divergentes, porém, os resultados foram claramente conclusivos.

É extremamente importante verificar a data de validade dos Kits utilizados para as análises. Um Kit vencido não vai ter o mesmo efeito nos resultados quanto um Kit dentro do prazo. Os reagentes não podem estar contaminados também. Deve-se sempre tomar cuidado com a utilização das ponteiros, para não usar a mesma ponteira com reagentes diferentes.

Outra possibilidade para interferência nos resultados pode ser a variância de temperatura. No caso destas amostras, ouve um período fora da incubação de uma hora do laboratório da UTFPR para o do Moinho Cidade Bella. Embora a amostra tenha ficado esse período fora de incubação, não é tempo suficiente para que o teor de micotoxina se altere.

O trigo sendo armazenado em temperaturas ideais e em local coreto tende a permanecer sempre com níveis de micotoxinas toleráveis.

7 CONCLUSÃO

As análises foram realizadas conforme o planejado e não houve nenhuma surpresa durante o processo. Os resultados se mostraram coerentes com o esperado e dentro do que pede a legislação.

Os resultados mostraram que para trigo seco e umedecido, durante o período de armazenamento de 35 e 18 dias, as amostras apresentaram resultados de acordo com a legislação, sendo considerados apropriados para processamento e posterior consumo, destacando-se o trigo paraguaio com menor índice de micotoxina DON. As variações provavelmente são resultados das condições de manejo da lavoura, da colheita, e do armazenamento dos grãos avaliados.

As análises foram realizadas com o trigo para posterior processamento, onde a legislação determina 3000 ppb como limite para a micotoxina DON. Uma análise somente com a farinha teria resultados diferentes, sendo o limite para a micotoxina DON de 750 ppb.

8 REFERÊNCIAS

ANTUNES, P.I.C. **Aplicação do método da capacidade de retenção de solventes na determinação da qualidade de farinhas panificáveis**. Lisboa: FCT/UNL e UNL. 2014.

ANVISA. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 138**, de 8 de Fevereiro de 2017.

ANVISA. **Resolução da Anvisa RDC nº 7 de 18 de fevereiro de 2011**. Disponível em: <http://www.micotoxinas.com.br/legisla.html>. Acesso em 22 de Junho de 2019.

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

BORÉM, A.; SCHEEREN, P.L. **Trigo, do plantio à colheita**: Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015.

COSTA, R.V. *et al.* **Teores de ocratoxinas em milho armazenado com palha na região Central de Minas Gerais**: XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Goiânia, 2010.

DOMINGUES, M.A.C. *et al.* **Ocorrência de desoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil**: Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(1): 181-185, jan.-mar. 2007

EMBRAPA. **Armazenamento do Trigo**. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/publicacoes/sist-prod/trigo-sul02/trigo9-3.htm>. Acesso em 05 de Junho de 2019.

FREIRE, F.C.O. *et al.* **Micotoxinas**: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal: 1. ed. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.

GOES, M.M.; AYALA, L.A.C. **Determinação de Micotoxina Desoxinivalenol (Don) em Pães Brancos e Integrais Comercializados na Cidade de Ponta Grossa**. UTFPR, Ponta Grossa, 2013.

GUARIENTI, E.M. **Qualidade Industrial do Trigo**. 2. ed. Passo Fundo: EMBRAPA, 1996.

HAUSCHILD, L. *et al.* **Digestibilidade e metabolismo de dietas de suínos contendo zearalenona com adição de organoaluminossilicato**: Agropec. bras., Brasília, v.42, n.2, p.219-224, fev. 2007

IAMANAKA, B.T. *et al.* **Micotoxinas em Alimentos**: Recife, vol. 7, p.138-161, 2010.

LAMARDO, L.C.A *et al.* **Desoxinivalenol (DON) em trigo e farinha de trigo comercializados na cidade de São Paulo**: Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.) vol.65 no.1 São Paulo, 2006.

MARSARO, A.L. *et al.* **Cultivo de Trigo**: 2. ed. Brasília: EMBRAPA TRIGO, 2014.

MOINHO CIDADE BELLA. **Fórmula para umedecer a amostra.** Ponta Grossa, 2019.

PALMA, M.A.R. **INSTRUÇÃO NORMATIVA SARC Nº 7 , DE 15 DE AGOSTO DE 2001.** Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade do Trigo. 2001.

SANTOS, J. S. et. al. **Monitoramento e nível de ingestão de desoxinivalenol por trigo.** Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1439-1450, out./dez. 2011.