

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

MALENA ALVES DOS SANTOS
MARIANA INÁCIO PEREIRA

**ESTUDO DA CONCENTRAÇÃO DE AFLATOXINA PÓS PROCESSO
DE EXTRUSÃO EM RAÇÕES ANIMAIS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA
2021

MALENA ALVES DOS SANTOS
MARIANA INÁCIO PEREIRA

ESTUDO DA CONCENTRAÇÃO DE AFLATOXINA PÓS PROCESSO DE EXTRUSÃO EM RAÇÕES ANIMAIS

Study of aflatoxin concentration after extrusion process in animal feed

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos do Curso Superior em Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Londrina.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Luciana Furlaneto Maia

Coorientador: Me. Loredane de Souza Cirillo (Mestre em Ciência Animal, UEL)

LONDRINA
2021



Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es).

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

MALENA ALVES DOS SANTOS
MARIANA INÁCIO PEREIRA

**ESTUDO DA CONCENTRAÇÃO DE AFLATOXINA PÓS PROCESSO DE
EXTRUSÃO EM RAÇÕES ANIMAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação para
obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 23 de agosto de 2021.

Luciana Furlaneto Maia - Orientadora
Doutorado em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Paraná
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Ana Flávia de Oliveira – Membro avaliador
Doutorado em Nutrição pela Universidade Federal de São Paulo
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Isabel Craveiro Moreira Andrei – Membro avaliador
Doutorado em Química Orgânica pela Universidade de São Paulo
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Sem a direção dada por Deus, a conclusão deste trabalho não seria possível. Por isto, dedico a Ele este trabalho, com muita gratidão.

RESUMO

Com o aumento de animais de estimação, têm intensificado o consumo de rações secas. Para a indústria, esse avanço mercadológico traz a preocupação no setor de produção em relação à qualidade e segurança alimentar. Um dos problemas mais comuns de contaminação neste setor é a presença de micotoxinas na matéria-prima e produto final. Entre as 500 micotoxinas mais conhecidas, a aflatoxina produzida pela espécie *Aspergillus* predomina, esta espécie se desenvolve em níveis de umidade e temperatura mais elevados. Portanto, o objetivo deste projeto foi averiguar a quantidade de aflatoxina na matéria-prima utilizadas para produção da ração para cães, Percane, assim como, quantificar no produto final, pós processamento. A matéria-prima constou de gérmen de milho, farelo de trigo, milho em grãos, glúten de milho e farelo de milho. O produto final pós processamento também foi avaliado. A quantificação de aflatoxina foi realizada pelo kit AgraStrip Watex, sendo analisado 9 lotes de matéria prima. Como resultado obtivemos que os ingredientes de 1 lote de gérmen de milho, farelo de trigo e farelo de milho apresentaram valores de aflatoxina acima do permitido na legislação (20 µg/kg ppb). Na somatória dos valores de aflatoxina de todos os ingredientes utilizados no preparo da ração, somente um lote (número 1) apresentou valores abaixo do permitido (16,80 µg/kg ppb). Após o processo de extrusão, o produto final apresentou valores abaixo de 10 µg/kg ppb, com exceção do produto do lote 8 que apresentou valores de 12 µg/kg ppb, estando dentro do limite permitido pela legislação. Concluímos que o processamento de extrusão da matéria prima para produção de ração, reduz consideravelmente a presença da aflatoxina no produto final, tornando-o adequado para consumo animal.

Palavras-chave: micotoxinas; pet; *Aspergillus*.

ABSTRACT

With the increase of pets, the consumption of dry feed has intensified. For the industry, this marketing advance brings a concern in the production sector in relation to food quality and safety. One of the most common contamination problems in this sector is the presence of mycotoxins in the raw material and final product. Among the 500 best known mycotoxins, the aflatoxin produced by the *Aspergillus* species predominates, this species develops at higher humidity and temperature levels. Therefore, the objective of this project was to determine the amount of aflatoxin in the raw material of dog food and to quantify this mycotoxin in the final product, after processing. The raw material consisted of corn germ, wheat bran, corn in grain, corn gluten and corn bran. The final post-processing product was also evaluated. Aflatoxin quantification was performed by the AgraStrip Watex kit, being analyzed 9 batches of raw material. As a result, we found that the ingredients of 1 batch of corn germ, wheat bran and corn bran had aflatoxin values above the legal limit (20 µg/kg ppb). In the sum of the aflatoxin values of all ingredients used in the preparation of the feed, only one batch (number 1) presented values below the permitted (16.80 µg/kg ppb). After the extrusion process, the final product presented values below 10 µg/kg ppb, with the exception of the product from batch 8, which presented values of 12 µg/kg ppb, still within the limit allowed by legislation. We conclude that the processing of raw material for the production of feed considerably eliminates the presence of aflatoxin in the final product, making it suitable for consumption.

Keywords: mycotoxins; pet; *Aspergillus*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema das etapas para o processamento de ração para animais domésticos.....	9
Figura 2 – Esquema do processo de extrusão do produto final.....	12
Figura 3 – Hifas e micélios observados ao microscópio óptico comum.....	14
Figura 4 – Estrutura química das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2.....	16
Figura 5 – Preparo de amostra.....	19
Figura 6 – Teste aflatoxina.....	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados da aflatoxina pré extrusão.....	22
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Resultados de aflatoxina pós extrusão.....	23
--	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Composição da ração.....	8
-------------------------------------	---

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	4
2 OBJETIVOS	6
2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	6
3 MERCADO DE RAÇÕES ANIMAIS DOMESTICOS	7
3.1 PROCESSAMENTO DE RAÇÃO ANIMAL: CONCEITOS BÁSICOS.....	9
3.1.1 RECEBIMENTO DE MATÉRIA-PRIMA.....	9
3.1.2 DOSAGEM E MOAGEM.....	10
3.1.3 MISTURA.....	10
3.1.4 PROCESSO DE EXTRUSÃO.....	10
3.1.5 SECAGEM.....	12
3.1.6 BANHO DE ÓLEO, RESFRIAMENTO E ENSAQUE.....	13
4 CONTROLE DE QUALIDADE	13
5 FUNGOS FILAMENTOSOS MICOTOXIGENICOS	13
5.1 MICOTOXINAS: AFLATOXINA.....	15
5.1.1 AFLATOXINA EM CÃES.....	17
6 METODOLOGIA	19
6.1 COLETA DE AMOSTRAS.....	19
6.2 PREPARO DE AMOSTRAS.....	19
6.3 TESTE PARA AFLATOXINA.....	20
6.4 TRATAMENTO DE DADOS.....	21
7 RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
8 CONCLUSÕES	25
REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que no Brasil tenha uma população aproximada de 141,5 milhões de animais de estimação, sendo 55,1 milhões deles os cães, com um crescimento de 1,7% entre 2018 e 2019 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2019). O crescimento desta população animal deve-se ao aumento da aproximação entre humanos e animais domésticos, muitos donos de animais criam os mesmos como se fossem membros da família e cada vez mais estes responsáveis estão dispostos a investir na saúde, higiene, alimentação e qualidade de vida destes pets.

De acordo com informações da ABINPET, em 2019 a indústria brasileira teve faturamento de aproximadamente 22,3 bilhões em ração para linha de *pet*. Os tutores de animais de estimação têm procurado entender, acompanhar de perto como é a alimentação, nutrição de seus companheiros, sempre buscando uma alimentação saudável e rica nutricionalmente. Uma destas opções são as rações secas, elas contêm muitos dos nutrientes necessários para os animais, como vitaminas, gorduras, proteínas e outros.

As rações são consideradas ricas em nutrientes, e um dos principais componentes da formulação é à base de cereais, que pode favorecer o desenvolvimento de fungos. (GONZÁLEZ et al., 1998 apud CAMPOS, 2007)

Uma ração sem acompanhamento de qualidade adequado, não manipulada e não armazenada de forma correta pode significar um alto risco aos animais, em destaque à cães e gatos. Essas contaminações podem ocorrer por meio de fungos e micotoxinas, podendo causar até a morte destes animais. Para ajudar a garantir que essas rações sejam de boa qualidade, contamos com alguns órgãos para inspeção das fábricas, como: Ministério da Agricultura e Vigilância Sanitária.

As rações para cães levam como base os cereais, entre eles milho e derivados, componentes que podem apresentar contaminação por aflatoxina, ou desenvolver o fungo em condições inadequadas de armazenamento, propiciando a produção da micotoxina. Entre as 500 micotoxinas mais conhecidas a aflatoxina é produzida por pela espécie *Aspergillus*, esta espécie se desenvolve em níveis de umidade e temperatura mais elevados, a aflatoxina pode estar presente em uma grande variedade de alimentos. Essa contaminação pode ocorrer devido à forma de

armazenamento do grão e sua manipulação. A RDC nº7 de 18 de fevereiro de 2011 estabelece o nível máximo de contaminação por aflatoxina de 20 µg/kg.

Este trabalho teve por objetivo avaliar se o processo de extrusão realizado com cereais e derivados de milho, utilizados na fabricação de ração para pets faz com que ocorra a diminuição do índice de aflatoxina nas rações.

2 OBJETIVO

Avaliar se o processo de extrusão é eficiente na redução da concentração de aflatoxinas

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Selecionar os lotes de matéria-prima a serem estudados;
- Avaliar o índice de aflatoxinas presente em cada matéria-prima;
- Verificar o resultado de aflatoxinas no produto final, ração para cães Percane;
- Comparar os resultados encontrados entre matéria-prima e ração avaliada.

3 MERCADO DE RAÇÕES ANIMAIS DOMESTICOS

A cerca de 12 mil anos atrás, ainda no período neolítico, iniciou-se a domesticação dos animais, destacando-se os cães. Com o passar dos anos os animais vêm ganhando mais espaço em nossos lares, principalmente cães e gatos. Cada vez mais existem humanos que tratam os animais domésticos como um membro de sua família, fazendo com que ocorra uma preocupação maior com o bem-estar destes animais, inclusive com sua alimentação (BUENO, 2020).

Segundo informações da ABINPET no Brasil no ano de 2019 houve um faturamento da indústria pet no Brasil de aproximadamente 22,3 bilhões, deste 73,3% representa a linha de pet food com um crescimento de 8,4%. Em 2018 esta mesma linha atingiu cerca de 2,74 toneladas, em 2019 cerca de 2,85 toneladas, tendo um aumento em torno de 6% (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2019).

O Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal (2021), afirma que o mercado de rações animais secas tem crescido mesmo com a situação a qual o país enfrenta, principalmente pela alta do dólar afetando diretamente o valor das matérias-primas utilizadas nas fábricas, como: milho e seus derivados, farelo de soja e outros. No ano de 2020 o mercado de alimentação animal registrou um crescimento de 5%, uma produção de 81,5 milhões de toneladas ao total, variando entre diversos segmentos como:

- Segmento de aves, ocupando o primeiro lugar com 41,4 milhões de toneladas;
- Segundo colocado o setor de suínos com 18,8 milhões de toneladas;
- Terceiro lugar o setor de bovinos com 11,9 milhões de toneladas;
- No quarto lugar temos as rações para cães e gatos com 3 milhões de toneladas.

Para o ano de 2021, profissionais do Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal (2021), acreditam que o setor apresentará um crescimento em cerca de 2,3%.

Devido a algumas matérias-primas presente na composição da ração, como: farelo de milho, farelo de gérmen de milho desengordurado, farelo de glúten de milho 18, farelo de glúten de milho 21, farelo de glúten de milho 60, farelo de trigo, existe uma preocupação maior dos fabricantes em relação a contaminação por fungos e micotoxinas, por estas rações levarem como base para a sua formulação, a utilização de cereais. Esta formulação proporciona uma alimentação com todos os nutrientes

adequados para a alimentação animal, porém, devido aos ingredientes que compõem a alimentação dos animais, estes são ótimos para o desenvolvimento de fungos (GONZÁLEZ et al., 1998 apud CAMPUS, 2007).

Segundo Cruz (2010), o desenvolvimento de fungos toxigênicos pode ocorrer nos alimentos durante várias fases, como: produção, processamento, transporte e/ou estocagem. Após a contaminação estes fungos causam patologias e podem levar à morte de animais e humanos.

Segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) as matérias-primas consideradas como essenciais na composição das rações para pets, podem originar em animais e humanos uma ampla variedade de efeitos tóxicos, devido as micotoxinas, as quais são caracterizadas como metabólitos secundários (COULOMBE, 1991 apud CRUZ, 2010).

Entre os componentes para ração animal, especificamente para cães, encontramos a seguinte composição nas rações (Quadro 1).

Quadro 1 – Composição da ração

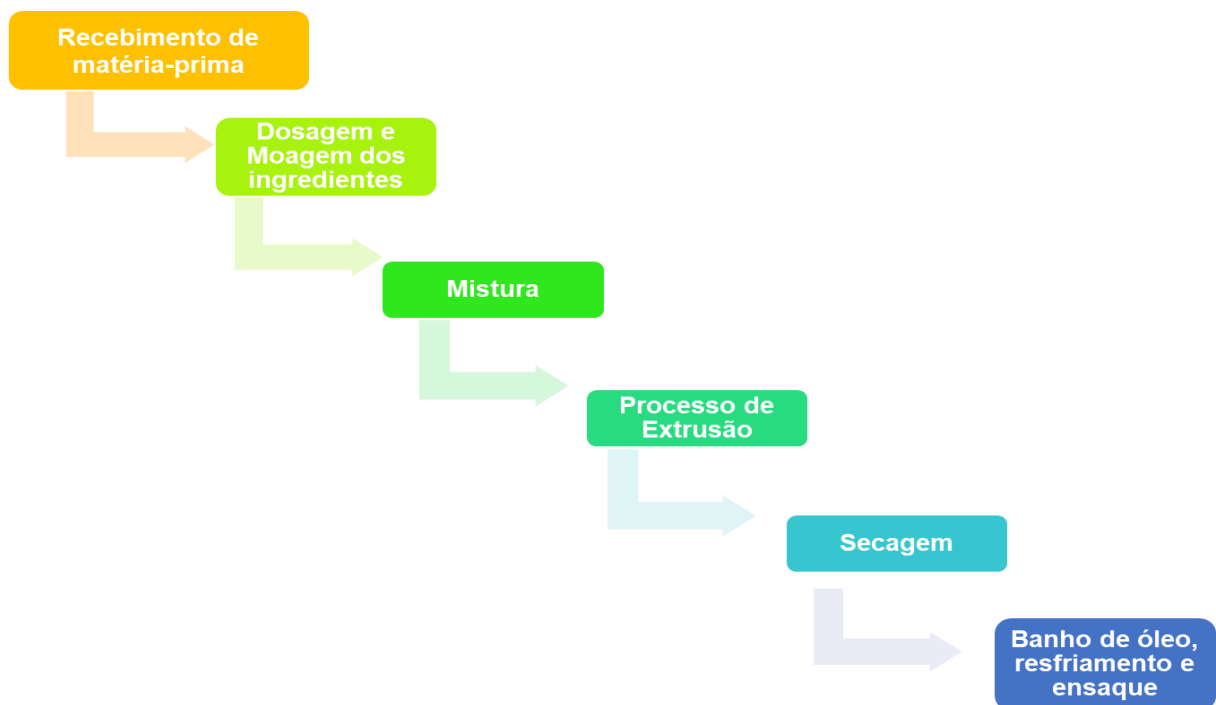
COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO	
Carboidratos	Grãos e seus derivados - como: farelo de milho, farelo de gérmen de milho desengordurado, farelo de glúten de milho 21, farelo de trigo, farelo de glúten de milho 18, farelo glúten de milho 60, quirera de arroz;
Gorduras	Gorduras animais e vegetais como: óleo de vísceras de frango; farinha de vísceras de frango, farinha de torresmo;
Aminoácidos	Complexo selênio aminoácido;
Macronutrientes	Fontes de cálcio, fósforo, sais – cloreto de sódio, hexametáfosfato de sódio, selenito de sódio e pantotenato de cálcio;
Oligoelementos	Magnésio, ferro, zinco, cobre - sulfato de cobre, sulfato ferroso, sulfato de manganês e sulfato de zinco
Vitaminas	Vitamina D3, vitamina E, vitamina K3, vitamina B1, vitamina A, vitamina B12 e vitamina B2;
Aditivos	Aditivo adsorvente de odor, aditivo adsorvente de micotoxinas, aditivo conservante, aditivo estabilizante e prebiótico;
Antioxidante em pó	BHT, BHA, ácido propiônico e ácido cítrico;
Antifúngico	Parede celular de levedura, carvão vegetal ativado e bentonita;
Outros	Semente de linhaça, sulfato glicosamina, sulfato de condroitina, polpa de beterraba, levedura de cana, cloreto de colina, zeolita e emulsificantes;

Fonte: Autoria própria.

3.1 PROCESSAMENTO DE RAÇÃO ANIMAL: CONCEITOS BÁSICOS

Na década de 1950 iniciou-se a fabricação de alimentos extrusados para animais visando facilitar o processo por ser um recurso do qual utiliza-se menos tempo de processamento, o alimento fica por menos tempo em contato com equipamentos. O processamento de ração é dividido em diversas etapas (Figura 1).

Figura 1 – Esquema das etapas para o processamento de ração para animais domésticos



Fonte: Autoria própria.

3.1.1 Recebimento de matéria-prima

As amostras recebidas e armazenadas devem ser identificadas e separadas por lotes, isto inclui todas as matérias primas em estoque. Para matérias como óleos, palatabilizantes e outras existe um critério a ser seguido de armazenamento, como: controle de temperatura; abrigos isentos de luz e oxigênio (PIQPET, 2012).

Para a maioria das matérias-primas são realizadas análises para garantir a sua qualidade. Antes mesmo destes materiais serem armazenados é coletado amostras para análises, entre as principais análises de micotoxinas, umidade, acidez e peróxido (PIQPET, 2012).

3.1.2 Dosagem e Moagem

A etapa de dosagem é realizada conforme a receita ou formulação de cada alimento, o responsável por decidir isto é o nutricionista ou médico veterinário da fábrica. De acordo com esta formulação as matérias-primas são pesadas e seguem para a etapa de moagem.

Este processo de moagem é responsável por reduzir as partículas da matéria-prima e homogeneizar para facilitar o processo seguinte que é o de extrusão (FRAILHA et al., 2005). Este processo de moagem utiliza os moinhos de martelos (COWELL, 2000 apud LIMA, 2013). Do qual este sistema também conta com detectores de metais para verificar a presença de metais e objetos estranhos possuindo também peneiras (SOUZA, 2010 apud LIMA, 2013).

3.1.3 Mistura

Finalizado o processo de moagem as matérias-primas seguem para a etapa de mistura que logo após irão para a extrusão. Esta fase de mistura é importante para garantir as exigências de qualidade e nutricionais das rações, caso a mistura não seja realizada de forma adequada pode apresentar alterações nutricionais no produto final (COUTO, 2010). Esta etapa é importante para garantir a homogeneização adequada de todas as matérias-primas presentes, assim, evitando que estas partículas interfiram nos processos seguintes.

3.1.4 Processo de Extrusão

Este processo teve início por cerca de 1950, em primeiro momento com o extrusor cozedor, fazendo com que fossem mais viáveis estas produções, facilitando a digestibilidade dos cereais. Ao passar dos anos as indústrias de alimentos para cães vem investindo no quesito qualidade e tecnologia para suas produções para atender a demanda (LIMA, 2013).

O processo consiste em cozer a matéria-prima que será utilizada em um tubo, onde neste tubo é utilizado pressão, umidade, temperatura e aplicação de fricção mecânica para que a massa adquira uma consistência macia. Este processo é

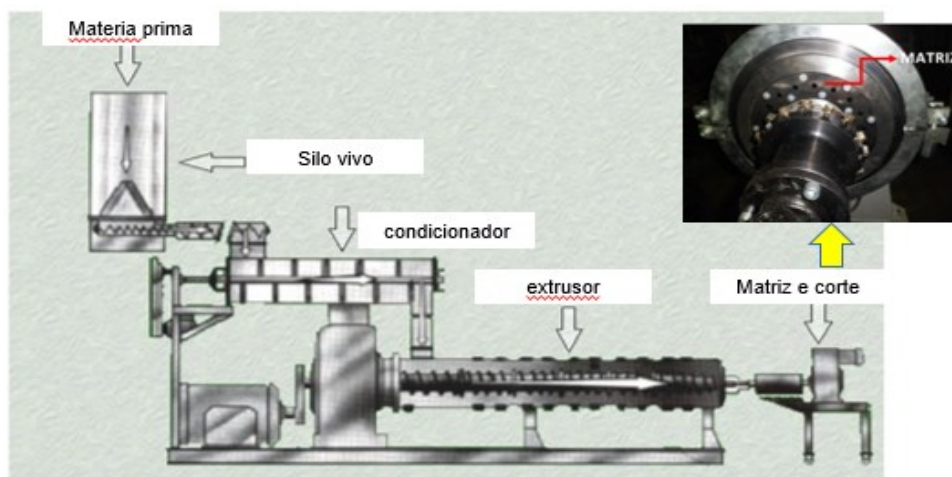
composto pelo silo de alimentação, o condicionador, o extrusor, matriz e corte (LIMA, 2013).

Iniciando pelo silo alimentador o processo, ele tem a função de fazer com que a mistura seca siga em processo contínuo e controlado para as próximas etapas. A massa é encaminhada para o condicionador onde este é responsável pelo processo de aquecimento, mistura e hidratação do material. O condicionador é composto por eixos rotativos sendo eles com batedores ou pás fixas nesses eixos (SOUZA, 2010 apud LIMA, 2013).

No condicionador são adicionados água e vapor, sendo a água adicionada na parte superior do equipamento e no inferior o vapor, tendo por objetivo fazer com que a temperatura e umidade sejam aumentadas para que se estabilize o produto. Nesta etapa a umidade varia de 10 a 25% e a temperatura por volta de 70 a 90°C podendo atingir 94°C (RIAZ, 2003). Este processo auxilia no cozimento antes de ir para extrusão e também diminui o desgaste por abrasão das peças do extrusor. Nesta fase ocorre a mistura de outras matérias-primas, como: aditivos, corantes, óleos, vitaminas entre outros, assegurando que todos os ingredientes presentes na formulação sejam bem homogeneizados antes de ir para o canhão extrusor (ROKEY et al., 2012).

O canhão extrusor é responsável pela fase principal do processo, tendo como função fazer com que ocorra a gelatinização do amido e formação do produto final (figura 2).

Figura 2– Esquema do processo de extrusão do produto final - Destaque para a matriz de corte



Fonte: Ferraz (2012); Lima (2013)

- Alimentação: etapa de transporte do material que está no condicionador para o canhão;
- Cisalhamento: etapa da transformação da mistura que veio dos silos para massa
- Cocção ou setor final: antecede a matriz e o corte (LIMA, 2013).

Para a extrusão de rações caninas utiliza-se o sistema de rosca dupla, responsável por gerar energia mecânica, comprimindo a massa, fazendo com que por meio de atrito crie-se energia (CHUANG; YEH, 2004). Neste processo para diminuir a densidade do produto e auxiliar na elevação da temperatura é possível injetar vapor diretamente na massa (ABECASSIS et al., 1994). A temperatura e umidade ideal para esta etapa é de 125 à 150°C e umidade 23 a 28% (ROKEY ET AL., 2012). Este processo é onde deve ocorrer a redução da quantidade de microrganismos presentes nas rações (HEIDENREICH; MICHAELSEN, 1994 apud LIMA, 2013).

A última etapa do sistema é a matriz e corte, onde é realizada a saída do produto através de pressão aplicada por energia e dá origem ao formato do produto final e sendo cortado por facas no formato da matriz (destaque da figura 2).

3.1.5 Secagem

Saindo do corte as rações vão para a etapa de secagem, que reduz a umidade, sendo a ideal menor ou igual a 10%. Caso a ração fique mais úmida, ela ficará mais propícia a contaminação fúngica e por microrganismos (LIMA, 2013).

3.1.6 Banho de óleo, resfriamento e ensaque

Após este processo, a ração segue para o banho de óleo e resfriamento, onde receberá um banho de óleo para uma absorção maior da gordura, assim como o banho com corantes e aromas e após o resfriamento o palatilizante para garantir o aroma. Assim que as rações estiverem em temperatura ambiente seguirá para o ensaque, onde são colocados em embalagens plásticas flexíveis, identificados com seus lotes, fabricação e validade, logo em seguida para o estoque ou comercialização (LIMA, 2013).

4 CONTROLE DE QUALIDADE

Assim como nas fábricas de produtos alimentícios para humanos, o mercado de *pet* também exige que as fábricas de rações animais sigam um controle de qualidade para os produtos comercializados. Este controle deve iniciar-se no recebimento de matéria-prima até o produto final (LIMA, 2013).

A realização do controle de qualidade permite identificar contaminações em matérias-primas ou produtos finais, com isto pode-se aplicar medidas de correção para estes produtos ou o recolhimento dos mesmo quando detectado contaminação acima do limite estabelecido pela legislação. Através deste controle, a fábrica pode identificar contaminações microbiológicas de matérias-primas, principalmente das farinhas utilizadas no processo onde a ingestão destas contaminadas pode trazer prejuízos a nutrição e saúde animal (ALMEIDA JÚNIOR, 2018).

Para prevenção de contaminações deve-se seguir requisitos dentro das unidades fabris, entre eles as Boas Práticas de Fabricação. As Boas Práticas visam garantir a segurança alimentar, qualidade, auxiliar na questão de higiene nas fábricas e segurança no ambiente de trabalho (ALMEIDA JÚNIOR, 2018).

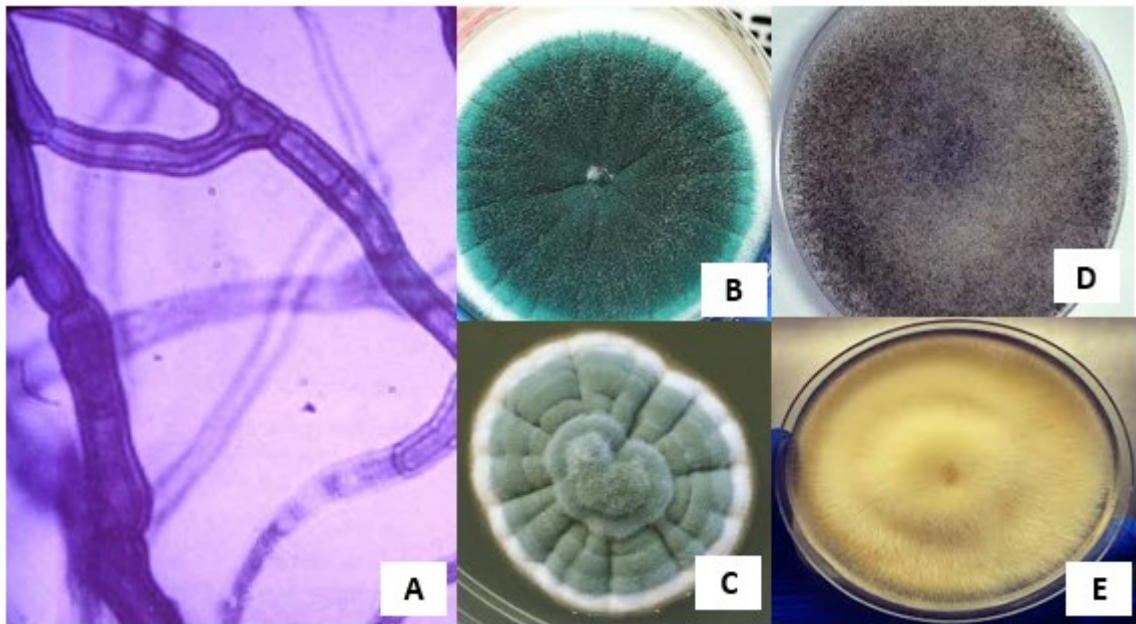
5 FUNGOS FILAMENTOSOS MICOTOXIGENICOS

Os fungos filamentosos são aqueles que têm o corpo formado por hifas gerando os micélios (Figura 3 A). Em rações animais, encontram-se os fungos osmofílicos, que são fungos que conseguem viver em uma pressão osmótica grande. Os principais fungos micotoxigenicos pertencem aos gêneros *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Rhizopus sp* e *Mucor sp*. Estes fungos são frequentemente encontrados em grãos causando danos no germe, descoloração da semente, alterações nutricionais, perda de matéria seca e deterioração microbiológica visível (PEZZINI; VALDUGA; CANSIANI, 2005).

A estrutura das colônias de fungos filamentosos caracteriza-se por serem algodonosas, aveludadas ou pulverulentas (Figura 3 B, C, D e E). Os principais fatores que afetam o crescimento de fungos e a produção de micotoxinas são a atividade de água, prevalência de cepas toxigênicas, interações microbianas, composição do substrato, nível de inóculo e temperatura. Sendo que os parâmetros de maior importância é a atividade de água e a temperatura. Para evitar contaminações de

fungos filamentosos, as indústrias buscam reduzir a atividade de água e pH, realizar um tratamento térmico e usar agentes antimicrobianos (PEZZINI; VALDUGA; CANSIANI, 2005).

Figura 3 – Em (A) hifas e micélios observados ao microscópio óptico comum; (B) *Aspergillus sp*; (C) *Penicillium sp*; (D) *Rhizopus sp*; (E) *Mucor sp*.



Fonte: <http://docente.ifsc.edu.br>

Durante seu desenvolvimento no substrato (alimento), esses fungos são capazes de produzir metabólitos secundários, não essenciais para a manutenção primária da célula, porém essas substâncias são capazes de atingir outras espécies. Esses compostos são denominados de micotoxinas, e conferem aos fungos uma vantagem competitiva sobre outros fungos e sobre bactérias presentes no ambiente (SANTINI et al., 2000).

As micotoxinas são os mais representativos contaminantes de alimentos, e, dentre estas, as aflatoxinas são as mais estudadas devido a apresentarem grande importância do ponto de vista toxicológico (MAIA; SIQUEIRA, 2007).

5.1 MICOTOXINAS: AFLATOXINA

Como citado anteriormente, os principais componentes das rações para cães são a base de cereais, ricos em nutrientes, porém sujeitos a contaminações fúngicas que podem ocorrer desde o campo até o processo de armazenagem. Esses fungos podem produzir metabólitos tóxicos, conhecidos como micotoxinas (DILKIN,2002).

Embora os fungos micotoxigenicos estejam espalhados no ambiente, sendo os produtos como grãos de cereais os mais afetados devido a fatores inadequados de plantio, colheita, transporte e armazenamento inadequado e variáveis ambientais favoráveis.

Uma vez a micotoxina produzida no alimento, esta apresenta grande estabilidade química e, por isso, resiste no produto mesmo após a remoção dos fungos durante o processamento do alimento (SILVA, 2019).

É estimado que cerca de 25% dos grãos utilizados em rações para animais domésticos possam estar contaminados por micotoxinas produzidas por diferentes fungos, principalmente os dos gêneros *Fusarium* sp, *Penicillium* sp, e *Aspergillus* sp. As consequências da ingestão de micotoxinas dependem das características químicas da toxina, quantidade ingerida e exposição recorrente. Diversas micotoxinas podem ser produzidas concomitantemente, com interação sinérgica, podendo agravar o quadro clínico do animal (GUTERRES et al., 2017; SILVA, 2019).

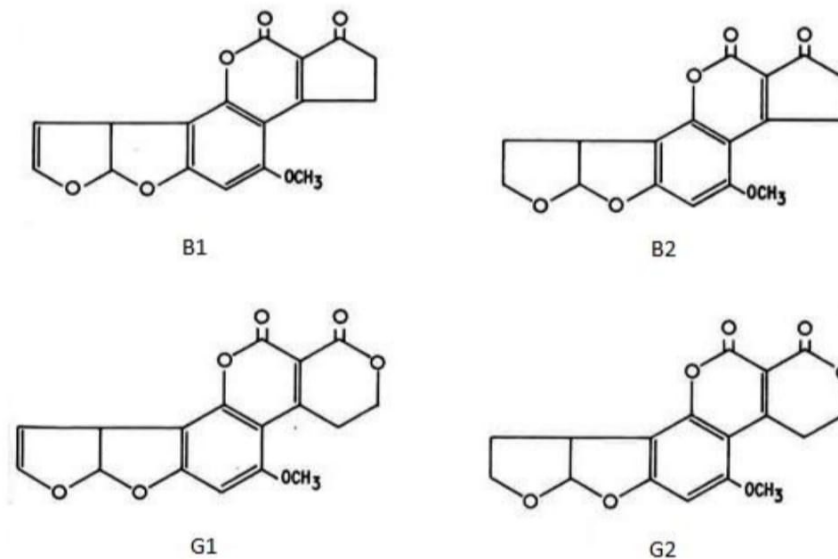
Atualmente são conhecidas mais de 500 micotoxinas, dentre as mais importantes as aflatoxinas, produzidas por certas espécies de *Aspergillus* (*A. bombycis*, *A. flavus*, *A. flavus* var. *parvisclerotigenus*, *A. nomius*, *A. ochraceoroseus*, *A. ochraceus*, *A. parasiticus*, *A. pseudotamarii*, *A. toxicarius* e *A. zhaoqingensis*) (PRESTES et al., 2019).

As aflatoxinas mais tóxicas são: B1, G1, B2 e G2 e sua classificação se baseia na coloração após exposição à radiação ultravioleta, sendo as aflatoxinas do tipo B apresentam coloração azul (blue), e as do tipo G apresentam coloração verde (Green) (OLIVEIRA; GERMANO, 1997).

Segundo Meissonnier, Oswald e Galtier (2005), a B1 é considerada potencialmente pró-carcinógeno, imunossupressoras, hepatóxicas e teratogênicas. A intoxicação por aflatoxinas depende da sua concentração no alimento, além do tipo e tempo de ingestão. Ressaltando que o fígado é o órgão mais sensível ao contato com as aflatoxinas, podendo causar necrose, infiltração inflamatória das células

observadas nos casos de intoxicações agudas. Esses compostos se caracterizam como policetídeos derivados de difuranocoumarinas tendo o acetato como unidade precursora (Figura 4) (ALMEIDA JÚNIOR, 2018).

Figura 4 - Estrutura química das aflatoxinas B1, B2, G1, G2



Fonte: Júnior (2018).

Além das questões inerentes à matéria-prima dos alimentos, a limpeza e manutenção dos equipamentos utilizados para o processo de fabricação e armazenamento da ração animal também merecem este cuidado, uma vez que acúmulo de resíduos favorecem o desenvolvimento fúngico e a consequente produção de micotoxinas (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010).

Segundo a RDC nº7 de 18 de fevereiro de 2011, o nível máximo de aflatoxina permitido é de 20 µg/kg. A presença de aflatoxina não indica necessariamente a presença física do fungo produtor. A ocorrência de micotoxinas pode ser indireta, ou seja, quando algum elemento é contaminado por um fungo e mesmo que este seja reduzido no processo de extrusão, as micotoxinas irão permanecer na ração, e a contaminação direta é quando o produto é contaminado por um fungo e logo após há a formação de micotoxinas (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010).

As análises de micotoxinas em alimentos ainda tem elevado custo, o que explica a pequena quantidade de dados existentes no Brasil sobre a ocorrência de micotoxinas em alimentos para animais (AMARAL et al., 2006 apud SOBOLEV, 2007). Além do alto custo dos equipamentos, também há a escassez de mão-de-obra

especializada nesta análise, e dificuldades no plano de amostragem (SOBOLEV, 2007).

5.1.1 Aflatoxinas em cães

As doenças causadas pela ingestão de micotoxinas são denominadas de micotoxicose, que podem também ser denominadas de acordo com a toxina, por exemplo, aflatoxicose se refere à ingestão de aflatoxinas. As micotoxicoses podem ser classificadas como aguda, subaguda, ou crônica, dependendo da quantidade ingerida e frequência (BAHNIUK et al., 2021).

Os animais entram em contato com a micotoxina pela dieta, transpondo o trato gastrointestinal, com transformação metabólica no fígado (SOUZA; SCUSSEL, 2012). A contaminação pode variar de acordo com a saúde e faixa etária animal, sendo os cães os mais sensíveis a essa contaminação (MAIA & SIQUEIRA, 2007). Esta sensibilidade se deve a baixa concentração da enzima detoxificante da aflatoxina (glutathione S-transferase) nos hepatócitos (GOMES et al., 2014). Ainda, os cães conseguem absorver pequenas doses de aflatoxina junto aos alimentos (SILVA et al., 2007).

Os principais sinais clínicos relatados em cães intoxicados por micotoxinas presentes em sua ração são: perda de apetite, vômito, diarreia, convulsões, dores abdominais, poliúria, ascite e desenvolvimento de lesões hepáticas crônicas. (BAHNIUK et al., 2021). A aflatoxicose crônica é causada pelo consumo, continuado ou intermitentemente, de dietas que contêm pequenas a moderadas quantidades (50 e 300 µg /kg) de aflatoxinas, ocorrendo de maneira silenciosa, dificultando um diagnóstico diferencial (GUTERRES et al., 2017).

A ingestão crônica de baixas quantidades de aflatoxina B1 na alimentação (20-100 µg/kg) também pode causar imunossupressão, seguida por sinais clínicos não específicos, incluindo susceptibilidade aumentada a infecções virais, bacterianas, fúngicas ou parasitárias. Outra observação significativa da aflatoxicose é a hemorragia, que ocorre em cavidades do corpo e em superfícies da submucosa, levando à morte (SOUZA; SCUSSEL, 2012; GUTERRES et al., 2017).

A legislação brasileira permite limites máximos de 20 µg/kg de micotoxinas em alimentos, incluindo ração animal (BRASIL, 2011). Contudo, a aflatoxina também tem sido relacionada com potencial estrogênico, teratogênico e carcinogênico nos rins,

cólon, pulmões e glândulas lacrimais, quando ingerido frequentemente em médio a longo prazo (RAMOS; HERNÁNDEZ, 1997 apud CAMPOS, 2007).

Infelizmente o tratamento de cães com micotoxicoses se dá pelo suporte aos sinais clínicos, uma vez que não há tratamento específico para este tipo de intoxicação (BARKER et al., 2013). Ainda são escassos os dados epidemiológicos de micotoxicoses no Brasil. Em 3 décadas, o Rio Grande do sul apresentou quatro casos de aflatoxicose em caninos com dosagem de aflatoxinas. Provavelmente ocorre uma subnotificação dessa intoxicação pode estar sendo também subdiagnosticada, devido à falta de um diagnóstico definitivo e análise dos alimentos oferecidos aos cães (GOMES et al., 2014).

Embora seja permitido determinadas concentrações de micotoxina na dieta animal, limites seguros sobre a quantidade de UFC/g de fungos em rações, em níveis que impeçam a sua multiplicação e produção de micotoxinas devem ser definidos para ração (SILVA, 2019). Contudo, sem dúvida, a prevenção das micotoxicoses ainda é a melhor alternativa para saúde do animal. A contaminação fúngica em cereais, e consequente formação de micotoxinas, depende de fatores de crescimento fúngico, passíveis de controle por manejo adequado nas práticas agrícolas que incluem a secagem do produto e o seu armazenamento.

6 METODOLOGIA

O experimento foi conduzido nos laboratórios da empresa Seara Agronegócios® situada em Ibiporã-PR, e o produto avaliado foi matéria prima (grãos) e ração seca para cães. Foi uma pesquisa descritiva experimental, realizada no período de janeiro de 2021 até julho de 2021.

6.1 COLETA DAS AMOSTRAS

As matérias-primas foram coletadas de 9 lotes distintos, que foram encaminhados para a fabricação da ração. Constaram de derivados de trigo e milho, sendo: gérmen de milho desengordurado, farelo de trigo, milho em grãos, glúten de milho e farelo de milho.

As rações analisadas foram adquiridas a partir de cada lote, estando dentro do prazo de validade e armazenadas de forma adequada até a finalização dos procedimentos laboratoriais. O período de coleta e análises de micotoxinas ocorreram de janeiro de 2021 a julho de 2021.

6.2 PREPARO DA AMOSTRA

Dez gramas de cada amostra de matéria-prima e o produto final foram pesados, as amostras de produto final foram trituradas em um moinho de rotor, depositados em saco homogeneizador com filtro contendo 30ml de água destilada e adicionado uma unidade do Extraction buffer bags. O material foi agitado vigorosamente por 2 minutos e deixado em repouso por 2 minutos (figura 5).

Figura 5 - Em (A) Moinho de rotor; (B) Amostra pesada; (C) Amostra no saco homogeneizador com água e extraction buffer bags; (D) Amostra em repouso



Fonte: Autoria própria.

6.3 TESTE PARA AFLATOXINA

A análise para aflatoxinas foi realizada utilizando o kit AgraStrip Watex, de fluxo lateral (LFD) prontos para uso com leitura no leitor Agravison.

Em cada tubo foi adicionado 1000 μ l do reagente Aflatoxin Watex Dilution Buffer e em seguida coletado 50 μ l do solvente, sendo inserido na cápsula e tampado para realizar a agitação por cerca de 5 segundos. Posteriormente foi inserido um micropoço na incubadora aquecida previamente a 45°C, coletado 100 μ l de amostra na cápsula e depositado no micropoço.

Por fim, foi inserido a fita da reação e incubado por 3 minutos. Após este tempo, a fita foi removida e inserida no leitor Agravison para obter o resultado. Com os resultados obtidos, os dados foram tabulados (Figura 6).

Figura 6 – Em (A) Kit AgraStrip Watex; (B) Fita inserida na incubadora; (C) Leitor Agravision



Fonte: Autoria própria.

6.4 TRATAMENTO DE DADOS

Após este período de coleta e análise os dados foram submetidos à análise de comparação dos resultados, dos quais serão apresentados posteriormente por tabelas e gráficos. A comparação ocorreu entre os valores encontrados de Aflatoxina em matérias-primas e no produto final.

7 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O intuito deste estudo era realizar a verificação do processo de extrusão, se com este processo é possível reduzir a concentração de aflatoxinas na ração para cães. Foram realizados testes de aflatoxina com 9 lotes de ração e suas respectivas matérias-primas.

Na tabela 1 está expresso os resultados de aflatoxina de acordo com cada matéria-prima e total por lote antes do processo de extrusão. Pode-se observar que há a presença de aflatoxinas na maioria dos produtos avaliados dentro de níveis aceitáveis pela legislação sendo o máximo de 20 µg/Kg (ppb), com exceção de dois lotes, sendo lote 2 e lote 9, onde foram identificadas matérias-primas com valores acima do permitido.

Mesmo dentro de valores aceitáveis existe grande variação de quantidades de aflatoxinas dentre as amostras analisadas, sendo a menor quantidade encontrada a de 2,0 e a maior de 27,65 µg/Kg (ppb).

Na somatória de aflatoxina presentes em toda a matéria-prima de cada lote separadamente, obteve-se que somente 11% (lote 1) permaneceu dentro dos limites.

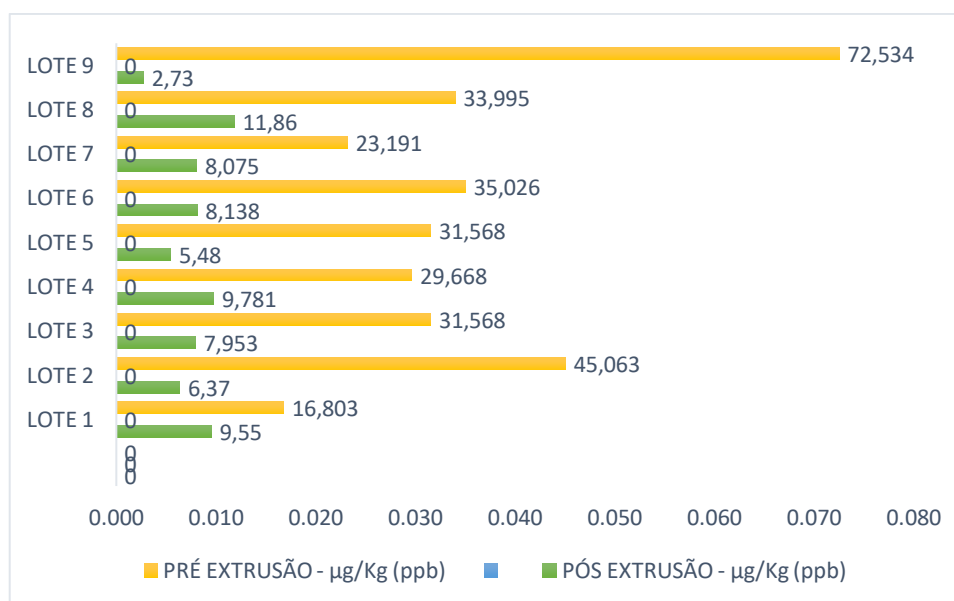
Tabela 1 – Resultados de aflatoxina pré-extrusão

PRODUTO	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6	LOTE 7	LOTE 8	LOTE 9
	AFLATOXINA µg/Kg (ppb)								
GERMEN DE MILHO DESEN- GORDURADO	5,103	2,000	14,200	14,200	14,200	2,000	X	2,000	23,36*
FARELO DE TRIGO	2,000	2,938	2,938	2,938	2,938	5,099	4,231	9,743	23,00*
MILHO EM GRÃOS	2,500	1,900	3,900	2,000	3,900	16,100	4,300	2,000	7,100
GLUTEN DE MILHO 21	3,854	8,569	4,626	4,626	4,626	4,844	7,42	7,420	9,072
FARELO DE MILHO	3,346	27,656*	2,955	2,955	2,955	2,034	2,000	8,832	6,911
GLUTEN DE MILHO 60	X	2,000	2,949	2,949	2,949	2,949	3,240	2,000	X
GLUTEN DE MILHO 18	X	X	X	X	X	2,000	2,000	2,000	3,082
VALOR TOTAL:	16,803	45,063*	31,568*	29,668*	31,568*	35,026*	23,191*	33,995*	72,53*

*Valor limite segundo legislação 20 µg/kg (ppb).

Fonte: Autoria própria.

No gráfico 1 está representado um comparativo entre os valores de aflatoxina nas matérias-primas antes do processo de extrusão e os resultados de acordo com o produto final, pós processamento.

Gráfico 1 - Resultados de aflatoxina pós extrusão

Fonte: Autoria própria.

Pode-se observar que apesar de algumas matérias-primas que obtiveram valores parciais de aflatoxina acima do permitido pela legislação, quando estas passam pelo processo de extrusão tem seu resultado no produto final modificado.

Destaque para o lote 9 que apresentou o maior índice de contaminação de aflatoxina e o menor após o processamento (no produto final). Esta redução deve-se ao processo térmico que é aplicado durante a etapa de extrusão.

Mesmo com as matérias-primas isoladas possuem valores dentro do permitido pela legislação, é favorável para empresa que a verificação destes componentes esteja com o mínimo possível do valor de aflatoxina, garantindo assim que seu produto esteja com um perfil bom de qualidade e baixos riscos de contaminação, garantindo a segurança alimentar dos pets.

Ainda são escassos os trabalhos que mostram a presença de aflatoxinas antes e pós processamento de matéria-prima em ração para cães. Muitos trabalhos descrevem a presença do fungo micotoxigênico na ração e/ou presença da toxina no produto final, em diferentes condições de armazenamento.

Scudamore et al. (1997), analisaram em 100 amostras de alimentos para animais de estimação (cães, gatos e pássaros domésticos) e encontraram aflatoxinas, ocratoxina e fumonisina apenas em 20 amostras.

Segundo Martins, Martins e Bernardo (2003), os gêneros de fungos micotoxigenicos mais predominantes em ração a granel e empacotada foram

Aspergillus (58%), *Penicillium* (38%) e *Mucor* (38%). Porém, os mesmos autores não encontraram a presença de aflatoxinas no produto final. Resultados semelhantes foram obtidos por (HUSSEIN; BRASEL, 2001), quando avaliou cereais destinados ao consumo animal (BENKERROUM; TANTAOU-ELARAKI, 2001) também observaram a prevalência desses fungos em amostras de ração, milho, cevada, trigo, farinha de peixe, soja e girassol.

Segundo Iamanaka (2010) relatou, os fungos do gênero *Aspergillus* produzem aflatoxinas em produtos em estocagem e umidade ambiental inadequados. Maia e Siqueira (2007) menciona que as aflatoxinas podem ser um problema pré e pós-colheita da matéria-prima.

Casos com óbito de cães no Brasil, devido à contaminação por aflatoxinas, alarmaram a indústria pet, levando estas empresas ao desenvolvimento de metodologias efetivas em seus programas de controle de qualidade (ALMEIDA JÚNIOR, 2018). Ainda assim, há relatos da presença desta micotoxina no produto final.

Os autores Maia e Siqueira (2007) detectaram aflatoxinas em 12% das rações para animais domésticos, com valores de 15 a 374 µg/kg, sendo valores muito superiores dos encontrados em nosso estudo. Contudo, as amostras de ração que continham amendoim ou derivados foram as que apresentaram maiores valores de aflatoxinas. Estes mesmos autores sugerem o monitoramento constante de aflatoxinas, por parte da indústria de rações para cães, gatos e pássaros, bem como a atenção dos criadores, pois estas micotoxinas comprometem a saúde animal.

Segundo Sharma e Marquez (2001), que estudaram os níveis de contaminação por aflatoxinas (AFB1, B2, G1, G2, M1, M2 e P1) em 35 rações para cães na cidade do México, detectando valores médios de 5 µg/kg. Os níveis mais elevados de aflatoxina B1 foram de 39,7 µg/kg de ração. Em nosso estudo, a mensuração de aflatoxina foi total, não especificando qual tipo estava presente.

Como os alimentos para cães são constituídos, na sua maioria, por cereais, há necessidade de um controle efetivo de micotoxinas. Métodos de identificação de micotoxinas e frequência de análises na matéria-prima, devem ser implementados na rotina da indústria de ração, incluindo a análise da ração oferecida aos animais.

8 CONCLUSÃO

Com a realização deste estudo podemos afirmar que embora tenha sido identificado a presença de aflatoxina, incluindo amostras com valores acima dos tolerados pela legislação, o processo térmico aplicado durante a fase de extrusão reduziu esta contaminação, sendo que nos resultados de produto final não foi identificado nenhuma amostra com valores acima de 20 µg/kg (ppb).

Com estes resultados, a empresa pode garantir que a ração Percane avaliada apresentou níveis de segurança para a alimentação animal dentro dos padrões de qualidade. Visto que o consumo de um produto com alto índice de contaminação de aflatoxina de forma frequente pode desencadear diversos problemas de saúde, trazendo consequências irreversíveis ao animal.

REFERÊNCIAS

ABECASSIS, J. et al. Influência das condições de extrusão na velocidade de extrusão, temperatura e pressão na extrusora e na qualidade da massa. **Cereal Chemistry**, v. 71, n. 3, p. 247-253, 1995.

ALMEIDA JÚNIOR, Sávio Tadeu. **Aflatoxinas e fumonisinas em alimentos comerciais para cães e gatos**. 2018. 47 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. **Mercado**, 2021. Disponível em: < <http://abinpet.org.br/mercado/> > Acesso em: 21 abr. 2021.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO – ANFAL Pet. **Manual do programa integrado de qualidade pet. PIQ PET**. 4º Edição. Maio de 2012.

BAHNIUK, G. et al. Micotoxinas e micotoxicoses em cães. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v. 19, n. 1, 2021, e38135. Disponível em: < <https://doi.org/10.36440/recmvz.v19i1.38135> > Acesso em: 14 ago. 2021.

BARKER, A. K. et al. **Tremorgenic Mycotoxicosis in Dogs**. Compendium: Continuing Education For Veterinarians, v. 35, n. 2, p. E2, fev. 2013.

BENKERROUM, S., TANTAOUI-ELARAKI, A., Study of toxigenic moulds and mycotoxins in poultry feeds, **Revue Médicine Veterinaire**, p 152: 335-345. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 7 de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 22 fev 2011. Seção 1, p. 72.

BUENO, Chris. **Relação entre homens e animais transforma comportamentos dos humanos e dos bichos**, 2020. Disponível em < http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252020000100004 > Acesso em 11 abr. 2021.

CRUZ, Juliana Victorino da Silva. **Ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em produtos à base de milho e milho utilizado como ingrediente de ração para animais de companhia, comercializados na região de Pirassununga, Estado de São Paulo**. 2010. 73 f. Tese (Doutorado em Zootecnia e Engenharia de Alimentos) – Universidade De São Paulo, Pirassununga, 2010.

CAMPOS, Sergio Gaspar de. **Monitoramento de aflatoxinas, fungos toxigênicos e níveis de contaminação em matérias primas e alimentos balanceados. Aflatoxicose natural em cães no estado do Rio de Janeiro**. 2007. 78 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária, Seropédica, Rio de Janeiro, 2007.

COUTO, Humberto Pena. **Fabricação de Rações e Suplementos para Animais**. Editora: Aprenda Fácil. 2010.

CHUANG, G. C.; YEH, A. Efeito da distribuição do tempo de residência do perfil do parafuso e da gelatinização do amido da farinha de arroz durante o cozimento por extrusão de parafuro único. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 21-31, 2004.

DILKIN, P. Micotoxiosa suína: Aspectos preventivos, clínicos e patológicos. **Biológico**, v. 64, p. 1-5, 2002.

FAO. **Regulamentações mundiais para micotoxinas 1995 - Compendium**. Roma: FAO Food and Nutrition, 1997. v. 64.

FRAILHA, Marcos; BIAGI, João Domingos; QUEIROZ, Marlene Rita de; BENEDETTI, Benedito Carlos; **Benefício do investimento energético na redução do tamanho de partículas na alimentação animal**, XII Simpósio de Engenharia de Produção - SIMPEP, v. 1, p.20-24, Bauru, SP, Brasil, 2005.

GOMES, A.R.; PEREIRA, C.M.P.; SALLIS, E.S.V., PEREIRA, D.I.B; SCHILD, A.L.; FARIA, R.O.; MEIRELES, M.C.A. **Aflatoxicose em cães na região Sul do Rio Grande do Sul**. *Pesq. Vet. Bras.* p. 34(2):162-166. 2014.

GUTERRES, K. et al. **Surto de aflatoxicose aguda em cães no município de Pelotas/RS**. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 11, p. 1281-1286, nov. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001100014>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/pvb/v37n11/1678-5150-pvb-37-11-01281.pdf>. Acesso em: 14 de ago. 2021.

HUSSEIN, S.H.; BRASEL, J.M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v.167, n.2, p.101-134, 2001.

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

LIMA, Daniele Cristina de. **Estabilidade de alimentos extrusados para cães armazenados em embalagens abertas e fechadas**. 2013. Trabalho apresentado como requisito parcial para obtenção do grau Bacharel em Zootecnia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

MAIA, Patrícia Penido; SIQUEIRA, Maria Elisa Pereira Bastos de. AFLATOXINAS EM RAÇÕES DESTINADAS A CÃES, GATOS E PÁSSAROS – UMA REVISÃO. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v.14, n.1, p. 235-257. 2007

MARTINS, Maria Lígia; MARTINS, H.; BERNARDO, Fernando Bernardo. Fungal flora and mycotoxins detection in commercial pet food. **Revista Portuguesa de Ciências**, p. 179-183, 2003.

MEISSONNIER, G. M.; OSWALD, I. P.; GALTIER, P. Aflatoxicoses em porcos: Estudo bibliográfico de dados clínicos e experimentais. **Revista de Medicina Veterinária**, v. 156, n. 12, p. 591-605, 2005.

OLIVEIRA, C.A.F.; GERMANO, P.M.L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidades e seu desenvolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, p. 417-418, 1997. RIAZ, M. N. Extrusion basics. In: KHAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. Pet Food technology. Illinois Mt Morris, p. 347-360, 2003.

PEZZINI, Vanessa; VALDUGA, Eunice; CANSIANI, Rogério Luis. Incidência de fungos e micotoxinas em grãos de milho armazenados sob diferentes condições. **Rev. Inst. Adolfo Lutz** (Impr.) [online]. vol.64, n.1, 2005.

PRESTES, Isabele D.; ROCHA, Liliana O.; NUNEZ, Karen V. M.; SILVA, Nathália C.C. **Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências**. Scientia Agropecuaria [online]. vol.10, n.4, 2019.

RIAZ, M. N. Extrusion basics. In: KHAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. Pet Food technology. Illinois Mt Morris, p. 347-360, 2003.

ROKEY, G.J., PLATTNER B., SOUZA E. M. Descrição do processo de extrusão do alimento. **In: IV Congresso Internacional e XI Simpósio sobre nutrição de animais de estimação - CBNA.** São Paulo – SP, maio de 2012.

SANTINI, Elizabeth et al. **Micotoxinas do fusarium spp na avicultura comercial.** Ciência Rural, Santa Maria, v.31, n.1, p.185-190, 2000.

SHARMA, M.; MÁRQUEZ, C. Determination of aflatoxins in domestic pet foods (dog and cat) using immunoaffinity column and HPLC. **Animal Feed Science and Technology**, v.93, p.109-114, set, 2001.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. **SETOR DE RAÇÕES DEVE TER CRESCIMENTO TÍMIDO EM 2021**, 2021. Disponível em < <http://sindiracoes.org.br/> > Acesso em 09 abr. 2021.

SILVA, Ana Gabrielle da Rocha e. **Fungos potencialmente micotoxigênicos em rações para animais domésticos comercializadas em Serra Talhada - PE.** 2019. 45f. Monografia (Graduação em Bacharel em Ciências Biológicas) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, 2019.

SILVA, M.C. et al. **Cirrose hepática em cães: 80 casos (1965-2003).** Pesq. Vet. Bras. p. 27:471-480, 2007.

SOBOLEV, V.S. **Simple, rapid, and inexpensive cleanup method for quantitation of aflatoxins in important agricultural products by HPLC.** National Peanut Research Laboratory. J. Agric. Food Chem. p. 55(6):2136-2141. 2007

SOUZA, K. K. de; SCUSSEL, V. M. Occurrence of dogs and cats diseases records in the veterinary clinics routine in South Brazil and its relationship to mycotoxins. **International Journal of Applied Science and Technology**, v. 2, n. 8, p. 129-134, out. 2012.

SCUDAMORE, K. A., et al. Determination of mycotoxins in pet foods sold for domestic pets and wild birds using linked-column immunoassay clean-up and HPLC. **Food Additives and Contaminants**, v. 14, n. 2, p. 175-186, 1997.