



Camila da Rosa Carnelosso

**EFEITO DO USO DE ADSORVENTES DE MICOTOXINAS NA DIETA DE VACAS
LEITEIRAS EM PROPRIEDADES FAMILIARES DO ALTO JACUI – RS**

Dissertação do Curso de Mestrado

Cruz Alta – RS, 2015

UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO PESQUISA E EXTENSÃO
MESTRADO PROFISSIONAL EM DESENVOLVIMENTO RURAL

Camila da Rosa Carnellosso

**EFEITO DO USO DE ADSORVENTES DE MICOTOXINAS NA DIETA DE VACAS
LEITEIRAS EM PROPRIEDADES FAMILIARES DO ALTO JACUI – RS**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Curso de Mestrado Profissional em
Desenvolvimento Rural da
Universidade de Cruz Alta, como
requisito parcial para a obtenção do
Título de Mestre em
Desenvolvimento Rural

Orientador: Prof. Med. Vet. Dr. Lucas Carvalho Siqueira

Cruz Alta – RS, Julho 2015

UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO PESQUISA E EXTENSÃO
MESTRADO PROFISSIONAL EM DESENVOLVIMENTO RURAL

**EFEITO DO USO DE ADSORVENTES DE MICOTOXINAS NA DIETA DE VACAS
LEITEIRAS EM PROPRIEDADES FAMILIARES DO ALTO JACUI – RS**

Elaborado por

Camila da Rosa Carnelosso

Como requisito parcial para obtenção do Mestre
em Desenvolvimento Rural

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Lucas Carvalho Siqueira _____ UNICRUZ

Prof. Dra. Juliana Medianeira Machado _____ UNICRUZ

Prof. Dr. Patricia Wolkmer _____ UNICRUZ

Cruz Alta, 31 Julho de 2015

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou

sobre aquilo que todo mundo vê.”
Arthur Schopenhauer

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pela ótima educação e incentivo que me foram proporcionados e que mais uma vez me apoiaram, e o fazem sem esperar nada em troca. Obrigada por muitas vezes abdicar dos sonhos de vocês para que os meus sejam realizados. Faltariam palavras para expressar todo o amor e gratidão que sinto. Com meu pai, reparto a alegria e a satisfação do trabalho concluído. Te amo muito. Muito obrigada.

À minha irmã que partilhou comigo todos os momentos de minha vida e que muitas vezes deixa suas coisas de lado para me atender. Obrigada pelo amor e cumplicidade!

Aos meus avós pelo carinho e amor incondicional, compreensão e amizade que ainda temos a oportunidade de compartilhar.

Ao meu orientador, Prof. Lucas Siqueira, pela amizade, compreensão e suporte, e acima de tudo pelo carinho e paciência que aceitou me orientar neste trabalho.

À Prof. Daniele Furian Araldi pelo apoio e atenção dada à minha pessoa no decorrer de meus estudos.

Aos colegas pela amizade, e parcerias em trabalhos e aulas, os quais foram muito importantes para o desenvolvimento da presente dissertação.

À Universidade Cruz Alta e ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Rural, pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa.

RESUMO

EFEITO DO USO DE ADSORVENTES DE MICOTOXINAS NA DIETA DE VACAS LEITEIRAS EM PROPRIEDADES FAMILIARES DO ALTO JACUI – RS

Autor: CARNELOSSO, Camila da Rosa

Orientador: SIQUEIRA, Lucas Carvalho

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a contaminação por Aflatoxina B1 em alimentos usados nas dietas, o efeito do uso de um adsorvente comercial de micotoxinas na concentração de Aflatoxina M1 no leite e sua influência na composição do leite produzido por vacas mantidas em sistema de semi-confinamento em propriedades familiares da região do Alto Jacuí – RS. O estudo foi realizado no período de fevereiro a maio de 2015 onde se avaliou e selecionou 17 propriedades produtoras de leite representativas da Região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Todas as vacas em lactação dos rebanhos selecionados receberam 50 g/vaca/dia de um adsorvente comercial aprovado para vacas em lactação, composto de bentonita 100%. O produto foi fornecido uma vez ao dia, durante dez dias, individualmente, misturado a alimentação concentrada. De cada propriedade foram analisadas 2 amostras de leite do tanque de resfriamento para a análise de Aflatoxina M1. As amostras para análise da qualidade do leite foram coletadas nos dias 0, início do fornecimento do adsorvente, e dia 10. Foram coletadas amostras de silagem de milho e concentrado nos dias 0 e 5 do experimento. Os dados foram submetidos à análise de variância. Em todas as 17 amostras de leite analisadas foram detectadas a presença de Aflatoxinas M1, onde os valores obtidos estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação nacional. Das amostras de concentrado comercial analisadas, em todas foi possível detectar a presença de Aflatoxinas, das quais 2 (11,76%) observou-se presença acima do limite estabelecido pela legislação. Todas as amostras de silagem apresentaram positividade para presença de Aflatoxinas. Em 8 (47,05%) detectou-se presença acima do limite permitido. Ao avaliar os resultados relativos à qualidade do leite, não se verificou diferença das amostras entre os dias de coleta ($p > 0,05$). Conclui-se que existe alto índice de contaminação por Aflatoxina B1 nas silagens e concentrados usados na dieta das vacas mantidas em propriedades familiares da região do Alto Jacuí – RS. Nas condições avaliadas neste estudo, o uso do adsorvente de micotoxinas não teve efeito sob as concentrações de Aflatoxina M1 no leite e nem modificou os

parâmetros de qualidade avaliados.

PALAVRAS-CHAVE: Aflatoxina, bentonita, vacas de leite, leite.

ABSTRACT

EFFECTS OF A MYCOTOXIN ADSORBENTS USE ON THE DIET OF DAIRY COWS IN FAMILY FARMS FROM ALTO JACUÍ

Author: CARNELOSSO, Camila da Rosa

Advisor: SIQUEIRA, Lucas Carvalho

The present study aimed to evaluate the effects of a mycotoxin adsorbent use on the diet of dairy cows in family farms from Alto Jacuí. It was conducted from February to May from 2015, when 17 representative farms were selected. During experimental period, every lactating cow on each heard received 50 g/day of a commercial mycotoxin adsorbent for dairy cows, containing 100% of bentonite. The product was feed once a day, for ten days, mixed with the concentrated portion of diet. From each farm, 2 Bulk milk samples (day 0, before the absorbent administration and 5 days after) were collected for Aflatoxin M1 determination. Other 2 milk samples were collected on Days 0 and 10 to evaluate milk quality. Corn Silage and concentrated samples were also collected on days 0 and 5, to Aflatoxin B1 quantification. Data were submitted to variance analyses. Aflatoxin M1 was detected in all milk samples examined, but values were bellow nation regulation requirement. Also, Aflatoxin B1 was also detected in all samples of Corn silage and concentrate, 11,76% and 47,05% were above maximum limit required for animal feeding. No effect ($p>0,05$) of the mycotoxin adsorbent use was observed on milk quality or Aflatoxin M1 on milk. Based on the condition in which the present study was conducted, it is possible to conclude that there is a high incidence o Aflatoxin B1 contamination on Corn Silage and concentrates feed to dairy cows on family farms from Alto Jacui - RS. Also, that the mycotoxin adsorbent neither reduced Aflatoxin M1 nor modified milk parameters evaluated.

KEY WORDS: Aflatoxin, bentonite, dairy cows, milk.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Níveis detectados de Aflatoxinas M₁ e suas variações em amostras de leite cru coletadas em tanque de expansão em propriedades produtoras de leite tipo B, em 6 municípios da região Noroeste do Rio Grande do Sul durante fevereiro a maio de 2015 (em µg/l).....26

TABELA 2 - Níveis detectados de Aflatoxinas em 17 amostras de concentrados comerciais, coletadas em propriedades produtoras de leite tipo B, em 6 municípios da região Noroeste do Rio Grande do Sul, no período de fevereiro a maio de 2015 (em µg/kg).....26

TABELA 3 - Níveis detectados de M₁, em 17 amostras de silagem destinadas ao consumo animal, coletadas em propriedades produtoras de leite tipo B, em 6 municípios da região Noroeste do Rio Grande do Sul, durante fevereiro a maio 2015 (em µg/kg).....27

TABELA 4 - Características químicas, contagem de células somáticas e níveis de nitrogênio ureico do leite em amostras de tanque.....28

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Variação da contaminação de Aflatoxina M1 em amostras de leite transformadas em porcentagem (%) por propriedades.

FIGURA 2: Níveis detectados de Aflatoxina M1 no leite. Representação das concentrações de Aflatoxina M1 no leite nos dias 0 e 5.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cb – columbio

dl – decilitro

DON – Desoxinivalenol

FEE – Fundação de Economia e Estatística

g – grama
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
kg – Quilo
l – Litro
µg – Miligrama
ml – Mililitro
nº - Numero
O₂ – Símbolo de Oxigenio
°C – Grau Celcius
OTA – Ocratoxina
pH – Potencial de hidrogênio
PIB – Produto interno Bruto
ppb – Parte por Milhão
RS – Rio Grande do Sul
ZEA – Zearalenona

LISTA DE SÍMBOLOS

+ - mais
° - graus
% - porcentagem
± - mais ou menos

>- maior que

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. Efeito das Aflatoxinas e micotoxinas na alimentação de bovinos leiteiros.....	15
2.2. Uso e tipos de adsorventes na alimentação de bovinos leiteiros.....	17
2.3. Conservação dos alimentos para bovinos leiteiros.....	18
2.4. Qualidade do leite.....	19
3. ARTIGO CIENTÍFICO - EFEITO DO USO DE ADSORVENTES DE MICOTOXINAS NA DIETA DE VACAS LEITEIRAS SEMI-CONFINADAS EM PROPRIEDADES FAMILIARES DO ALTO JACUI – RS	21
3.1. Resumo.....	21
3.2. Introdução.....	22
3.3. Material e Métodos.....	23
3.4. Resultados e Discussão.....	25
3.5. Conclusão.....	28
REFERENCIAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o sexto maior produtor de leite do mundo. Cresce a uma taxa anual de 4%, superior à de todos os países que ocupam os primeiros lugares, respondendo por 66% do volume total de leite produzido nos países que compõem o Mercosul, tendo uma produção de leite inspecionado de 22,338 bilhões/litro em 2012, aumentando para 23,545 bilhões/litro em 2013 (CONAB, 2014). O crescimento de sistemas intensivos e semi-intensivos na criação desses animais tem aumentado a necessidade do armazenamento de alimentos para utilização em períodos de estiagem prolongada. Nesse sentido, a utilização de resíduos agro-industriais como suplemento alimentar para o rebanho bovino leiteiro, assume um papel econômico significativo, diante da disponibilidade e versatilidade destes insumos. A demanda de concentrado no Brasil é de 64,4 milhões de toneladas contabilizadas sendo que para o setor leiteiro foi utilizado 5,5 milhões de toneladas para 2014, e com o aumento do valor recebido pelo litro de leite o produtor tem a tendência de usar cada vez mais rações e volumosos para incrementar sua produção (SINDIRAÇÕES, 2014).

No Brasil, as pesquisas sobre a qualidade dos alimentos destinados ao consumo animal vêm demonstrando, cada vez mais, os problemas causados pelas micotoxinas (PARREIRAS *et al.*, 1987; SCUSSEL *et al.*, 1984; FONSECA *et al.*, 2000; MATTOS *et al.*, 2005; MACHADO *et al.*, 2006;). O clima tropical e subtropical de certas regiões brasileiras é adequado ao desenvolvimento de fungos e, conseqüentemente, a produção das micotoxinas. Estudos em busca de Aflatoxinas no leite em algumas regiões do país também relatam a contaminação com valores diferenciados. Os valores encontrados apresentam-se entre 0,30 e 0,920 µg/Kg de leite (SABINO *et al.*, 1988; SOUZA, 1997; PRADO *et al.*, 1999).

Devido aos riscos a saúde pública e aos prejuízos nos sistemas de criação quanto à conversão alimentar, crescimento e produção surgiram pesquisas no uso de produtos que possam neutralizar essas toxinas, conhecidos como adsorventes. Estes tem seu efeito baseado na habilidade de ligarem-se as micotoxinas que passam através do trato gastrointestinal (DAWSON *et al.*, 2006). Materiais adsorventes, tais como argilas bentonites, adicionada a

dietas contendo alimentos contaminados têm ajudado a reduzir os efeitos de micotoxinas (LINDEMANN *et al.*, 1991; DIAZ *et al.*, 1997). No entanto, seus efeitos parecem ser dependentes da dose utilizada, pois enquanto sua adição na dose 0,1% não afetaram os níveis de Aflatoxina M1 no leite, a concentração de 1% se mostrou eficaz (GALVANO *et al.*, 1996; DIAZ *et al.*, 1999).

A importância econômica da atividade para as diversas regiões do Brasil e para os municípios traz muitos benefícios, gerando renda e empregos, porém cabe ressaltar que alguns estudiosos em Desenvolvimento Regional, fazem um alerta sobre o fator e a possibilidade de exclusão de alguns produtores menos tecnificados da atividade leiteira. Isso devido à relação tecnologia-productividade da cadeia do leite. A queda do volume de leite, motivado principalmente pela redução da disponibilidade e qualidade nutricional das pastagens, que fazem que seja fundamental o uso de alimentos forrageiros conservados e concentrados.

Sendo assim, o controle de matérias primas utilizadas na alimentação dos animais, destaca-se como ponto fundamental para garantir a produção de leite com qualidade. Nesse sentido esse trabalho tem por objetivo avaliar o efeito do uso de um adsorvente comercial de micotoxinas (Toxfree MilkPower®, Nutrifarma) na concentração de Aflatoxina M1 no leite produzido por vacas mantidas em sistema de semi-confinamento em propriedades familiares da região do Alto Jacuí – RS

2. REVISÃO DE LITERATURA

O termo micotoxina é originário de uma palavra grega “mykes” (fungo) e de uma palavra do latim “toxicum” (toxina) (LAZZARI, 1997). É usado para designar um grupo de compostos, altamente tóxicos, produzidos por certos fungos ou leveduras. Estes são organismos aeróbios que se desenvolvem em lugares que apresentam baixa disponibilidade de água, e normalmente inadequados para o crescimento de bactérias (NEWMAN, 2000).

As micotoxinas são substâncias tóxicas resultantes do metabolismo secundário de fungos filamentosos, que se desenvolvem naturalmente em produtos utilizados para alimentação humana ou animal. São conhecidas diversas toxinas e cada uma relacionada a determinados sinais clínicos, em bovinos leiteiros as principais são a *Zearalenona* e *Aflatoxina* (MOLIN, 1999). O efeito de uma micotoxina depende da dose e da frequência com que é ingerida e pode ser agudo ou subagudo, sendo efeito agudo a manifestação e percepção rápida, podendo levar à morte, por causar alterações irreversíveis sendo resultante da ingestão de doses geralmente elevadas, o efeito subagudo é o resultado de doses menores que provocam distúrbios e alterações nos órgãos dos humanos e dos animais (BENNETT; KLICH, 2003; MURPHY *et al.*, 2006; SHEPHARD, 2008).

Os fungos também podem se desenvolver em condições de campo, durante o transporte ou durante o período de armazenamento dos alimentos, quando as condições são favoráveis ao seu crescimento (JOUANY, 2001). Diante disto, as micotoxinas produzidas durante a esporulação podem intoxicar os animais que consomem alimentos contaminados, e desta forma são transferidas para os seus produtos, tal como o leite ou a carne pondo em risco a saúde humana (BRUERTON, 2001; LAZZARI, 1997). Isto muitas vezes se deve a baixa tecnificação das propriedades da região onde não há boa seleção da matéria prima para os alimentos e armazenagem para os mesmos.

2.1. Efeitos das Aflatoxinas e micotoxinas na alimentação de bovinos

leiteiros

Os grãos de cereais utilizados para produção de rações e os volumosos como silagens, feno, pré-secados e pastagens ficam pré-dispostos ao ataque de fungos de vários tipos que ocorre com certas condições, como presença de esporo do fungo, substrato orgânico, níveis adequados de oxigênio, umidade, temperatura e acidez (MOSS, 1991; WHITLOW; HAGLER JUNIOR, 1999). A contaminação pode ser influenciada por algumas práticas comuns na produção agrícola, como a antecipação da colheita que pode afetar reduzindo a ocorrência de infestação dos grãos por insetos e fungos, e conseqüentemente a produção de micotoxinas (LÁZZARI, 1997). Com uma colheita tardia pode-se favorecer a ocorrência de grãos ardidos (com proliferação fúngica) e atacados por insetos, reduzindo os teores de umidade e comprometendo o grão que será armazenado com fungos aderido na superfície (CAST, 2003).

Dentre as micotoxinas que contaminam os alimentos, as mais estudadas e de maior importância econômica são as aflatoxinas, zearalenona, tricotecenos, fumonisina e ocratoxina (MOLIN,1999). Micotoxinas de maior importância são originadas do fungo *Fusarium* sendo elas a Desoxinivalenol (DON), e Zearalenona (ZEA), a Aflatoxina produzida por fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* que é eliminada através do leite na forma de Aflatoxina M₁ com resíduos equivalentes a 1 a 2% do nível existente na dieta merecem uma atenção especial em saúde pública (JOUANY, 2001).

Aflatoxinas são metabólitos secundários, produzidos por fungos do gênero *Aspergillus*, especialmente *A. flavus* Link (SARGEANT *et al.* 1961), *A. parasiticus* Speare (DIENER *et al.*, 1987), *A. nomius* Kurtzman (KURTZMAN *et al.* 1987) e *A. pseudotamarii* (ITO *et al.*, 2001). Dentre estes, *A. parasiticus* e *A. nomius* são produtores de aflatoxinas da série B e G, enquanto que as cepas de *A. flavus* e *A. pseudotamarii* são produtoras da série B (DIENER *et al.*, 1987, GOURAMA; BULLERMAN 1995; PITTET 1998; ITO *et al.*, 2001). Estas toxinas são moléculas altamente tóxicas, conhecidas como os mais potentes hepatocarcinógenos naturais (PITT, 2000). Dentre as 23 Aflatoxinas identificadas até o momento, as B1, B2, G1 e G2 são as mais encontradas em produtos agrícolas. A maioria destas toxinas resulta do metabolismo fúngico, entretanto algumas são produtos da biotransformação hepática, como aflatoxico1 (AFL), AFB 2a, AFM1, AFM2, AFP1 e AFQ (SWICK, 1984).

Para formação de Aflatoxinas as condições são muito variadas, sendo a temperatura um dos principais fatores envolvidos. Em grãos, a faixa viável para a sua produção situa-se entre 11 e 37°C, sendo que fungos toxigênicos podem infectar os cultivos em crescimento, em conseqüência de danos causados por insetos e outros agentes e produzir toxinas antes da

colheita, durante essa e após seu armazenamento (MALLMANN *et al.*, 1994). Períodos de seca durante o cultivo do milho, temperatura e umidade acima do ideal no armazenamento dos grãos ou rações são fatores importantes na produção de aflatoxinas.

As Aflatoxinas M₁ são substâncias altamente carcinogênicas sendo liberada no leite quando o animal ingere alimento contaminado com Aflatoxina B₁. A grande variedade de alimentos disponíveis para consumo humano, o leite destaca-se pela sua rica constituição sendo consumido por todas as faixas etárias em todo o mundo (HUSSEIN; BRASEL, 2001). No estado de São Paulo- Brasil foi analisado 43 mostras de leite comercializado de diversas regiões sendo 17 (39,5%) positivas para presença de Aflatoxina M₁ das quais 11 (64,7%) apresentaram concentração acima de 0,5 µg/l, limite máximo permitido pela legislação brasileira para presença de M₁ no leite fluido (GONÇALEZ *et al.*, 2005). Embora esses fungos sejam comuns, a contaminação de alimentos depende das condições de cultivo, colheita, armazenamento e processamento (MOLIN, 1999).

As fumonisinas são um grupo de micotoxinas produzidas por várias espécies do gênero *Fusarium*, principalmente por *F. moniliforme* Sheldon (NELSON *et al.*, 1991) e *F. proliferatum* Matsushima (MEREDITH 1999; CREEPY 2002). Outras espécies fúngicas, tais como *F. nygamai*, *F. dlamini*, *F. anthropilum*, *F. subglutinans*, *F. napiforme* (THIEL 1991, NELSON *et al.* 1992) e *Alternaria alternata* (CHEN *et al.* 1992) também produzem esta micotoxina, embora em menores quantidades. Os sinais clínicos da intoxicação por fumonisinas em bovinos geralmente restringem-se a anorexia e letargia (SMITH; THAKUR 1996, MATHUR *et al.* 2001a), sem qualquer outro tipo de alteração clínica (MATHUR *et al.*, 2001b).

A ocratoxina A é uma micotoxina nefrotóxica e nefrocarcinogênica produzida por *Penicillium verrucosum* Dierckx (PITT, 1987) em locais de clima frio e temperado, e por *Aspergillus ochraceus* Wilhelm em regiões de clima quente e tropical (SWEENEY; DOBSON, 1998). Outras espécies produtoras desta toxina incluem *A. sulphureus*, *A. sclerotium*, *A. melleus* (MOSS, 1996) e *A. alliaceus* (BAYMAN *et al.*, 2002). Os efeitos tóxicos da OTA em bovinos estão relacionados ao estado funcional do rúmen, devido à hidrólise enzimática da OTA em OTa e fenilalanina pelos microrganismos ruminais (GALTIER; ALVINERIE, 1976; KIESSLING *et al.*, 1984), o que justifica a maior susceptibilidade de animais pré-ruminantes à esta toxina (KIESSLING *et al.*, 1984, SREEM ANNARAYANA *et al.*, 1988). Esta toxina também pode ser excretada através do leite. Em estudos realizados nos Estados Unidos da América a análise de leite de bovino revelaram que 14% estavam contaminadas com ocratoxina A com concentrações entre 10 e 40 µg/L

(EMANUELSON *et al.*, 1993). A transferência da ocratoxina através da barreira placentária também pode ocorrer, como demonstrado por Ferrufino *et al.*, (2000) ao administrar 10-20 µg de OTA/kg/dia durante 19 dias a coelhos.

A zearalenona é produzida por espécies de *Fusarium*, principalmente *F. graminearum* Schwabe, embora outras espécies como *F. tricinctum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides* e *F. lateritium* também sejam produtoras dessas toxinas (SHIER, 1998). Em bovinos leiteiros, a intoxicação por zearalenona é geralmente mais aparente em fêmeas imaturas (SUNDLOF; STRICKLAND, 1986), as quais podem apresentar estro prolongado e diminuição na taxa de concepção, não sendo observados quaisquer outras alterações sobre os parâmetros clínicos ou bioquímicos (WEAVER *et al.*, 1986; SCHUH, 1997).

2.2. Uso e tipos de adsorventes na alimentação de bovinos leiteiros

As micotoxinas são geralmente encontradas em combinações em rações completas para animais. Um substrato com ampla capacidade de ligação irá assegurar que pelo menos uma fração das micotoxinas se tornará não biodisponível e as micotoxinas biodisponíveis estarão abaixo do limiar de atividade biológica. A ampla capacidade de um agente ligante de ligar-se ao substrato irá minimizar o potencial de sinergia toxicológica entre as micotoxinas (CAVALLARIM *et al.*, 2004)

Conhecidos como adsorventes de micotoxina ou agentes ligantes, os aditivos especiais para ração são a abordagem mais comumente utilizada para prevenir e tratar a micotoxicose em animais. Segundo Olver (1997), os adsorventes aderem à Aflatoxina e impedem sua absorção pelo trato gastrointestinal, tornando-a inerte e não tóxica para os animais, desta forma as micotoxinas e o agente ligante são excretados pelas fezes.

O nível efetivo de inclusão dos adsorventes de micotoxina na dieta irá depender da capacidade de ligação do adsorvente à micotoxina e do grau de contaminação da ração em questão. Uma alta capacidade de ligação irá minimizar o nível de inclusão e minimizar a redução na densidade nutricional causada pelo uso do adsorvente. Altos níveis de inclusão de adsorventes também podem alterar as propriedades físicas da ração, o que poderia comprometer o seu processamento como a formação de *pellets*, além de alterar a especificação efetiva da dieta.

O produto utilizado neste trabalho é um adsorvente de micotoxinas que tem capacidade de adsorção das principais micotoxinas que afetam o gado leiteiro, como Aflatoxina, Zearalenona, Fumonisinina. Único produto no mercado com comprovação *in vivo* para controle de Aflatoxina M1 no leite. Sua ação em bovinos de leite promove de forma

eficaz a prevenção e controle das micotoxicoses que afetam a reprodução, a saúde e a produtividade das vacas leiteiras (CAVALLARIM *et al.*, 2004). Em sua composição apresenta bentonita 100%, um mineral constituído essencialmente por argilominerais do grupo das esmectitas e origina-se mais frequentemente das alterações de cinzas vulcânicas.

2.3. Conservação dos alimentos para bovinos leiteiros

As condições associadas ao processo de conservação de forragens (anaerobiose e baixo pH) são desfavoráveis para o desenvolvimento da grande maioria dos fungos. Entretanto, caso o silo seja passível de entrada de ar, como perfurações na lona ou no momento da abertura do silo, o desenvolvimento destes microrganismos se torna viável, principalmente em regiões que estão mais em contato com o ar (CAVALLARIM *et al.*, 2004). Deterioração de silagens por fungos filamentosos envolvem perdas de nutrientes e energia e riscos por contaminação por micotoxinas (WILKINSON, 1999). A produção de micotoxinas é dependente da espécie fúngica e ocorre sob certas condições, que incluem a presença de esporos do fungo, substrato orgânico e níveis adequados de umidade, oxigênio, temperatura e acidez (MOSS, 1991; WHITLOW *et al.*, 1999). O crescimento de fungos vem acompanhado pela produção de micotoxinas na massa. Dessa forma, os animais que são alimentados com grandes proporções de silagem na ração (vacas leiteiras) podem intoxicar-se, causando efeitos diretos ao seu desempenho e colocando em risco a saúde humana que utiliza alimentos de origem animal ao longo da cadeia alimentar (WHITLOW; HAGLER JR., 1997).

Os fungos produtores de substâncias tóxicas podem ser encontrados em produtos agrícolas durante o cultivo, colheita, transporte e armazenamento. A eventual presença de micotoxinas em alimentos, rações e outros produtos exportáveis, constituem problema de ordem sanitária de alta prioridade nos países participantes do comércio exterior. A prevenção pode ser feita pela redução da contaminação fúngica dos grãos ainda no campo, mediante secagem dos produtos em níveis seguros de umidade (atividade de água e teor de umidade). Todavia, tal prática não oferece garantias quando as condições de armazenamento e transporte dos produtos não são adequadas, havendo com isso o risco de se umedecerem em razão à diversos fatores.

Segundo Correa, (1993), a pesquisa de fungos, efetuada através dá contagem de colônias em meio de cultura (nº de unidades formadoras de colônias por grama de alimento) é de grande utilidade para assegurar a qualidade da secagem. Como alternativa, existem métodos que utilizam substâncias químicas (fungicidas) no tratamento de grãos e rações que, apesar de não destruírem as micotoxinas, inibem o desenvolvimento fungico. Técnicas,

criadas e aplicadas para o controle das Aflatoxinas, baseiam-se na utilização de propriedades físicas e químicas de solubilidade, sensibilidade à luz ultravioleta e degradação química, transformando-as em produtos não tóxicos.

À prevenção, por meio de práticas agrícolas adequadas, ainda é a melhor maneira de se combater a problemática das micotoxinas e micotoxicoses (MALLOZI; CORREA, 1998; GIL; LIMA, 1996). Algumas medidas viáveis previnem a produção de fungos e de micotoxinas desde o plantio da cultura, trabalhar com a umidade adequada na colheita: grãos no estágio de farináceo duro, de 30% a 35% de matéria seca na planta toda. E ainda, compactar adequadamente o material e preencher o silo o mais rápido possível cuidando da vedação para não infiltrar água e manejar a retirada da silagem evitando exposição do material ao tempo. Para prevenção de micotoxinas em feno, secar para enfardar, colher com 18% a 25% de umidade por conta da qualidade nutricional e do melhor aproveitamento das folhas. Armazenar em lugares secos e arejados para fardos sem envoltório (PRODUTOR PARMALAT, 2000).

2.4. Qualidade do Leite

A qualidade do leite é definida por Wolter (1997) como sendo o conjunto das propriedades desejadas pelo consumidor. Ou seja, implica em segurança da qualidade sanitária (bacteriológica e química), valor gastronômico (sabor, odor) e valor nutricional. Assim, a qualidade do leite está ligada a sua faculdade de conservação e aptidão de ser transformado, como rendimento, em derivados igualmente inócuos, saborosos e de alto valor nutritivo. A contaminação de alimentos humanos e animais por micotoxinas representa perdas econômicas bastante significativas, além de representar riscos a saúde (HUSSEIN; BRASEL, 2001)

O alimento consumido pela vaca tem efeito sobre a cor, sabor e odor do leite, portanto, silagens, fenos e outros alimentos mal conservados podem modificar as qualidades organolépticas do leite. A ingestão de aflatoxinas pode levar a um quadro de intoxicação aguda ou crônica, dependendo da concentração ingerida. Seus efeitos toxicológicos somente ocorrem após a ativação metabólica de suas moléculas pelas enzimas hepáticas. A Aflatoxina B1 pode ser biotransformada no fígado de animais, incluindo o homem, em vários outros metabólitos tóxicos, tais como Aflatoxina M1 (AFM1) que é excretada pelo leite. Quando um animal ingere um alimento contaminado com Aflatoxina B1, de 0,5 a 5% da toxina ingerida é biotransformada em Aflatoxina M1 (HUSSEIN; BRASEL, 2001). A imprecisão dos valores de conversão de AFB1 em AFM1 reforça a importância de realizar análises rotineiras no leite

e em seus derivados como fator imprescindível para o controle da presença de AFM1 (PEREIRA *et al.*, 2005).

Acreditava-se que a taxa de passagem da micotoxina do alimento para o leite era de 2%. Porém, estudos recentes colocaram em evidência que tal taxa está correlacionada com dois fatores: potencial produtivo do animal e estágio de lactação. Os valores de 2 a 2,5% referem-se a vacas com produção entre 16-25 kg/dia em estágio de lactação avançado. Como os animais estão se tornando cada vez mais produtivos, com produção superior a 30 kg de leite, a taxa se torna mais elevada, com valores próximos a 4% (VELDMAN *et al.*, 1992). Por estas razões, se faz necessário colocar em ação todas as estratégias para reduzir a penetração de O₂ no silo, evitando seus efeitos deletérios, tanto de ordem nutricional como sanitária, durante o armazenamento ou durante o consumo da silagem.

A ocorrência de Aflatoxina M1 no leite de vacas é uma questão de saúde pública, pois essa toxina é classificada como possível carcinógeno para o homem (classe 2B), sendo também observado uma alta atividade genotóxica em animais de experimentação (LÓPES *et al.*, 2001). Portanto, a Organização Mundial de Saúde recomenda a redução do consumo de Aflatoxina M1 para um nível que minimize o risco potencial de sua ingestão. A legislação na União Européia estabelece uma concentração máxima permitida de 0,005 µg de Aflatoxina B1/kg de alimento (5ppb), e 0,05 µg de Aflatoxina M₁ por litro ou quilo (0,05ppb) de leite. Já a americana é um pouco mais tolerante quanto à Aflatoxina M₁, pois permite uma concentração máxima de 0,5 µg (0,5ppb) por litro de leite (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 1996). No Brasil, o limite máximo de Aflatoxina M1 permitido segue a definição do MERCOSUL, GMC/ RES. n°56/94, onde estabelece 0,5 µg/ (ppb) em leite fluído e 5,0 µg/l (ppb) para leite em pó (BRASIL, 2002).

3. ARTIGO CIENTÍFICO - EFEITO DO USO DE ADSORVENTES DE MICOTOXINAS NA DIETA DE VACAS LEITEIRAS SEMI-CONFINADAS EM PROPRIEDADES FAMILIARES DO ALTO JACUI – RS

CARNELOSSO, Camila da Rosa¹; MÜHL, Jaíne Juliane¹; PRADO, Josué¹; PASINI, Maurício Paulo Batistella¹; MORGAN, Matheus¹; ARALDI, Daniele Furian¹; SIQUEIRA, Lucas Carvalho²

3.1. Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação uso de um adsorvente de micotoxina na concentrações de Aflatoxina M1 no leite e sua influencia na composição do leite produzido por vacas em propriedades familiares da região do Alto Jacuí-RS. O estudo foi realizado no período de fevereiro a maio de 2015 onde se avaliou e selecionou 17 propriedades produtoras de leite representativas da Região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Todas as vacas em lactação dos rebanhos selecionados receberam 50 g/vaca/dia de um adsorvente comercial aprovado para vacas em lactação, composto de bentonita 100%. O produto foi fornecido uma vez ao dia, durante dez dias, individualmente, misturado a alimentação concentrada. De cada propriedade foram analisadas 2 amostras de leite para a análise de Aflatoxina M1. As amostras para análise da qualidade do leite foram coletadas nos dias 0, início do fornecimento do adsorvente, e dia 10. Foram coletadas amostras de silagem e concentrado nos dias 0 e 5 do experimento Os dados foram submetidos à análise de variância e analisados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, tanto para os fatores quanto para a interação entre eles. Os dados quantitativos foram submetidos à regressão polinomial. Em todas as 17 amostras de leite cru analisadas foram detectadas a presença de Aflatoxinas M1, onde os valores obtidos estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação nacional. Das 17 amostras de concentrado comercial analisadas, em todas foi possível detectar a presença de Aflatoxinas, das quais 2 (11,76%) observou-se presença acima do limite estabelecido pela legislação. Todas as amostras de silagem apresentaram positividade para presença de Aflatoxinas. Em 8 (47,05%) detectou-se presença acima do limite permitido. Ao avaliar os resultados relativos à qualidade do leite, não se verificou diferença das amostras entre os dias de coleta ($p>0,05$). Conclui-se que existe alto índice de contaminação por Aflatoxina B1 nas silagens e concentrados usados na dieta das vacas mantidas em propriedades familiares da região do Alto Jacuí – RS. Nas condições avaliadas neste estudo, o uso do adsorvente de micotoxinas não teve efeito sob as concentrações de Aflatoxina M1 no leite e nem modificou os parâmetros de qualidade avaliados..

PALAVRAS-CHAVE: Micotoxinas, adsorvente, vacas de leite.

¹ Universidade de Cruz Alta.

3.2. Introdução

Na região Noroeste do Estado a atividade leiteira tem fundamental importância para a sustentabilidade das propriedades que são compostas basicamente de mão de obra familiar. A atividade leiteira proporciona a esses agricultores uma remuneração mensal, auxilia nos gastos com a manutenção familiar e permite a melhoria da segurança alimentar, por meio da produção de alimentos para a subsistência utilizando o leite e seus derivados na alimentação diária. Nas propriedades de agricultura familiar, o leite tem importante participação na composição da renda gerada no mesmo, especialmente se levar em conta que a agricultura familiar representa boa parte das propriedades agrícolas. Entende-se por agricultura familiar uma forma de organização social, cultural, econômica e ambiental, na qual são trabalhadas atividades agropecuárias e não agropecuárias de base familiar, desenvolvidas em estabelecimento rural ou em áreas comunitárias próximas, gerenciadas por uma família com predominância de mão de obra familiar (LEMARCHE, 1993).

A atividade leiteira é um segmento de grande relevância para o desenvolvimento econômico da região, permitindo a fixação do homem no campo, minimizando o desemprego e a exclusão social. No Rio Grande do Sul, a produção de leite concentra-se na região do Planalto Missões, Alto Jacuí e Alto Uruguai. De acordo com Mühlbach (2000), é uma das regiões mais privilegiadas para produzir leite, em função do solo, recursos hídricos e clima. Vale ressaltar que o principal fator do sistema leiteiro é a alimentação do rebanho, que age significativamente sobre os sistemas de produção de leite. No que tange à alimentação do rebanho leiteiro, temos a considerar que ela representa um complicador a mais na produção e na produtividade de leite, visto que afeta diretamente a produção. Por serem pequenas propriedades familiares estas usam de pouca tecnologia na produção e armazenamento dos alimentos destinados aos animais o que é preocupante pela oportunidade de desenvolvimento e crescimento de fungos produtores de micotoxinas.

A ocorrência natural das micotoxinas na cadeia alimentar humana e animal pode se dar direta e indiretamente. Na contaminação direta, é o próprio alimento de origem vegetal ou animal, o substrato para o crescimento do fungo toxigênico. A maioria deles, uns mais e outros menos, podem crescer em diferentes estágios da produção, beneficiamento, transporte e/ou armazenagem dos alimentos. Ao contrário, a contaminação indireta ocorre quando ingredientes do alimento recebem a micotoxina (CARVALHO, 1995).

As micotoxinas são produzidas por fungos, quando estes atingem seu crescimento máximo. Como resultado, podem permanecer no alimento por anos, mesmo após a morte dos

fungos produtores. Numa ocasião, grãos estocados por 12 anos ainda continham Aflatoxina, potente metabólico, típico dos *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, provavelmente formada após o armazenamento (HAYES, 1980).

Para que se tenha maior controle recomenda-se o uso de aditivos como os adsorventes misturados à alimentação animal. Os adsorventes são capazes de diminuir a absorção das micotoxinas em 28 horas após o início do fornecimento do aditivo aos animais. Estes são adicionadas às rações não sendo absorvidas no trato gastrointestinal, tendo por objetivo nessa ocasião, ligar-se a micotoxinas de modo a transportá-las total ou parcialmente para fora do trato digestório, impedindo dessa maneira que venha a ocorrer à intoxicação dos animais (aves, suínos, equinos, peixes, bovinos) (FASSANI, 2004).

É evidente a possibilidade de contaminação por micotoxinas dos ingredientes utilizados nas dietas, do leite produzido e da carência de estudos que avaliem a viabilidade do uso de adsorventes na alimentação de bovinos leiteiros. Nesse sentido esse trabalho tem por objetivo avaliar o efeito do uso de um adsorvente comercial de micotoxinas (Toxfree MilkPower®, Nutrifarma) na concentração de Aflatoxina M1 no leite produzido por vacas mantidas em sistema de semi-confinamento em propriedades familiares da região do Alto Jacuí – RS.

3.3. Materiais e métodos

O presente estudo foi conduzido em 17 propriedades produtoras de leite tipo B, localizadas em 6 municípios da região Noroeste do Estado do RS, compreendendo amostra representativa do Corede Alto Jacuí, durante o período entre fevereiro a maio de 2015. As propriedades foram selecionadas por possuírem características representativas da Região conforme descrito por Lorenzoni, Araldi e Mera, 2012, ou seja, mão de obra familiar até 50 hectares dedicados a produção de leite, com rebanhos de até 20 vacas produtoras de leite em sistemas de semi-confinamento e duas ordenhas diárias. Estas propriedades não recebem assistência técnica regular e não avaliam a matéria prima fornecida aos animais. A média de produção por vaca/dia é de 18 litros de leite, com um rebanho médio de 20 vacas em lactação. As propriedades selecionadas para o estudo forneciam o concentrado individualmente em canzins, em duas refeições diárias, sendo que o adsorvente em fornecido em uma única refeição. Nas propriedades a dieta oferecida aos animais constituía-se de concentrado proteico comercial ou concentrado produzido na propriedade, silagem de milho, pastagens cultivadas

no outono-inverno: aveia preta (*Avena strigosa*), aveia branca (*Avena sativa*) e azevém (*Lolium multiflorum*); e verão: sorgo (*Sorghum bicolor*) e milho (*Pennisetum americanum*). O sistema de ordenha era fechado com manejo da ordenha adequado e produção de leite constante durante o ano.

Durante o período experimental todas as vacas em lactação dos rebanhos receberam 50g de um adsorvente comercial aprovado para vacas em lactação, composto de bentonita 100%. O produto foi fornecido uma vez ao dia (na primeira refeição), durante dez dias, individualmente, misturado ao concentrado. As amostras de leite cru foram coletadas dos tanques de expansão após a ordenha dos animais, resfriamento a 4°C e homogeneização. Todas as análises foram realizadas em laboratórios credenciados pelo MAPA.

Para quantificação das concentrações da Aflatoxina M1, foram analisadas 2 amostras de leite, coletadas em tubos estéreis de 70ml, no dia 0 (antes do início do fornecimento do adsorvente) e dia 5, as quais foram imediatamente congeladas para posteriormente serem enviadas ao laboratório. Essas amostras foram analisadas por Espectrofotometria de Massa (HPLC/MSMS).

As amostras para análise de qualidade do leite foram coletadas nos dias 0 (início do fornecimento do adsorvente) e dia 10 do período experimental, em tubos com capacidade de 60 ml contendo uma pastilha com 8mg de 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol e 0,3mg do agente antifúngico natamicina. As amostras homogeneizadas foram enviadas para análise de composição: gordura, proteína, lactose, caseína, sólidos totais, sólidos não gordurosos, contagem de células somáticas (CCS) e nitrogênio ureico (NUL). A composição e o nitrogênio ureico foram analisados pelo método do infravermelho no equipamento Bentley 2000 (FONSECA; SANTOS, 2000) e a contagem de células somáticas por citometria de fluxo (Somacount 300, da Bentley Instruments, Inc.).

As amostras de silagem foram coletadas nos dias 0 e 5 do experimento em nove pontos distintos do silo: três pontos do terço superior do silo, três pontos do terço médio e três pontos do terço inferior. O material foi homogeneizado e a análise efetuada em uma alíquota de 100g, representativa da face exposta do silo. As amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas, transportadas a 4°C e armazenadas a -20°C até seu processamento. A coleta de amostras de alimentos concentrados foi realizada nos galpões onde os alimentos eram armazenados em sacos onde foram coletadas amostras aleatórias dos sacos destinados ao próximo arraçoamento dos animais. Também foram coletadas nos dias 0 e 5 do experimento. Todas as amostras foram congeladas imediatamente, até o momento das análises. Para a quantificação de Aflatoxina B₁ nas amostras de silagem e concentrado utilizou-se a técnica

Ensaio Imunoenzimático (ELISA).

Para fins de análises estatísticas os dados foram transformados em porcentagem, sendo considerado o valor de 100% o valor obtido no dia 0, após os dados foram submetidos à análise de variância.

3.4. Resultados e discussão

Esse trabalho é o primeiro estudo que avalia o efeito do uso de um adsorvente comercial de micotoxinas na concentração de Aflatoxina M1 no leite e sua influência na composição do leite produzido por vacas em propriedades familiares da região do Alto Jacuí – RS. Em 88% (15/17) das amostras de leite cru analisadas e coletadas antes do fornecimento do adsorvente, foi detectada a contaminação por Aflatoxina (Tabela 1). No entanto, os valores obtidos atendem os padrões estabelecidos pela legislação vigente, que estabelece como concentração máxima de Aflatoxina M1 no leite 0,5µg/l (BRASIL, 2002).

Nas condições avaliadas do presente estudo, a adição de 50 gramas de adsorvente de micotoxinas na dieta das vacas, por um período de 5 dias, não reduziu ($P>0,05$) as concentrações de Aflatoxina M1 nas amostras de leite ($0,059\pm 0,06$ e $0,036\pm 0,05$). No entanto, parece importante salientar que se os resultados forem observados individualmente por propriedade, em 14 delas pode-se verificar que houve uma redução numérica na concentração da toxina no leite. Além disso, pode-se notar que em uma propriedade houve aumento e em duas outras propriedades não houve alteração na concentração. Ou seja, em 93,3% (14/15) das propriedades onde se detectou a toxina no leite verificou-se uma redução numérica nas concentrações houve uma redução média de 50,5% (DPM = 29,6; CV= 59,7) dos níveis de contaminação por Aflatoxina M1 (Figura 2).

A figura 1 compreende os valores médios de Aflatoxina M1 nas amostras de leite nos dias 0 e 5. Os dados analisados demonstram uma diminuição da concentração de Aflatoxinas M1 com o uso do adsorvente comercial (dia 5). Segundo Pereira, M. M. g. et. All em amostras de leite cru analisadas 19 amostras (52,8%) foi detectada a presença da AFM1, com os valores variando de traços a 74,1 ng/L; em 17 amostras (47,22%) não foi detectada aflatoxina. Ellis et al. (2000), testando adsorvente (bentonita sódica) em trutas (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com rações contendo aflatoxinas (20 µg/kg), afirmaram que a inclusão de 2% de adsorvente na ração reduz significativamente a absorção das aflatoxinas pelo organismo animal. Este fator de absorção é atribuído a sua alta afinidade eletrolítica, por micotoxinas de elevada polaridade, como a aflatoxina (Huwig et al., 2001). Segundo Ouhida et

al. (2000), os benefícios da utilização do adsorvente na ração sobre o ganho de peso e a conversão alimentar ainda não são bem definidos, portanto, há necessidade de utilizar níveis altos (6%), uma vez que, em outros organismos monogástricos, níveis de 2% de bentonita sódica na dieta não foram suficientes para absorver as micotoxinas. Entretanto, Tomasevic-Canovic et al. (2003) afirmaram que a preparação e o processo de elaboração e inclusão do adsorvente na dieta influencia na absorção das micotoxinas

O resultado das análises para a detecção de Aflatoxina no concentrado e na silagem destinados ao consumo do gado leiteiro pode ser observadas na Tabela 2 e Tabela 3, respectivamente. O limite máximo permitido de Aflatoxina nos grãos varia de acordo com a legislação de cada país. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil adota o limite de 50µg/kg para alimentos destinados ao consumo animal (ingestão direta ou matéria-prima de rações) (BRASIL, 2002). A legislação comum aos países integrantes do MERCOSUL segue os limites determinados pela ANVISA (2011), onde o limite máximo permitido de Aflatoxinas é de 20µg/kg de alimento. Apesar de Van Egmond (1989) ter demonstrado que em torno de 2% da contaminação por Aflatoxina B1 fornecida na alimentação dos bovinos se reflete em concentrações de Aflatoxina M1 no leite produzido, no presente estudo não se observou correlação entre os níveis observados de contaminantes ($r=0,12$).

Tabela 1: Níveis detectados de Aflatoxinas M₁ e suas variações em amostras de leite cru coletadas em tanque de expansão em propriedades produtoras de leite tipo B, em municípios da região Noroeste do Rio Grande do Sul durante fevereiro a maio de 2015 (em µg/l).

Amostra	Dia 0	Dia 5	Variação (%)
A	0,063	0,133	+ 134,7
B	0,000	0,006	0,0
C	0,227	0,188	- 17,2
D	0,056	0,000	- 100,0
E	0,028	0,000	- 100,0
F	0,039	0,024	- 37,9
G	0,000	0,000	0,0
H	0,068	0,038	- 44,1
I	0,019	0,016	- 17,2
J	0,095	0,049	- 48,4
L	0,202	0,071	- 64,9
M	0,079	0,031	- 60,6
N	0,046	0,014	- 69,6
O	0,025	0,024	- 2,7
P	0,013	0,006	- 52,6
Q	0,015	0,007	- 54,3
R	0,036	0,013	- 64,2
Média	0,059	0,036	- 38,5

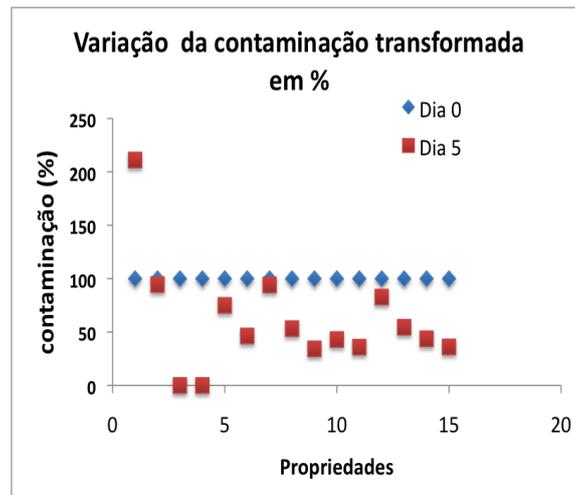


FIGURA 1: Variação da contaminação de Aflatoxina M1 em amostras de leite transformadas em porcentagem (%) por propriedades.

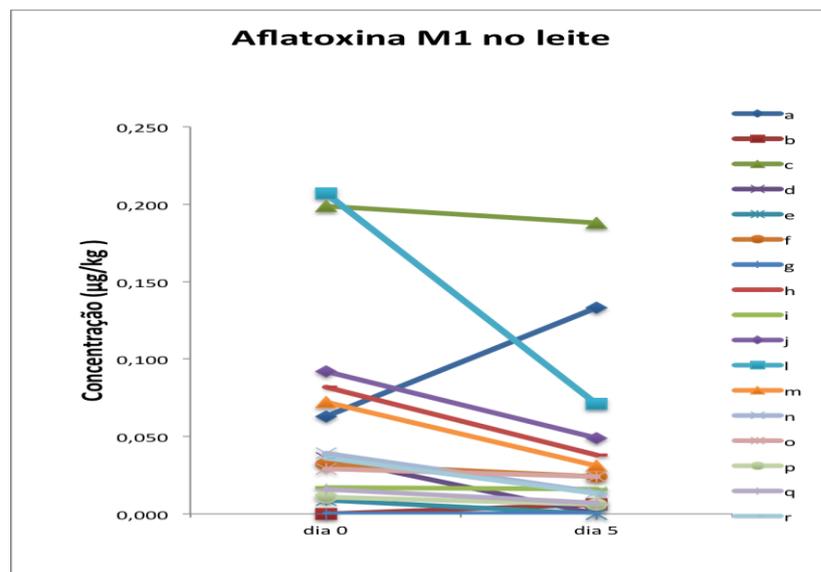


Figura 2: Níveis detectados de Aflatoxina M1 no leite. Representação das concentrações de Aflatoxina M1 no leite nos dias 0 e 5.

Tabela 2: Níveis detectados de Aflatoxinas em amostras de concentrados comerciais, coletadas em propriedades produtoras de leite tipo B, em 6 municípios da região Noroeste do Rio Grande do Sul, no período de fevereiro a maio de 2015 (em µg/kg).

Nº da Amostra	Dia 0	Dia 5
A	2,2	28,1
B	1,6	1,8
C	19,8	6,0
D	1,7	7,2
E	6,4	0,0
F	4,7	6,8
G	2,2	2,2
H	6,7	7,5
I	3,0	2,4

J	1,0	3,5
L	7,9	15,5
M	12,5	9,1
N	0,1	1,9
O	44,9	44,9
P	0,0	6,6
Q	0,4	0,3
R	0,8	0,9

O trecho destacado representa positividade acima do limite de 20 µg/kg.

Dos 17 de concentrados comerciais analisadas, em todas foi possível detectar a presença de Aflatoxina, sendo que em 11,76% (2/17) detectou-se presença da toxina acima do limite estabelecido pela ANVISA. Esse resultado é inferior ao encontrado por Corrêa *et al.* (1997), e Parreiras, Gomes e Brandão (1987) que encontraram 15% e 35% de amostras avaliadas fora do padrão exigido, respectivamente. Embora as rações comerciais utilizadas nas propriedades estudadas neste trabalho sejam comercializadas com garantia do fabricante de níveis de Aflatoxinas controlados (entre 20 e 50 µg/kg, variando de acordo com a marca), o armazenamento inadequado dos concentrados nas propriedades pode favorecer o crescimento fúngico e uma subsequente contaminação e aumento da concentração de Aflatoxinas.

Tabela 3: Níveis detectados de M1, em 17 amostras de silagem destinadas ao consumo animal, coletadas em propriedades produtoras de leite tipo B, em 6 municípios da região Noroeste do Rio Grande do Sul, durante fevereiro a maio 2015 (em µg/kg).

Nº da Amostra	Dia 0	Dia 5
A	32,4	9,2
B	27,4	11,9
C	13,3	17,2
D	12,6	12,4
E	18,0	23,4
F	15,2	18,8
G	12,4	14,0
H	13,0	12,8
I	29,2	16,8
J	9,6	8,8
L	29,8	1,0
M	40,0	26,0
N	4,2	2,0
O	16,4	7,2
P	10,1	8,8
Q	27,2	42,2
R	13,2	24,4

O trecho destacado representa positividade acima do limite de 20 µg/Kg.

Todas as 34 amostras de silagem analisadas foram positivas para presença de Aflatoxina B1. Salienta-se que em 29,4% (10/34) das amostras detectou-se presença de Aflatoxina B1 acima do limite permitido pela ANVISA (2011). Outro fator que predispõe a contaminação deste tipo de derivado é o seu processamento, pois danos mecânicos ou a quebra dos grãos alteram ou eliminam a cutícula do grão de milho, que serve de barreira natural contra a contaminação fúngica. Danos mecânicos de grãos, sementes e plantas favorecem a absorção de umidade e facilitam a invasão e a penetração de fungos no interior altamente nutritivo destes substratos, levando ao rápido desenvolvimento dos fungos e consequentemente o aumento na concentração de toxinas (SCUSSEL, 1998).

Nas condições avaliadas no presente estudo não se verificou influência do uso do adsorvente nas características de qualidade do leite (Tabela 4). O leite de qualidade deve apresentar composição química, microbiológica, organoléptica e número de células somáticas que atendam aos parâmetros exigidos nacionalmente (RIBEIRO *et al.*, 2000). Não é de conhecimento dos autores a existência de dados atuais de qualidade do leite na região do estudo. Considerando os resultados médios das propriedades avaliadas, apenas o parâmetro Contagem de Células Somáticas não atende o padrão da IN62, que estabelece o valor máximo de 500.000/ml (MAPA, 2012).

Tabela 4: Efeito do uso de adsorventes de micotoxinas na Características químicas, contagem de células somáticas (CCS) e níveis de nitrogênio ureico (NUL) do leite em amostras de tanque coletadas em propriedades produtoras de leite tipo B, em municípios da região Noroeste do Rio Grande do Sul, durante fevereiro a maio 2015.

CARACTERISTICAS		DIA 0	DIA 10
Gordura %	MÉDIA	3,705	3,705
	DESVIO PADRÃO	0,31	0,26
Proteína %	MÉDIA	3,224	3,221
	DESVIO PADRÃO	0,13	0,20
Lactose %	MÉDIA	4,395	4,383
	DESVIO PADRÃO	0,06	0,27
Sólidos totais %	MÉDIA	12,341	12,334
	DESVIO PADRÃO	0,39	0,53
SNG %	MÉDIA	8,673	8,629
	DESVIO PADRÃO	0,17	0,44
CCS mil/ml	MÉDIA	529,5	573,6
	DESVIO PADRÃO	338,1	301,4
NUL %	MÉDIA	11,58	10,79
	DESVIO PADRÃO	3,68	3,66
Caseína %	MÉDIA	2,51	2,50
	DESVIO PADRÃO	0,10	0,17

3.5. Conclusão

Conclui-se que existe alto índice de contaminação por Aflatoxina B1 nas silagens e concentrados usados na dieta das vacas mantidas em propriedades familiares da região do Alto Jacuí – RS. 88% das amostras de leite das propriedades familiares da região do Alto Jacuí – RS apresentavam contaminação por Aflatoxina M1. Porém, os níveis de contaminação observados estão dentro dos padrões exigidos pela legislação Brasileira. Em 93,3% dos casos em que havia contaminação, o uso do adsorvente de micotoxinas reduziu pela metade concentrações de Aflatoxina M1 no leite.

Comite de ética e biossegurança

O trabalho foi realizado e aprovado de acordo com princípios adotados pelo conselho de ética do uso de animais da Universidade de Cruz Alta.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução - RDC nº 274*. Regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, no amendoim, no milho.

BARBOSA, R.S. Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, p. 621-628, 2012.

BRASIL. Portaria nº 07 de 09 de novembro de 1988. Baixa os Padrões mínimos de matéria prima destinada à alimentação animal. Disponível em:
<<http://www.agricultura.gov.br/dfpa/html/port07.htm>>

BAYMAN, P., BAKER, J.L., DOSTER, M.A., MICHAILIDES, T.J., MAHONEY, N.E. Ochratoxin production by the *Aspergillus ochraceus* group and *Aspergillus alliaceus*.

Applied and Environmental Microbiology. v. 68, n. 5, p. 2326-29, 2002.

BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Review** v. 16, n. 3, p. 497–516, 2003.

BRUERTON, K. 2001. Finding practical solutions to mycotoxins in commercial production: a nutritionist's perspective. In: **Alltech's 17th Annual Symposium, 2001**. Proceedings...2001. p.161-168.

CAMPOS, R. Alguns indicadores metabólicos no leite para avaliar a relação nutrição: fertilidade. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 29., 2002, Gramado, RS. *Anais*. Gramado, 2002. p. 40-48.

CARVALHO, E. C. Q. Micotoxinas e alimentos: implicações na saúde humana e animal. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**. N.2, p.27-31, jan. /abr. 1995

CAST (Council of Agricultural Science and Technology). Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems. **Task Force Report** n. 139, EUA : CAST; 2003.

CONAB.disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_04_10_08_47_02_leite_marco_2014.pdf>.

CORRÊA, B.; GALHARDO, M.; COSTA, E.; SABINO, M. Distribution of molds and aflatoxins in dairy cattle feeds and raw milk. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 279-283, 1997.

DAWSON, K.A.; EVANS, J. AND KUDUPOJE, M. Understanding the adsorption characteristics of yeast cell wall preparations associated with mycotoxin binding. In: *Biotechnology in the Feed Industry*, 22. Nottingham. **Proceedings of Alltech's 22nd Annual Symposium**. Nottingham University Press. Nottingham. p.169-181, 2006.

EMANUELSON, A.B.; OLSEN, M.; OKARSSON, A.; PALMIN, G. I.; HULT, K. Ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples. **Journal of AOAC International**. v. 76, n. 4, p. 842-46, 1993.

FEE – 2014. Fundação Estadual de Economia e Estatística. Em 2013, PIB gaúcho cresce 5,8% e alcança o valor de R\$ 310,5 bilhões. Disponível em: <http://www.fee.rs.gov.br/indicadores/pib-rs/pib_trimestral/destaques//>.

FERRUFINO, E.V; TANGNI E.K., PONCHAUT S., LARONDELL E. Y. Lactation transfer of ochratoxin A in rabbits fed a naturally contaminated diet. In: **X International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins**. 2000. Guarujá-São Paulo. *Anais*...São Paulo.

FONSECA, L.F.L DA; SANTOS, M.V. Qualidade do leite e controle da mastite. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

IBGE, 2011. Instituto Brasileiro de Estatística. Produção da Pecuária Municipal. v.39. **IBGE**, 60p.

GALTIER, P.; ALVINERIE, M. In vitro transfor mation of ochratoxin A by animal microbial floras. **Annales Recherché Veterinaire**. v. 7, n. 1, p. 91-8, 1976.

GOURAMA, H.; BULLERMAN, L.B. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* : aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: a review. **Journal of Food Protection**. v. 58, n. 12, p. 1395-1404, 1995.

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

ITO, Y.; PETERSON, S.W.; WICKLOW, D.T.; GOTO, T. *Aspergillus pseudotamarii* , a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section *Flavi*. **Mycological Research**. v. 105, n. 2, p. 233-39, 2001.

JOUANY, J.P. The impact of mycotoxins on performance and health of dairy cattle. In: **Alltech's 17th Annual Symposium**, Proceedings p. 191-222, 2001.

KIESSLING, K.H.; PETTERSON, H.; SANDHOLM, K.; OLSEN, M. Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa and rumen bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 47, n. 5, p.1070-73, 1984.

KURTZMAN C.P.; HORN B.W.; HESSELTINE C.W. *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii* . **Antonie van Leeuwenhoek**. v. 53, p.147-58, 1987.

LAZZARI, F. A. Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações. 2. ed. Curitiba:Ed. do Autor, 1997.

LÓPEZ, C.; RAMOS, L.; RAMADÁN, S.; BULACIO, L.; PEREZ, J. Distribution of aflatoxin M1 in cheese obtained from milk artificially contaminated. **International Journal of Food Microbiology**. v. 64, p. 211-215, 2001.

MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D. Diagnóstico da qualidade do leite na região sudeste. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. (Ed.). **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006. 352p.

MALLMANN C.A., SANTURIO J.M., DILKIN P. Equine leukoencephalomalacia associated with ingestion of corn contaminated with fumonisin B1. **Revista de Microbiologia**. v. 30, p. 249-252, 1999

MATHUR S.; CONSTABLE P.D.; EPPLEY R.M.; WAGGONER A.L.; TUMBLESON M.E.; HASCHEK W.M. Fumonisin B1 is hepatotoxic and nephrotoxic in milk-fed calves. **Toxicological Sciences**. v. 60, p. 385-96, 2001a.

MATHUR, S.; CONSTABLE, P.D.; EPPLEY, R.M.; TUMBLESON, M.E.; SMITH, G.W.; TRANQUILLI ,W.J.; et al. Fumonisin B1 increases serum sphinganine concentration but does not alter serum sphingosine concentration or induce cardiovascular changes in milk-fed calves. **Toxicological Sciences**. v. 60, n. 2, p. 337-84, 2001b

MATTOS, R.S.W.; PEDROSO, M.A. Influência da nutrição sobre a composição de sólidos totais no leite. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA DE LEITE, 5., 2005, Piracicaba, SP. *Anais*. Piracicaba, 2005. p. 103-128.

MEREDITH, F.I. Isolation and characterization of fumonisins. **Methods in Enzymology**. v. 311, p. 361-73, 1999.

MIAZZO, R. Efficacy of sodium bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. **Poultry Science**, v. 84, p. 1-8, 2005.

MOLIN, R. Ocorrência de micotoxinas em estágios fenológicos próximos da colheita de milho. In: MOLIN, R.; VALENTINI, M. L. **Simpósio Sobre Micotoxinas em Grãos**. São Paulo: Fundação Cargil, 1999a. p.57-80.

MOSS, M. O. The environmental factors controlling mycotoxin formation. In: SMITH, J. E.; HENDERSON, R. S. *Mycot. and Animal Foods*. Boca Raton: CRC Press, 1991.

MOSS, M. O. Mode of formation of ochratoxin A. **Food Additives and Contaminants**. v.13, p.5-9, 1996

MURPHY, P.A.; HENDRICH, S.; LANDGREN, C.; BRYANT, C.M. Food Mycotoxins: An Update. **J. Food Sci.** v. 71, n. 5, p. 51-65, 2006.

NELSON, P.E.; PLATTNER, R.D.; SHACKELFORD, D.D.; DESJARDINS, A.E. Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* strains from various substrates and geographic areas. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 57, n. 8, p. 2410-2, 1991.

NELSON, P.E.; PLATTNER, R.D.; SHACKELFORD D.D.; DESJARDINS A.E. Fumonisin B1 production by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in Section *Liseola* and by some related species. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 58, n. 3, p. 984-9, 1992.

NEWMAN, K. 2000. The biochemistry behind esterified glucomannans – titrating mycotoxins out of the diet. In: **Alltech's 16th Annual Symposium**, 2000. Proceedings...2000. p.369-382.

OGIGO, R. et al. Effects of prolonged administration of aflatoxins B1 and fumonisin B1 in laying japanese quail. **Poultry Science**, v.83, p.1953-1958, 2004.

OLTNER, R.; EMANUELSON, M.; WIKTORSSON, H. Urea concentrations in milk in relation to milk yield, live weight, lactation, number and amount and composition of feed given to dairy cows. **Livestock Production Science**, v.12, p.47-57, 1985.

PARREIRAS, J. F. M.; GOMES, J. C.; BRANDÃO, S. C. Ocorrência de aflatoxinas M1 e B1 em leite e forragens na microrregião de Viçosa - MG. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 30, n. 21, p 253-265, 1987.

PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO E.P.; PRADO, G.; ROSA C.A.R.; VELOSO, T.; SOUZA

L.A.F.; RIBEIRO J.M.M. Aflatoxinas em alimentos destinados a bovinos e em amostras de leite da região de Lavras, Minas Gerais – Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.1, p.106-112, 2005.

PERES, J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: (Ed.). FÉLIX, H.D. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 2001. p.30-45.

PITT, J.I. Toxicogenic fungi and mycotoxins. **British Medical Bulletin**. v.56, n.1, p.184-92, 2000

RAJALASCHULTZ, P.J., SAVILLE W.J.A., FRAZER G.S., WITTUM T.E. Association between milk urea nitrogen and fertility in ohio dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.84, p.482-489, 2001.

RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JÚNIOR, W.; BUSS, H. Qualidade de leite. In: BITENCOURT, D.; PEGORARO, L.M.C.; GOMES, J.F. (Ed.). *Sistemas de pecuária de leite: uma visão na região de clima temperado*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000. p.175-195.

SARGEANT, K.; SHERIDAN, A.; O´KELLY, J. Toxicity associated with certain samples of groundnuts. **Nature**. v. 192, n. 4807, p. 1096-7, 1961.

SCUSSEL, V. M. *Micotoxinas em alimentos*. Florianópolis: Insular, 1998.

SCUSSEL, V. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação comparativa de métodos analíticos para a triagem e quantificação de aflatoxinas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 206-216, 1984.

SHIER, W.T. Estrogenic mycotoxins. **Revue Médecin Vétérinaire**. v. 149, n. 6, p. 599-604, 1998.

SMITH, J.S.; THAKUR, R.A. Occurrence and fate of fumonisins in beef. **Advances in experimental medicine and biology**. v. 392, p. 39-55, 1996.

SMITH, T. K.; MACDONALD, E. J., HALAD, S. Current concepts in feed-borne mycotoxins and the potential for dietary prevention of mycotoxicoses. In: **Alltech's 17th Annual**.

Sindirações. Disponível em:<http://sindiracoes.org.br/wp-content/uploads/2014/05/boletim-informativo-do-setor_vs-portugues_site-08052014.pdf>.

SUNDLOF, S.F.; STRICKLAND, C. Zearalenone and zeranol: potential residue problems in livestock. **Veterinary and Human Toxicology**. v. 28, p. 242-50, 1986.

STUMPF JUNIOR, W. Produção de leite no Rio Grande do Sul: produtividade e competitividade frente ao Mercosul. In: CICLO DE PALESTRA EM PRODUÇÃO DE BOVINOS, 5., 2000, Canoas, RS. *Anais*. Canoas, 2000. p. 19-30.

SWEENEY, M.J.; DOBSON, A.D.W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**. v. 43, p. 141-58, 1998.

THIEL, P.G.; MARASAS, W.F.O.; SYDENHAM, E.W.; SHEPARD, G.S.; GELDERBLOM, W.C.A; NIEUWENHUIS, J.J. Survey of fumonisin production by *Fusarium* species. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 57, p. 1089-93, 1991.

WHITLOW, L. W.; HAGLER JUNIOR, W. M. Mycotoxins in dairy cattle. In: MOLIN, R; VALENTINI, M. L. Simpósio Sobre Micotoxinas em Grãos. **São Paulo: Fundação Cargil**, 1999. p. 151-181.

WOLTER, R. 1997. Alimentation de la vache laitière. Ed. France Agricole. 3a Ed. Paris, 263p.