Contributos da Micoteca da Universidade do Minho (MUM) para a Segurança Alimentar

Paula Rodrigues[1,2], Célia Soares[1], Otniel Freitas-Silva[1,3], Cledir Santos[1], Russell R.M. Paterson[1], Zofia Kozakiewicz[1], Armando Venâncio[1] e Nelson Lima[1]

[1]IBB – Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Centro de Engenharia Biológica
Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal
[2]CIMO – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal
[3]Embrapa – Agro Indústria de Alimentos, Rio de Janeiro, Brasil

INTRODUÇÃO

A Micoteca da Universidade do Minho (MUM), fundada em 1996, tem como missão ser uma colecção de fungos filamentosos com o objectivo principal de manter e fornecer estirpes com qualidade e autenticidade para a investigação em biotecnologia e ciências da vida, e laboratórios de ensaio, actuando também como um centro de conhecimento, informação e formação na área da micologia. Dentro desta missão, a MUM tem estado envolvida em projectos que procuram dar resposta aos riscos alimentares derivados da contaminação fúngica.

MICOTOXINAS ESTUDADAS

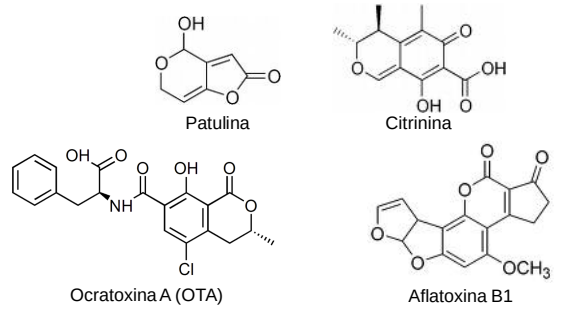
A patulina e a citrinina foram estudadas para avaliar o potencial micotoxigénico de estirpes de *Penicillium expansum* isoladas de uvas utilizadas na produção de vinho.

A presença de ocratoxina A em uvas para produção de vinho foi estudada, com vista à identificação das espécies suas produtoras em uvas, à avaliação dos seus teores em uvas e à evolução da sua passagem da uva para o vinho.

As aflatoxinas, assim como as correspondentes espécies produtoras, foram avaliadas em frutos de casca rija e em milho produzidos em Portugal.

A Fig. 1 apresenta as quatro estruturas químicas destas relevantes micotoxinas.

FIG.1 - MICOTOXINAS

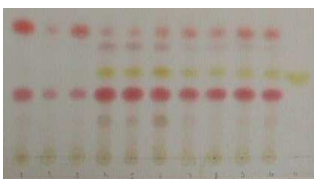


RESULTADOS

Na avaliação do potencial micotoxigénico de 51 estirpes de *Penicillium expansum* isoladas de uvas (Fig. 2) foi verificado que a produção de patulina (Fig. 3) e de citrinina varia bastante consoante estas estirpes eram colocadas a crescer em meio de sumo de uva ou em meio sintético. Mais, verificou-se que o método de conservação destas estirpes em colecção também alterava o perfil micotoxigénico.

FIG.2 - UVAS CONTAMINADAS

FIG.3- DETECÇÃO DE PATULINA POR TLC



Na avaliação da presença de ocratoxina A em uvas, estudadas em várias regiões de Portugal continental (Fig. 4), verificou-se que, apesar de serem isoladas das uvas uma quantidade significativa de estirpes produtoras de ocratoxina A (Fig. 5), a presença desta toxina nas uvas era marginal. Na sequência destes trabalhos foi possível isolar e identificar uma nova espécie de *Aspergillus* secção *Nigri* – *Aspergillus ibericus* (Fig. 6). Verificou-se ainda, que durante a vinificação de um lote de uvas contendo a ocratoxina é possível eliminar a maior parte desta, permanecendo no produto final (o vinho) cerca de 8% da ocratoxina inicial (Fig. 7).

FIG. 4 – REGIÕES DE VINHOS ESTUDADAS

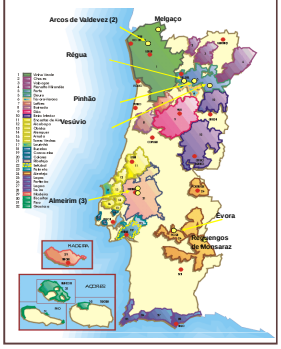


FIG. 5 - ISOLAMENTOS DE UVAS E ESTIRPES OCRATOXIGÉNICAS

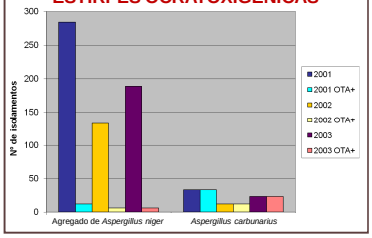


Fig. 6 - *Aspergillus ibericus*

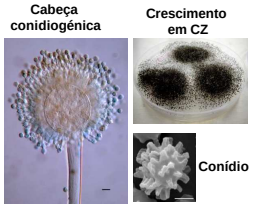
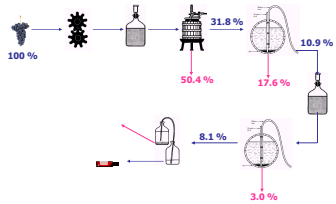


Fig. 7 – REMOÇAO DE OTA DURANTE A VINIFICAÇÃO



A pesquisa de fungos aflatoxigénicos é, actualmente, efectuada em castanha, amêndoa e milho nacionais. Como espécies relevantes para este estudo temos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* (Fig. 8). Os isolamentos para além de serem estudados morfologicamente, foram depois sujeitos à identificação e caracterização bioquímica com recurso a várias técnicas analíticas (Fig. 9). Adicionalmente, estas estirpes têm sido estudadas por biologia molecular e por análise espectral com o recurso à técnica de MALDI-TOF MS.

FIG. 8 - IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA

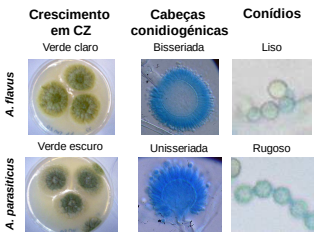
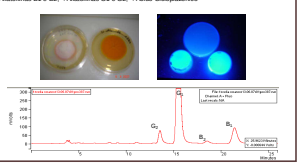


FIG. 9 - IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA

Espécies	AFPA[a]	Fluorescência[b]	AFB[c]	AFG[d]	CPA[e]
A. flavus	Laranja	++	++	-	++
A. parasiticus	Laranja	++	++	++	-

[a] *A. flavus* e *A. parasiticus* agar; [b]: Fluorescência em meio de Coco agar
[c] Aflatoxinas B1 e B2; [d]: Aflatoxinas G1 e G2; [e]: Ácido Ciclopiazónico



CONCLUSÕES

A Micoteca da Universidade do Minho tem nos últimos anos cooperado com vários projectos europeus, nacionais e de pós-graduação no âmbito dos estudos dos fungos micotoxigénicos associado à segurança alimentar. Para além de novos contributos nesta área a MUM tem conservado estirpes relevantes e bem caracterizadas quanto à sua identificação e perfis micotoxigénicos, o que torna a colecção mais robusta e competitiva para a sua missão e inserção no tecido industrial.

PUBLICAÇÕES RECENTES

Paterson, R.R.M., Lima, N. (2009) Toxicology of mycotoxins. *In* Molecular, Clinical and Environmental Toxicology (Luch A. Ed.), Springer, Germany. (no prelo)
Paterson, R.R.M., Lima, N. (2009) Will climate change affect mycotoxins in food? Food Research International (aceite)
Rodrigues, P., Venâncio, A., Kozakiewicz, Z., Lima, N. (2009) A polyphasic approach to the identification of aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus* Section *Flavi* isolated from Portuguese almonds. International Journal of Food Microbiology 129: 187-193.
Rodrigues, P., Soares, C., Kozakiewicz, Z., Paterson, R.R.M., Lima, N., Venâncio, A. (2007) Identification and characterization of *Aspergillus flavus* and aflatoxins. *In* Microbiology Book Series - Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology (Méndez-Vilas, A. ed.), Vol. 2, 527-534, FORMATEX.
Paterson, R.R.M., Venâncio, A., Lima, N. (2006) A practical approach for identification based on mycotoxin characters of *Penicillium*. Revista Iberoamericana de Micología 23:155-159.
Paterson, R.R.M., Venâncio, A., Lima, N. (2004) Solutions to Penicillium taxonomy crucial to mycotoxin research and health. Research in Microbiol. 155:507-513.
Santos, I.M., Abrunhosa, L, Venâncio, A., Lima, N. (2002) The effect of preservation techniques on patulin and citrinin production by *Penicillium expansum* Link. Letters in Applied Microbiology 35: 272-275.