

# PREVALÊNCIA DE OCRATOXINA A EM ALIMENTOS E CONSEQUENTES PROBLEMAS DE SEGURANÇA ALIMENTAR

Nogueira S<sup>I</sup>, Oliveira MBPP<sup>II</sup>

## Resumo

*A ocratoxina A (OTA) é uma micotoxina com propriedades cancerígenas, nefrotóxicas, teratogénicas e imunotóxicas. É produzida por fungos da espécie *Penicillium* e *Aspergillus* e ocorre naturalmente em todo o mundo em diversos produtos vegetais, como a cevada, o café em grão, o cacau e os frutos secos. Foi também detectada em produtos à base de cereais, em especiarias, em vinho, em cerveja, em sumo de uva e em produtos de origem animal, caso dos rins de porco.*

*A sua ocorrência ubíqua no meio ambiente resulta numa provável e inevitável exposição humana.*

## Palavras chave:

*Ocratoxina A, contaminante, toxicidade, exposição humana*

## Abstract

*Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin with carcinogenic, nephrotoxic, teratogenic and immunotoxic properties. It is produced by several fungi from *Penicillium* and *Aspergillus* species and occurs naturally in a variety of vegetal products such as cereals, barley, coffee beans, cocoa and dried fruits all over the world. It has been detected also in products derived from cereals and others such as spices, wine, beer, grape juice and in products of animal origin, as pig kidney.*

*It's wide distribution in environment induces a probable and inevitable human exposition.*

## Key Words:

*Ochratoxin A, contaminant, toxicity, human exposition*

## INTRODUÇÃO

Na natureza são vários os fungos capazes de produzir micotoxinas patogénicas para o Homem e/ou animais. Por definição, as micotoxinas são metabolitos secundários dos fungos, de baixa massa molecular, e que exercem efeitos nocivos sobre os animais e/ou seres humanos, nomeadamente reacções hepatotóxicas, nefrotóxicas, mutagénicas e carcinogénicas<sup>(1, 2)</sup>. A gravidade dos seus efeitos depende, entre outros factores, da sua toxicidade, do grau e do tempo de exposição, da idade e do estado nutricional do indivíduo.

Além da problemática ao nível da segurança alimentar, as micotoxinas representam frequentemente também graves consequências a nível sócio-económico, sendo responsáveis por elevadíssimas perdas económicas, nomeadamente na produção de cereais, no seu processamento, na redução do valor nutricional dos alimentos e ainda nas consequentes perdas devidas a patologias/mortes de animais alimentados com rações contaminadas. Entre as muitas micotoxinas conhecidas, a OTA é especialmente importante neste âmbito.

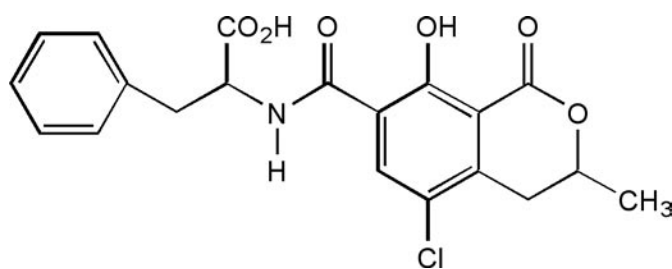
A OTA é um composto cristalino incolor cujo nome químico é (R)-N-[(5-cloro-3,4-dihidro-8-hidroxi-3-metil-1-oxo-1H-2-benzopirán-7-il) carbonil] – L-fenilalanina e cuja fórmula química se representa na figura 1. Trata-se de uma dihidro-isocumarina unida a um grupo L-fenilalanina por uma ligação peptídica.

<sup>I</sup> Mestre em Controlo de Qualidade; e-mail: sofianog@gmail.com

<sup>II</sup> Professora Auxiliar com Agregação; e-mail: beatoliv@ff.up.pt

REQUIMTE, Serviço de Bromatologia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua Aníbal Cunha, 164, 4030-099 Porto

Figura 1 - Estrutura química da Ocratoxina A



Foi pela primeira vez descrita em 1965 como metabolito do *Aspergillus ochraceus*<sup>(3)</sup>. Posteriormente, foi detectada como metabolito de diferentes espécies do género *Aspergillus*, caso do *A. alliaceus*, *A. auricomus*, *A. carbonarius*, *A. citricus*, *A. ostianus*, *A. sulphureus*, *A. fonsecaeus*, *A. petrakii*, *A. glaucus*, *A. melleus* e *A. niger*.

Embora os primeiros relatos impliquem também diversas espécies do género *Penicillium* como produtores de OTA, sabe-se actualmente que uma única espécie, o *Penicillium verrucosum*, é responsável pela produção da referida micotoxina<sup>(2)</sup>.

Os fungos produtores de OTA produzem esta micotoxina em condições ambientais distintas (tabela 1). Em ambientes com temperaturas mais baixas a OTA é essencialmente produzida por fungos do género *Penicillium*, enquanto que em áreas mais quentes (tropicais e sub tropicais) é produzida por fungos do género *Aspergillus*<sup>(2)</sup>.

Tabela 1 - Principais características dos produtores de OTA

Género <i>Aspergillus</i>	Género <i>Penicillium</i>
<p>Crescimento a temperaturas mais altas:</p> <p><i>A. ochraceus</i> 8-37°C (Max 31°C); a<sub>w</sub> até 0,77</p> <p><i>A. carbonarius</i> 32-35°C; a<sub>w</sub> 0,82</p> <p><i>A. niger</i> 8-47°C (Max. 37°C); a<sub>w</sub> até 0,72</p> <p>Contaminante de café, uvas passas</p> <p>Regiões mais quentes e dos trópicos</p>	<p>Crescimento a temp. &lt;30°C (Max. a 20°C)</p> <p>a<sub>w</sub> até 0,8; pH entre 6,0-7,0</p> <p>Contaminante de cereais armazenados e carne</p> <p>Norte e centro da Europa e Canadá</p>

A biossíntese da OTA, apesar de não estar ainda completamente esclarecida, parece resultar do envolvimento de várias vias biossintéticas.

O grupo isocumarínico da micotoxina parece ter origem através da via metabólica dos acetatos, sendo o resultado da condensação de 5 grupos acetato e da adição de um grupo carbono em C<sub>7</sub>. Posteriormente é introduzido um átomo de cloro no anel aromático. A adição de um átomo de carbono e a sua oxidação origina um grupo carboxílico. O segundo precursor (fenilalanina) é sintetizado pela via Shikimato. A ligação dos precursores gera um etil-éster, ocorrendo depois uma desterificação para originar a OTA<sup>(4,5)</sup>.

O tracto gastrointestinal é a principal via de contaminação com OTA sendo a micotoxina absorvida lentamente ao longo do percurso. Na maioria das espécies há uma primeira e rápida absorção no estômago, devido às suas características ácidas, seguindo-se uma absorção lenta, a nível intestinal<sup>(6)</sup>.

Uma das propriedades toxicocinéticas mais significativas da OTA é a sua alta afinidade para ligar-se a proteínas plasmáticas. Esta ligação será determinante para a persistência da micotoxina no sangue e, portanto, para a sua toxicidade. A fracção ligada a macromoléculas constitui um reservatório da micotoxina que permite libertá-la para os tecidos durante um longo período de tempo. Também a alta afinidade para as proteínas séricas retarda a eliminação da micotoxina pelo organismo, aumentando o seu tempo de semi-vida<sup>(6)</sup>. De acordo com alguns estudos só uma pequena percentagem de OTA é que permanece livre na corrente sanguínea<sup>(7)</sup>.

A OTA constitui um risco acrescido para os humanos uma vez que o tempo de semi-vida desta toxina é de 35 dias, superior ao verificado para outras espécies, tais como o ratinho (cerca de 40h), o rato (55-120h), o porco (72-120h) e o macaco (510h)<sup>(8)</sup>.

A excreção biliar e a filtração glomerular parecem ser a principal via de eliminação da OTA, embora a excreção da micotoxina pelo leite tenha já sido demonstrada em ratos, coelhos e humanos. Em ruminantes, a transferência para o leite parece ser muito baixa, em parte devido à sua metabolização prévia pela microflora dos referidos animais. Por exemplo, está descrita a presença de vestígios de  $\alpha$ -ocratoxina (metabolito da OTA) no leite de vacas que ingeriram rações contaminadas. A detecção ocorreu apenas quando a dose ingerida pelos animais excedeu 1,66 mg de OTA/kg de peso corporal<sup>(9)</sup>.

A hidrólise da OTA ocorre maioritariamente a nível intestinal, por acção enzimática da microflora local. A carboxipeptidase A e a quimotripsina demonstraram ser capazes de degradar a OTA a  $\alpha$ -ocratoxina e fenilalanina. Contudo as enzimas envolvidas nesta reacção ainda não foram completamente identificadas<sup>(10)</sup>.

No caso dos ruminantes, a OTA é rapidamente hidrolisada a  $\alpha$ -ocratoxina pela população microbiana do rúmen. Por este motivo, os níveis séricos de OTA nestes animais são muito mais baixos que os encontrados noutros mamíferos<sup>(6)</sup>. Os ruminantes têm capacidade para degradar a OTA presente em rações, em concentrações superiores a 12mg/kg de ração. Este valor excede, em muito, os teores de micotoxina encontrados nos géneros alimentícios, sendo por isso considerado que os ruminantes constituem um meio de redução dos teores de OTA na cadeia alimentar<sup>(11)</sup>.

## TOXICIDADE DA OTA

A OTA tem acção tóxica comprovada sobre o sistema renal. A sua nefrotoxicidade manifesta-se de diversos modos, desde a alteração do volume dos rins dos animais, alteração da osmolaridade da urina, aumento do volume de urina, alterações na função renal, diminuição da “clearance”, necrose do túbulo proximal, diminuição da actividade enzimática do rim e desenvolvimento de adenomas e tumores renais<sup>(7)</sup>.

Além da nefrotoxicidade evidente, a OTA apresenta também propriedades carcinogénicas, imunotóxicas e teratogénicas em diversas espécies estudadas.

A carcinogenicidade em ratos foi observada com doses relativamente baixas (70 $\mu$ g/kg de peso corporal). A teratogenicidade verificou-se principalmente a nível do sistema nervoso central, mas com concentrações muito superiores às normalmente presentes nos alimentos (1mg/kg)<sup>(6)</sup>.

Podem ser observados efeitos imunotóxicos com concentrações relativamente baixas de OTA, na ordem dos ng/ml. A micotoxina tem actividade imunossupressora em várias espécies. Concentrações na ordem dos 5ng de OTA/kg peso corporal originam imunossupressão no ratinho. *In vitro* a OTA parece inibir a resposta e proliferação dos linfócitos B e T e afectar a activação dos linfócitos T<sup>(7)</sup>.

No Homem, a OTA está associada à Nefropatia Endémica dos Balcãs (BEN). A BEN é uma doença crónica que se manifesta na população das zonas rurais da antiga Jugoslávia, Roménia e Bulgária<sup>(12)</sup>. Caracteriza-se pelo desenvolvimento de lesões a nível do córtex renal, degeneração tubular, fibrose intersticial e hialinização do glomérulo. Numa etapa mais avançada da doença, o tamanho e o peso dos rins diminuem e observa-se uma fibrose cortical que evolui para um tumor maligno a nível da uretra<sup>(1, 12)</sup>.

A origem e causa da doença ainda não foram totalmente esclarecidas, mas a semelhança entre a Nefropatia Porcina provocada pela OTA e a BEN vem sustentar a hipótese da OTA ser o seu agente causal. A apoiar esta teoria estão também os níveis elevados de OTA encontrados em alimentos, plasma e urina de populações de zonas endémicas<sup>(1, 13)</sup>.

O mecanismo de acção envolvido na toxicidade da OTA ainda não está completamente esclarecido. Um dos principais mecanismos parece estar relacionado com a inibição da síntese de proteínas. O grupo fenilalanina da OTA compete ao nível da tradução com o aminoácido fenilalanina para o t-ARN correspondente, inibindo a fenilalanina transferase e consequentemente a síntese proteica<sup>(10, 14)</sup>.

A OTA parece ser capaz de induzir mecanismos de stresse oxidativo, com a formação de radicais livres e de espécies reactivas de oxigénio, responsáveis pela citotoxicidade<sup>(14)</sup>. A peroxidação dos ácidos gordos polinsaturados membranares leva à alteração da permeabilidade iónica da membrana. Este mecanismo interfere também com as membranas mitocondriais, sendo o suposto responsável pelos efeitos observados nas mitocôndrias<sup>(10)</sup>.

Estudos recentes demonstram haver uma actividade mutagénica através da acção de algum metabolito da OTA ou pela formação de radicais livres. A exposição à micotoxina parece induzir a lesão e reparação do ADN e aberrações cromossomais em células de mamíferos, quer *in vitro* quer *in vivo*. Foi também observada a formação de aductos e troca de cromátidas-irmãs em células do tracto urinário em algumas espécies, assim como a formação de micronúcleos<sup>(15)</sup>.

## EXPOSIÇÃO HUMANA À OCRATOXINA A

Foi detectada OTA em diversos géneros alimentícios, um pouco por todo mundo. Devido à sua elevada persistência na cadeia alimentar, a exposição humana a esta micotoxina torna-se inevitável, tendo sido já comprovada a sua presença em sangue e leite humano<sup>(9, 16)</sup>. Um estudo realizado em treze países de União Europeia (Itália, Dinamarca, Finlândia, França, Alemanha, Grécia, Irlanda, Noruega, Portugal, Espanha, Suécia, Bélgica e Reino Unido), entre Novembro de 1999 e Setembro de 2000, verificou contaminações em 48% das amostras analisadas, sendo expressos na tabela 2 os tipos de alimentos com maior grau de contaminação<sup>(17)</sup>.

Tabela 2 - Ocratoxina A em diferentes géneros alimentícios

Presença de Ocratoxina A em diferentes géneros alimentícios na União Europeia <sup>(17)</sup>			
Cereais e produtos à base de cereais	50%	Cacau	4%
Vinho	13%	Frutos secas	3%
Especiarias	8%	Carne	1%
Cerveja	5%		

Em Portugal, os teores de OTA foram determinados em diversas matrizes, nomeadamente em uvas<sup>(18, 19)</sup>, vinho<sup>(20, 21)</sup>, mosto<sup>(22)</sup>, arroz<sup>(23)</sup> e coentros<sup>(24)</sup>. Foram igualmente, realizados estudos em tecido muscular de galinha, porco e peru<sup>(25)</sup>.

A detecção de OTA em vários alimentos, comercializados no nosso país, permite concluir que a exposição humana à OTA em Portugal também é uma realidade, tendo já sido detectada OTA em soro humano<sup>(26)</sup>.

Com base em ensaios de toxicidade, o Comité Científico para a Alimentação Humana considerou prudente reduzir o mais possível a exposição à OTA, de forma a garantir que as exposições se situem perto do limite inferior da gama de doses diárias admissíveis (1,2-14ng/kg de peso corporal/dia), por exemplo abaixo dos 5ng/kg de peso corporal/dia<sup>(27)</sup>.

A provável exposição humana a esta micotoxina levou à adopção de teores máximos em determinados géneros alimentícios, por vários países da União Europeia. A fim de harmonizar a legislação entre todos os estados membros foram estabelecidos limites para uma série de produtos (tabela 3).

**Tabela 3 - Teores máximos estabelecidos pela União Europeia para diferentes géneros alimentícios<sup>(32)</sup>**

Produtos	Teores máximos (µg/kg)
Cereais em grão não transformados (incluindo arroz e trigo mourisco não laborados)	5,0
Derivados de cereais, incluindo os produtos à base de cereais e grãos de cereais destinados a consumo humano directo	3,0
Passas de uva (uvas Corinto e sultanas)	10,0
Café torrado, moído e em grão, com excepção do café solúvel	5,0
Café solúvel	10,0
Vinho (tinto, branco e rose) <sup>(1)</sup> e vinho e/ou bebidas à base de mosto de uvas <sup>(2)</sup>	2,0 <sup>(6)</sup>
Sumo de uva e ingredientes de sumo de uva noutras bebidas, incluindo néctar de uva e concentrado de uva reconstituído <sup>(3)</sup>	2,0 <sup>(6)</sup>
Mosto de uva e concentrado de mosto destinado ao consumo directo humano <sup>(3)</sup>	2,0 <sup>(6)</sup>
Alimentos à base de cereais e alimentos para bebés destinados a lactentes e crianças jovens <sup>(4)</sup>	0,5
Alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos, especialmente destinados a bebés <sup>(5)</sup>	0,5

(1) Vinhos, incluindo vinhos espumantes mas excluindo vinhos licorosos e vinhos com teor alcoométrico não inferior a 15 % vol., de acordo com o Regulamento (CE) n.º 1493/1999 do Conselho (JO L 179 de 14.7.1999, p. 1) e vinhos de frutos.

(2) Vinhos aromatizados, bebidas à base de vinhos aromatizados e cocktails aromatizados de produtos de vinho, de acordo com o Regulamento (CEE) n.º 1601/91 do Conselho (JO L 149 de 14.6.1991, p. 1). O teor máximo de OTA aplicável a estas bebidas depende da proporção de vinho e/ou mosto de uva presente no produto acabado.

(3) Os sumos de fruta, incluindo os sumos de fruta fabricados a partir de concentrados, os sumos de fruta concentrados e os néctares de fruta encontram-se definidos nos anexos I e II da Directiva 2001/112/CE do Conselho, de 20 de Dezembro de 2001, relativa aos sumos de frutos e a determinados produtos similares destinados à alimentação humana (JO L 10 de 12.1.2002, p. 58) e produtos derivados da uva.

(4) Alimentos para bebés e alimentos à base de cereais destinados a lactentes e crianças jovens, definidos no artigo 1.º da Directiva 96/5/CE, Euratom da Comissão, de 16 de Fevereiro de 1996, relativa aos alimentos à base de cereais e aos alimentos para bebés destinados a lactentes e crianças jovens (JO L 49 de 28.2.1996, p. 17), com a última redacção que lhe foi dada pela Directiva 2003/13/CE (JO L 41 de 14.2.2003, p. 33). O teor máximo relativo a alimentos para bebés e alimentos à base de cereais destinados a lactentes e crianças jovens refere-se à matéria seca, que é determinada de acordo com o disposto na Directiva 2002/26/CE da Comissão.

(5) Alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos, tal como se encontram definidos no n.º 2 do artigo 1.º da Directiva 1999/21/CE da Comissão, de 25 de Março de 1999, relativa aos alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos (JO L 91 de 7.4.1999, p. 29). O teor máximo relativo a alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos especificamente destinados a bebés refere-se:

— no caso do leite e dos produtos lácteos, aos produtos prontos a usar (comercializados como tal ou reconstituídos segundo as instruções do fabricante), que é determinada de acordo com o disposto na Directiva 2002/26/CE da Comissão.»

(6) O teor máximo aplica-se aos produtos provenientes das colheitas a partir de 2005.

## ORIGEM DA CONTAMINAÇÃO DOS ALIMENTOS

A contaminação dos géneros alimentares por OTA depende do tipo de alimento e pode ocorrer em diferentes fases da sua produção. O crescimento fúngico e subsequente produção de OTA depende de vários factores, os quais incluem a temperatura, o grau de humidade durante a colheita, a secagem e o armazenamento dos produtos.

No caso dos cereais, a contaminação parece ocorrer essencialmente durante a fase de armazenamento, especialmente se em condições de humidade favoráveis.

No café, a principal contaminação parece ocorrer durante a fase de colheita e secagem dos grãos, principalmente se ocorre no solo. O contacto prolongado com o solo favorece a colonização fúngica e a produção de toxinas, consoante as condições climáticas<sup>(28)</sup>.

Na contaminação das uvas e do vinho verifica-se que, à medida que o processo de maturação avança, a incidência de fungos ocratoxigénicos nas uvas aumenta. No bago verde, por norma, não há detecção de fungos, sendo a maioria das espécies produtoras de OTA encontradas apenas na época da vindima. A temperatura, a chuva e a humidade relativa são factores que influenciam a produção de ocratoxina A em uvas. O risco de contaminação é superior em cachos mais fechados ou danificados, com mais fissuras na película

dos bagos<sup>(29)</sup>.

A contaminação da cerveja por OTA resulta da utilização de malte e cereais já contaminados por OTA. A sua produção ocorre durante o armazenamento das matérias-primas<sup>(30)</sup>.

A ocorrência de OTA em carnes tem essencialmente origem na ingestão de rações contaminadas. A OTA, após absorção, é distribuída através do sangue até ao músculo e ao rim<sup>(25)</sup>. Uma vez que a OTA é um contaminante frequente de produtos agrícolas, nomeadamente os cereais, é facilmente transmitida aos animais e aos humanos.

O tipo de processamento e tratamento dos produtos podem ser responsáveis pela diminuição da contaminação inicial por OTA. É o caso dos cereais; os processos físicos de lavagem e moagem dos grãos não são suficientes para eliminar os teores de OTA em grãos contaminados, uma vez que grande parte permanece nas partes internas do grão (fibra e glúten). Contudo, na produção de farinha, algumas partes do grão de trigo são removidas, reduzindo provavelmente as concentrações de OTA na farinha e em produtos derivados<sup>(31)</sup>.

A torrefacção do café parece reduzir os teores de OTA nos grãos, provavelmente devido às reacções químicas que ocorrem durante este processo.

Durante o fabrico da cerveja verifica-se que os teores de OTA vão diminuindo, provavelmente devido à hidrólise proteolítica da ligação peptídica durante a maltagem. Foi demonstrado que cerca de 70% dos teores de OTA são eliminados durante todo o processo de produção da cerveja<sup>(32)</sup>.

O tipo de processamento dos vinhos tintos parece explicar os teores mais elevados de OTA destes vinhos. Na vinificação dos vinhos brancos, as uvas são esmagadas e o mosto assim obtido é fermentado sem a presença das películas. Pelo contrário, na fermentação dos vinhos tintos, o mosto e as películas fermentam em conjunto, para permitir a extracção de compostos corados e aromas. Este processo parece maximizar a passagem de alguma micotoxina das películas para o mosto, contribuindo para os teores de ocratoxina A detectados<sup>(29)</sup>.

## CONCLUSÃO

A ocratoxina A pode ocorrer numa enorme variedade de géneros alimentares (cereais, frutos secos, café, cerveja, vinho...). Devido ao seu elevado tempo de semi-vida no leite, no sangue, no fígado e nos rins de animais, apresenta uma elevada persistência na cadeia alimentar. Com toxicidade comprovada é aconselhável a redução da ingestão alimentar desta micotoxina.

A União Europeia já estabeleceu regulamentação específica para a ocratoxina A nos cereais e seus derivados, café, vinho, uvas passas e produtos de alimentação infantil. Contudo, existem muitos outros géneros alimentícios passíveis de contaminação, os quais devem ser controlados de modo a evitar o seu consumo por humanos e animais.

Por este motivo é necessário adoptar medidas que previnam a contaminação e desenvolver programas de controlo, revendo os pontos críticos onde pode ocorrer o crescimento fúngico e a produção de OTA, com o intuito de minimizar, o mais possível, a exposição humana à OTA.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PERAICA M., RADIC B., LUCIC A., PAVLOVIC M., Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano, *Bulletim WHO*, 77(9), 754-766, 1999.
2. BENNETT J., KLICH M., *Mycotoxins*. *Clinical Microbiology Reviews*, July 497-516, 2003.
3. MERWE V.K.J., STEYNE P., FOURIE L., SCOTT D., THERON J., Ochratoxin A, a toxic metabolite produce by *Aspergillus ochraceus*, *Wilh. Nature*, 205, 1112-1113, 1965.
4. SWEENEY M., DOBSON A., *Mycotoxins production by Aspergillus, Fusarium and Penicillium species*, *Int. J. Food Microbiology*, 43, 141-158, 1998.
5. MUHLENCOERT E., MAYER I., ZAPF M., VOGEL R., NIESEN L., *Production ochratoxin A by Aspergillus ochraceus*, *European Journal of Plant Pathology*, 110, 651-659, 2004.
6. CERAIN L., JIMÉNEZ A., EZPELETA, O., BELLO, J., *Efectos Tóxicos de la Ochratoxin A*, 2000, Disponível em [www.unav.es/bromatologia/toxicologia/documentos](http://www.unav.es/bromatologia/toxicologia/documentos), Acesso em Junho 2005.
7. JECFA, *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Monographs & evaluations (JECFA 47 2001)*, Disponível em [www.inchem.org](http://www.inchem.org), Acesso em Junho 2005.
8. O'BRIEN E., HEUSSNER A., DIETRICH D., *Species-, Sex-, and cell type-specific effects of ochratoxin A and B*, *Toxicological Sciences*, 63, 256-264, 2001.
9. BREITHOLTZ-EMANUELSSON A., OLSEN M., PALMINGERA., HULT, K, *Ochratoxin A in cow's milk and human milk with corres-*

- ponding human blood samples, *Journal of AOAC Int.* 76(4), 842-846, 1993.
10. HÖHLER D., Ochratoxin A in Food and Feed: Occurrence, legislation and mode action, *Z. Ernährungswiss*, Steinkopff Verlag, 37, 2-12, 1998.
  11. HULT K., TEILING A., GATENBECK S., Degradation of Ochratoxin A by a Ruminant, *Appl. Environ. Microbiology*, Set 32(3), 443-444, 1976.
  12. PLESTINA R., Occurrence and significance of Ochratoxin A in food, *Food Additives and Contaminants*, 13 (supl), 49-50, 1996.
  13. DELGADILLO L, São as micotoxinas realmente perigosas, 6o Encontro de Química de Alimentos, Actas, Lisboa, 2003.
  14. SCHAAF G., NIJMEIJER S., MAAS R., ROESTENBERG P., GROENE E. FINK-GREMMELS J., The role of oxidative stress in the ochratoxin A – mediated toxicity in proximal tubular cells, *Bioch. Bioph. Acta*, Nov, 20, 1588(2), 149-158, 2002.
  15. DÖRREHAUS A., FLIEGER A., GOLKA K., SCHULEZ H., ALBRECHT M., DEGEN G., FOLLMAN W, Induction of unscheduled DNA synthesis in primary human urothelial cells, *Toxicological Sciences*, 53, 271-277, 2000.
  16. THUVANDER A., PAULSEN J., AXBERG K., JOHANSSON N., VIDNES A., ENGHARD H., TRYGG K., LUND K., JARL S., WIDENFALK A., BOSNES V., ALEXANDER, J., HULT K., OLSEN M., Levels of ochratoxin A in blood from Norwegian and Swedish blood donors and their possible correlation with food consumption, *Food and Chem. Toxicology*, 39, 1145-1151, 2001.
  17. REPORTS ON TASKS FOR SCIENTIFIC COOPERATION, report of experts participating in task 3.2.7, Assessment of dietary intake of Ochratoxin A by population in EU members states, Jan., Disponível em <http://europa.eu.int>. Acesso em Junho 2005.
  18. SERRA R., ABRUNHOSA L., KOZAKIEWICZ Z., VENÂNCIO A., Black *Aspergillus* species as OTA producers in Portuguese wines grapes, *Int. J. Food Microbiology*, Nov. 15, 88(1), 63-68, 2003.
  19. SERRA R., MENDONÇA C., ABRUNHOSA L., PIETRI A., VENÂNCIO A., Determination of ochratoxin A in wine grapes: comparison of extraction procedures and method validation, *Anal. Chimica Acta*, 513, 41-47, 2004.
  20. FESTAS I., HERBERT P., SANTOS L., CABRAL M., BARROS P., ALVES A., Ochratoxin A in some portuguese wines: method validation and screening in Port Wine and Vinho Verde, *Am. J. Enol. Vitic.*, 51(2), 150-154, 2000.
  21. RATOLA N., MARTINS L., ALVES A., Ochratoxin A in wines-assessing global uncertainty associated with the results, *Anal. Chimica Acta*, 513, 319-324, 2004.
  22. RATOLA N., ABADE E., SIMÕES T., VENÂNCIO A. ALVES A., Evolution of ochratoxin A content from must to wine in Port Wine microvinification, *Anal. Bional. Chem*, May, 382(2), 405-411, 2005.
  23. PENA A., CEREJO F., LINO C., SILVEIRA I., Determination of ochratoxin A in portuguese rice samples by high performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Anal. Bional. Chem.*, May, 31, 2005.
  24. LINO C., BAETA M., PENA A., SILVEIRA M., An HPLC/fluorescence method for determination of ochratoxin A in coriander (*Coriandrum sativum* L.), 7º Encontro Química dos Alimentos, Viseu, 2005.
  25. GUILLAMONT M., LINO C., BAETA M., PENA A., SILVEIRA M., Determination of Ochratoxin A in chicken, pig and turkey muscle collected at central zone of Portugal, 6º Encontro Química dos Alimentos, Actas, Lisboa, 2003.
  26. DINIS A., LINO C., BAETA M., PENA A., SILVEIRA M., Níveis de OTA em soro de populações de Coimbra, Ereira, Verride, 6º Encontro Química dos Alimentos, Actas, Lisboa, 2003.
  27. SCF 1998, Opinion of Scientific Committee on Food on ochratoxin A: expressed on 17 September 1998, Disponível em [http://europa.eu.int/comm/food/fs/scf/out14\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/food/fs/scf/out14_en.htm), Acesso em Maio 2005.
  28. MORÃES M., LUCHESE R., Ochratoxin A on green coffee: influence of harvest and drying processing procedures, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 5824-5828, 2003.
  29. MENDONÇA, C., ABRUNHOSA L., SERRA V., VENÂNCIO A., Contaminação fúngica das uvas e ocratoxina A em vinhos, Comunicação apresentada na Conferência Impacto da contaminação fúngica sobre a competitividade de vinhos: ocratoxina A, FEUP, 2003.
  30. BAXTER E., SLAIDING I., KELLY B, Behavior of ochratoxin A in Brewing, *J. Am. Soc. Brew. Chem*, 59(3), 98-100, 2001.
  31. ALLDRICK A., The effects of processing on the occurrence of ochratoxin A in cereals, *Food additives and Contam*, 13 (supplement), 27-28, 1996.
  32. Regulamento CE nº123/2005 da Comissão, Altera o regulamento CE nº 466/2001 no que se refere à ocratoxina A, *Jornal Oficial da CE* L025/3 de 28 de Janeiro, 2005.