



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIA AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ADSORVENTES BIOLÓGICO DE MICOTOXINAS EM DIETAS
EXPERIMENTALMENTE CONTAMINADAS POR AFLATOXINA B1
PARA VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO

BEATRIZ APARECIDA DIAS

DOURADOS – MS
FEVEREIRO – 2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIA AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ADSORVENTES BIOLÓGICO DE MICOTOXINAS EM DIETAS
EXPERIMENTALMENTE CONTAMINADAS POR AFLATOXINA B1
PARA VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO

BEATRIZ APARECIDA DIAS

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra
Coorientador: Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Área de concentração: Produção Animal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em zootecnia.

DOURADOS – MS
FEVEREIRO – 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

D541a Dias, Beatriz Aparecida
ADSORVENTES BIOLÓGICOS DE MICOTOXINAS EM DIETAS
EXPERIMENTALMENTE CONTAMINADAS POR AFLATOXINA B1 PARA VACAS
LEITEIRAS EM LACTAÇÃO [recurso eletrônico] / Beatriz Aparecida Dias. -- 2021.
Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Jefferson Rodrigues Gandra..
Coorientadora: Euclides Reuter de Oliveira..
Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2021.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Aflatoxina. 2. Leite. 3. Ruminantes. 4. Toxicidade. I. Gandra., Jefferson Rodrigues. II. Oliveira., Euclides Reuter De. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

**ADSORVENTE BIOLÓGICO DE MICOTOXINAS EM DIETAS
EXPERIMENTALMENTE CONTAMINADAS POR AFLATOXINA B1 PARA
VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO**

por

BEATRIZ APARECIDA DIAS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título
de MESTRE EM ZOOTECNIA

Aprovado em: 04/03/2021



Dr. Jefferson Rodrigues Gandra
Orientador – UNIFESSPA



Dr. Pedro Ancelmo Nunes Ermita
UNIFESSPA



Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
UFGD

BIOGRAFIA DO AUTORA

BEATRIZ APARECIDA DIAS, filha de Djalma Manoel Dias e Zilda dos Santos Dias, nasceu na cidade de Mirandópolis, estado de São Paulo, em 24 de agosto de 1988.

No ano de 2007 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias de Andradina – Fundação Educacional de Andradina (FCAA – FEA) colando grau em janeiro de 2012.

Em março de 2019, iniciou as atividades como discente no curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), sob orientação do prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra e coorientação do Prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira. Desenvolveu o experimento de mestrado no setor de Nutrição de Ruminantes e Forragens Conservadas pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados, Unidade II.

Dedico este trabalho a Deus; Sem ele eu não teria capacidade para desenvolver esse trabalho, ele me deu forças para concluir mais uma etapa da minha vida. E aos meus pais, devo a vocês o que sou e agradeço por tudo que sempre fizeram por mim.

AGRADECIMENTOS

Primeiro agradeço a Deus, pois sempre me iluminou e me amparou nos momentos mais difíceis.

As meus pais, Zilda e Djalma que não mediram esforços para essa conquista. Ao meu irmão Rodrigo que sempre me apoio.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados e à Faculdade de Ciências Agrárias pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Ao meu orientador Professor Dr. Jefferson Rodrigues Gandra pela orientação, paciência, confiança, e pela sua contribuição ao aprendizado e à disposição em ajudar nas horas mais difíceis e a quem pude contar minhas maiores dificuldades por estar acompanhando diariamente minha rotina na pós-graduação, mas especialmente por sua amizade durante este período.

Ao coorientador Professor Dr. Euclides Reuter de Oliveira, pelos ensinamentos repassados.

Em especial ao Thiago, por estar sempre presente e ajudando ao longo do experimento.

Aos queridos, Isabelle, Janaina, Giovani, Orlando, Nathalie, Willian, Murillo, Brasilino e Rafael que por muitas vezes salvaram os meus dias, por sempre estarem dispostos a me ajudar e pelas palavras de incentivo e pela colaboração na execução do experimento de campo e análises laboratoriais.

Ao Técnico de Laboratório Bruno Pontim pelo apoio na condução das análises laboratoriais.

Agradeço ao amigo Paulo Henrique pelo aprendizado, pelas palavras de incentivo e pela grande amizade.

A Universidade Federal da Grande Dourados, pela oportunidade de realização de meu curso de Mestrado.

Agradeço ao Valmir (Sassá), seu Waldemar e seu Airton pela colaboração e todo o suporte dado durante o manejo diário. Obrigada pelo tereré no calor, sempre aliado a uma boa conversa e conselhos no período de experimento.

Aos colegas de mestrado e melhor turma pela amizade, pelo aprendizado, pelas palavras de incentivo e pela colaboração, não citarei nomes, pois posso esquecer o nome de alguém.

A companheira de república Giulia Brito pelo apoio pessoal por compartilhar muitos momentos importantes e memoráveis durante esses últimos anos.

A Biomart Nutrição Animal, Martinópolis – SP, pelo auxílio no desenvolvimento e execução do experimento.

E por fim aos meus amigos de longas datas que sempre estiveram presentes nessa conquista.

Muito obrigada a todos.

"A persistência é o caminho do êxito"

Chales Chaplin.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

Considerações Iniciais.....	17
1. Revisão de Literatura.....	18
1.1 Micotoxinas.....	18
1.2 Aflatoxina.....	18
1.3 Aflatoxina na nutrição animal.....	21
1.4 Efeito da aflatoxina de vacas em lactação.....	22
1.5 Uso ADS na dieta de vacas em lactação.....	23
2. Objetivos.....	25
2.1 Objetivos específicos.....	25
4. Referências.....	25
CAPÍTULO II - <i>Uso adsorventes biológicos de micotoxinas em dietas de vacas leiteiras em lactação.</i>.....	38
Resumo.....	38
1. Introdução.....	38
2. Material e Métodos.....	40
2.1 Animais e tratamentos experimentais.....	40
2.2 Análise bromatológicas.....	42
2.3 Consumo de matéria seca.....	42
2.4 Produção e composição do leite.....	43
2.5 Parâmetros sanguíneos.....	43

2.6	Análise de micotoxinas nos alimentos.....	44
2.7	Excreção de aflatoxina M1 nos alimentos.....	44
2.8	Viabilidade econômica do uso do adsorvente.....	45
2.9	Análise estatística.....	46
3.	Resultados e Discussão.....	46
3.1.	Concentração de micotoxinas na dieta.....	46
3.2.	Concentração, excreção e transferência de aflatoxina M1.....	47
3.3.	Consumo de matéria seca, produção e composição do leite.....	49
3.4.	Parâmetro sanguíneo.....	51
3.5.	Avaliação econômica.....	53
4.	Conclusão.....	55
5.	Referências	55
6.	Considerações Finais	63

LISTA DE TABELAS
CAPÍTULO II

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional da dieta experimental.....	40
Tabela 2. Concentração e ingestão diária de micotoxinas presente na dieta de acordo com os tratamentos experimentais.....	46
Tabela 3. Consumo de aflatoxina por contaminação natural, exógena, excreção de AFM1 no leite e taxa de transferência de acordo com os tratamentos experimentais.....	47
Tabela 4. Consumo de matéria seca, produção e composição de leite de acordo com as dietas experimentais.....	49
Tabela 5. Hemograma completo, função renal e hepática de acordo com os tratamentos experimentais.....	51
Tabela 6. Análise econômica alimentar de acordo com os tratamentos experimentais.....	53

LISTAS DE ABREVIATURAS

AAM – Aditivos Antimicotoxinas
ADS – Adsorvente
AFB₁ – Aflatoxina B₁
AFB₂ – Aflatoxina B₂
AFG₁ – Aflatoxina G₁
AFG₂ – Aflatoxina G₂
AFBO – Epóxido de Aflatoxina B₁
AFM₁ – Aflatoxina M₁
AFP₁ – Aflatoxina P₁
AFQ 1 – Aflatoxina Q₁
AST – Aminotransferase
ANT – Antimicox MR
CON – Controle
CMS – Consumo de matéria seca
CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
ECM – Energia corrigida
EE – Extrato etéreo
EPM – Erro padrão da média
FA – Fosfatase alcalina
FDA – Fibra em detergente ácido
FDN – Fibra em detergente neutro
GGT – Gama Glutamil transferase
kg – Quilogramas
µg – Micrograma
MS – Matéria seca
MIC – Micotoxinas
LIG – Lignina
PB – Proteína bruta

PL – Produção de Leite

ppb – Partes por bilhão

VGM – volume globular médio

WASH-OUT – Suspensa a terapêutica

RESUMO

DIAS, Beatriz Aparecida. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados MS, fevereiro de 2021. Adsorventes biológico de micotoxinas em dietas experimentalmente contaminadas por aflatoxina b1 para vacas leiteiras em lactação: Dr. Jefferson Rodrigues Gandra; Coorientador: Euclides Reuter de Oliveira.

Aflatoxinas B1(AFB1) são metabólitos secundários prejudiciais produzido principalmente pelos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, são imunossupressores e carcinogênico. As dietas contaminadas com AFB1 são fornecidas para animais lactantes, a toxina é metabolizada principalmente no fígado, irão excretar aflatoxina M1, transportado para a glândula mamária via sangue e transferido para o leite. Por esse motivo, objetivou-se avaliar o uso de adsorvente biológico sobre desempenho produtivo, composição do leite, excreção de aflatoxina M1 no leite, função hepática, renal e viabilidade econômica do adsorvente em vacas leiteiras recebendo dietas experimentalmente contaminadas com aflatoxina B1. Foram utilizadas 05 vacas primíparas da raça Jersey, com produção de leite= $15.0 \pm 4,25$ kg/dia, peso médio das vacas = 410 ± 36.50 kg. O delineamento em quadrado latino, sendo 5 tratamentos e 5 períodos. Os tratamentos foram: 1- CONTROLE (sem micotoxinas e sem adsorvente); 2- MICOTOXINA (adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado e sem adsorvente); 3- ADSORVENTE (adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado + 2 kg de adsorvente ADS/tonelada de concentrado) 4- ANT1 (adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado + 1 kg de ANT. /tonelada de concentrado), 5- ANT3 (adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado + 3 kg de ANT. /tonelada de concentrado). Foram realizadas análises das amostras de alimentos da dieta, para presença de micotoxinas, além da produção e composição do leite, presença e excreção de AFB1 nas amostras de leite cru, análise dos parâmetros sanguíneos. Além de uma análise de viabilidade econômica. A inclusão de adsorvente em dietas contaminadas com AFB1 melhorou a produção de leite, significativamente maior no grupo ANT3 (21,80 kg/d) do que nos grupos MIC (16,38 kg/d). O tratamento foi eficaz na absorção AFB1 no trato gastrointestinal de vacas, reduzindo assim a excreção de AFM1 no leite. Os resultados sugerem um efeito positivo do uso ANTIMICOX MR na imunidade animal.

Palavras-chave: Aflatoxina, Leite, Ruminantes e Toxicidade.

ABSTRACT

DIAS, Beatriz Aparecida. Federal University of Grande Dourados, Dourados MS, February 2021. Biological mycotoxin adsorbents in experimentally aflatoxin b1 contaminated diets for lactating dairy cows: Dr. Jefferson Rodrigues Gandra; Co-Ordinator: Euclides Reuter de Oliveira.

Aflatoxin B1 (AFB1) are harmful secondary metabolites produced mainly by the fungi *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, are immunosuppressive and carcinogenic. Diets contaminated with AFB1 are fed to lactating animals, the toxin is metabolized mainly in the liver, will excrete aflatoxin M1, transported to the mammary gland via blood and transferred to the milk. For this reason, we aimed to evaluate the use of biological adsorbent on productive performance, milk composition, excretion of aflatoxin M1 in milk, liver and kidney function and economic feasibility of the adsorbent in dairy cows receiving diets experimentally contaminated with aflatoxin B1. Five primiparous Jersey cows were used, with milk production = 15.0 ± 4.25 kg/day, average cow weight = 410 ± 36.50 kg. The design was a latin square, with 5 treatments and 5 periods. The treatments were: 1- CONTROL (no mycotoxins and no adsorbent); 2- MYCOTOXIN (addition of 200 µg aflatoxin/kg concentrate and no adsorbent); 3- ADSORBENT (addition of 200 µg aflatoxin/kg concentrate + 2 kg of adsorbent ADS/ton of concentrate) 4- ANT1 (addition of 200 µg aflatoxin/kg concentrate + 1 kg ANT./5- ANT3 (addition of 200 µg aflatoxin/kg concentrate + 3 kg ANT/ton concentrate). Analyses of the feed samples of the diet were performed for the presence of mycotoxins, in addition to milk production and composition, presence and excretion of AFB1 in the raw milk samples, analysis of blood parameters. In addition to an economic feasibility analysis. The inclusion of adsorbent in diets contaminated with AFB1 improved milk production, significantly higher in the ANT3 group (21.80 kg/d) than in the MIC groups (16.38 kg/d). The treatment was effective on AFB1 absorption in the gastrointestinal tract of cows, thus reducing AFM1 excretion in milk. The results suggest a positive effect of ANTIMICOX MR use on animal immunity.

Key-words: Aflatoxin, Milk, Ruminants, and Toxicity.

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo com aproximadamente 218,23 milhões de cabeças, ficando atrás somente da Índia. De acordo com o levantamento do IBGE a produção total brasileira de leite cru captado e industrializado no primeiro trimestre de 2019 foi de 6,7 bilhões de litros, o equivalente a um aumento de 3% quando comparado ao mesmo período do ano anterior, ocupando o 10º lugar no ranking nacional, com uma produção média diária de 1,9 L/vaca, o estado de Mato Grosso do Sul produziu 33 milhões de litros de leite, no período observado pela pesquisa. (IBGE, 2019).

Entre os desafios que os produtores de leite enfrentam ano após ano, destacam-se o alto custo de produção e o retorno financeiro muito baixo, sendo que um dos fatores de maior impacto é a alimentação, que pode representar até 70% dos custos (EMBRAPA, 2019). A problemática é que as micotoxinas contaminam os animais que consomem alimentos contaminados, e podem ser transferidas para seus produtos (leite ou carne), consequentemente, gerando um perigo para saúde humana (BRUERTON, 2001; ASSIS et al., 2019).

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos resultantes da produção de fungos filamentosos, levando a uma resposta tóxica (KHANEGHAH et al., 2018). As principais micotoxinas podem ser divididas em três grupos: as aflatoxinas, produzidas por fungos do gênero *Aspergillus* como *A. flavus* e *A. parasiticus*; as ocratoxinas, produzidas pelo *Aspergillus ochraceus* e diversas espécies do gênero *Penicillium*; e as fusariotoxinas, que possuem como principais representantes os tricotecenos, zearalenona; e as fumonisinas, produzidas por diversas espécies do gênero *Fusarium* (PINTO & VAAMONDE, 1996; DILKIN, 2002).

Dentre as micotoxinas, as aflatoxinas são hepatotóxicas e cancerígenas, metabólitos produzidos por espécies de *Aspergillus*, principalmente *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*, (CAMPAGNOLLO et al., 2020). São contaminantes naturais em cereais (milho, trigo, sorgo e arroz), subproduto de cereais, bagaço de oleaginosas (algodão, coco, amendoim e girassol), mandioca (BHAT et al., 2010).

Com avanço das tecnológicas na nutrição animal, estratégias são desenvolvidas para minimizar os efeitos das micotoxinas. Os aditivos antimicotoxinas (AAM) incluem os produtos que, quando adicionados a alimentação animal, sejam capazes de adsorver, inativar, neutralizar ou biotransformar micotoxinas (PINHEIRO et al., 2017). Exemplos de aditivos para diminuir a biodisponibilidade de micotoxinas, são derivados de levedura (FIRMIN et al., 2011), argilas como Na e Ca bentonita (DIAZ et al., 2004), ou combinações de levedura com argila (KISSELL et al., 2013; XIONG et al., 2015). O intuito é ligarem as micotoxinas em nível intestinal impedindo sua absorção (SCHNEIDER et al., 2019).

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Micotoxinas

A palavra micotoxina deriva do grego em que “mykes” significa fungo e do latim “toxicum” significando veneno ou toxina (GOLDBLATT, 1972; BURLLERMAN, 1979).

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por algumas espécies de fungos, principalmente gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Alternaria* com alta atividade tóxica e grande estabilidade (OLIVEIRA & CORASSIN, 2014; GONÇALVES, CORASSIN & OLIVEIRA, 2015; KHANEGHAH et al., 2018; CAMPAGNOLLO et al., 2020).

Os fungos são encontrados naturalmente no ambiente e seus esporos estão presentes no solo e nas culturas, contaminando os alimentos por meio da produção de micotoxinas (MARSON, 2014; DE TOLEDO, 2018). Estima-se que existam atualmente entre 100 a 250 mil espécies fúngicas conhecidas, sendo que aproximadamente 200 delas são capazes de produzir toxinas (GOMPERTZ et al., 2005; DE ASSIS et al., 2019).

De acordo com a literatura, as micotoxinas aflatoxinas, zearalenona, toxina T-2, desoxinivalenol, ocratoxina A, fumonisina e patulina são consideradas as mais importantes em alimentos (YIANNIKOURIS et al., 2002; OKUMA et al., 2018). Costumam prosperar em ambientes com alta umidade, acesso a alta temperatura e oxigênio durante todas as etapas de produção e armazenamento (EGAL et al., 2005).

Os diversos efeitos ocasionados pela ingestão de micotoxinas se deve principalmente as suas diferentes estruturas químicas, podendo ser influenciada pela

diversidade de espécies, raça, sexo, idade, condições nutricionais, fatores ambientais, manejo, entre outras (DILKIN, 2002). Os principais animais afetados pelas micotoxinas são os bovinos, ovinos, suínos e aves (FUJII et al., 2008). As micotoxinas podem apresentar várias manifestações toxicológicas. Algumas apresentam efeitos sobre o sistema imunológico, enquanto que outras são consideradas teratogênicas, mutagênicas e/ou carcinogênicas além de estarem também associadas a várias doenças crônicas e agudas (LINDNER, 1995; MILLER & TRENHOLM, 1997; ROSA, 2014).

As aflatoxinas se destacam por serem extremamente tóxica, tendo em conta o seu impacto na saúde humana e animal. De facto, estas são consideradas um dos agentes carcinogênicos naturais mais potentes (ESKOLA et al., 2019; VIDAL, 2020). O diagnóstico preciso da aflatoxicose é difícil porque os sintomas não são específicos da doença (COULOMBE, 1993).

1.2 Aflatoxina

As aflatoxinas fazem parte de um grupo de toxinas produzidas por fungos como metabólitos secundários, são produzidas por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, principalmente por *A. niger*, *A. ruber*, *Penicillium citrinum*, *P. frequentans*, *P. variable* e *P. puberulum* (OKUMA et al., 2018). De particular interesse na alimentação animal são os do gênero *Aspergillus*, presentes em 20 a 30% de alimentos globalmente (STREIT et al., 2013). São comumente encontradas em diversos alimentos, especialmente em cereais com milho, trigo, sorgo e arroz, em subprodutos de cereais, rações para animais de criação e em uma série de alimentos para humanos, tais como: produtos de salsicharia, vinhos, leguminosas, frutas, leites e derivados (FERREIRA et al., 2006; GIMENO; MARTINS, 2011; SOUZA, 2020).

As aflatoxinas constituem um grupo de aproximadamente 20 metabólitos fúngicos (MISTURA et al., 2020). Sendo que a aflatoxina B1 (AFB1) apresenta maior toxicidade, seguida das AFG1, AFB2 e AFG2 (CORREA, 2000; ARAUJO, 2006; DE ASSIS et al., 2019). A susceptibilidade aos efeitos tóxicos das aflatoxinas depende da concentração da toxina nos alimentos e duração da exposição (ROSIM et al., 2018). É também a mais tóxica, sendo hepatotóxica, teratogênica, genotóxica e classificada como carcinógeno humano (grupo 1) pela

Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC, 1993; JACKSON e GROOPMAN, 1999; WANG et al., 2001; IARC, 2002; ROSIM et al., 2018).

A estrutura química das aflatoxinas apresenta um núcleo central cumarínico ligado a uma estrutura bi-furanoide. Absorvidas no trato gastrointestinal, as aflatoxinas são biotransformadas principalmente no fígado por enzimas do citocromo P450, enzimas microsomiais do sistema de oxidas de função mista (OLIVEIRA et al., 1997). A primeira fase (ativação), envolve reações de epoxidação, redução, hidroxilação, desmetilação e hidratação que resultam na formação dos diferentes metabólicos, AFB-epóxido (AFBO), AFL, AFM₁, AFQ₁, AFP₁ E AFB_{2a} (SANTACROCE et al., 2008). A fase II envolve as reações de conjugação dos produtos da fase I (desintoxicação), compreende a liberação dos metabolitos, os quais servem como biomarcadores para identificação da presença de agentes tóxicos no organismo (SANTACROCE et al., 2008).

A forma ativada da AFB₁ é o composto identificado como 8,9 - óxido de AFB₁. Altamente eletrofílico, este composto é capaz de reagir rapidamente, através de ligações covalentes com sítios nucleofílicos de macromoléculas, como ácido desoxirribonucleico (DNA), ácido ribonucleico (RNA) e proteínas (BIEHL; BUCK, 1987; OLIVEIRA et al., 1997; NONES et al., 2016; GONÇALVES, 2018). Estas ligações determinam a formação de adultos, os quais representam a lesão bioquímica primária produzida pelas aflatoxinas (HSIEH et al., 1991). A AFB₁-epóxido pode também ser conjugada enzimaticamente com glutathione reduzida, através de glutathione-S-transferases, constituindo importante via de detoxificação deste composto (HAYES et al., 1991; OLIVEIRA et al., 1997).

Este metabolismo se une ao N₇ da guanina do DNA, formando o adulto AFB₁ – Gua, 70% deste composto é eliminado na urina e leite, comportando-se como biomarcador de risco de câncer (SERNA, 2018). A porcentagem restante pode se alojar em tecidos tumorais, indicando exposição recente e reparação do DNA (CARVAJAL, 2013). Os adultos de RNA e de proteínas determinam lesões bioquímicas, as quais devem, provavelmente, estar envolvidas com os mecanismos de toxicidade aguda da AFB₁, dado que conduzem à morte celular pela inativação de macromoléculas essenciais às células (HSIEH et al., 1991; OLIVEIRA et al., 1997). Os principais adultos de proteínas são formados com albumina, durante a sua síntese nos hepatócitos (BUSBY et al., 1984).

A AFB₁, além de poder produzir a AFB₁- epóxido, que pode ser excretada ou ligada ao DNA , pode também produzir outros compostos por hidroxilação, como a AFM₁ a AFQ₁ e AFB_{2a}, e por desmetilação a AFP₁, na qual esses compostos são excretados no leite (AFM₁), na urina ou bile, e depois nas fezes (BIEHL et al., 1987; SANTACROCE et al., 2008),

Bioquimicamente, AFB₁ afeta proteínas, carboidratos e lipídios, assim como os ácidos nucleicos e o metabolismo de proteínas. Biologicamente, esta aflatoxina pode ser um agente carcinogênico, mutagênico, teratogênico, imunossupressor e hepatológico (BAPTISTA et al., 2004). As aflatoxinas causam danos no fígado, diminuição a produção de leite e ovos e supressão da reposta imune em animais que consomem baixas concentrações na dieta (ROSIM, 2018).

1.3 Aflatoxina na nutrição animal

Os fungos podem ser considerados vilões do sistema de produção, afetando de forma indireta e silenciosa a eficiência produtiva dos bovinos de maneira geral. A prevalência de micotoxinas em rações ou ingredientes, é influenciada pela estação e varia com o clima. Os climas quentes, úmidos, tropicais ou subtropicais são os fatores predisponentes para contaminações por micotoxinas (JENKINS, 2018). Portanto, a contaminação por micotoxinas em leite e animais não é apenas um problema de saúde humana, mas também econômico, causando perdas aos agricultores devido aos efeitos adversos das micotoxinas relacionados a baixa produtividade dos animais (GONZÁLEZ et al., 2005; MARIMÓN et al., 2019). O efeito primário das aflatoxinas é a redução no ganho de peso e produção de leite, além de danos ao fígado e rim (IAMANAKA et al., 2010).

Os ruminantes, no entanto, são geralmente considerados mais resistentes aos efeitos adversos das micotoxinas (FINK-GREMMELS, 2008). Esta suposição baseia-se nos achados de que a microbiota ruminal tem a capacidade de biotransformação de micotoxinas para metabólitos menos tóxicos ou não tóxicos (UPADHAYA et al., 2010). Conseqüentemente, o rúmen pode ter uma grande capacidade de inativar micotoxinas e reduzir risco de saúde no gado para algumas micotoxinas, enquanto para outros resulta completamente ineficiente na proteção animais por efeitos negativos devido à ingestão de micotoxinas. O efeito protetor do rúmen pode ser comprometido quando o estado de saúde dos animais é alterado, por qualquer alteração

na composição da dieta ou em função dos níveis de exposição às micotoxinas (FINK-GREMMELS, 2008; FLORES-FLORES, 2015).

1.4 Efeito da aflatoxina de vacas em lactação

A exposição crônica a aflatoxinas em dietas de vacas em lactação causa efeitos adversos como redução da saúde e desempenho das vacas, função hepática prejudicada, estado imunológico suprimido e aumento da suscetibilidade a doenças apesar das vacinas (GARRETT et al., 1968; DIEKMAN E GREEN, 1992; OGUNADE et al., 2018). A presença de AFM₁ no leite e produtos lácteos é de grande importância devido ao seu alto consumo por seres humanos, especialmente crianças (BATTACONE et al., 2009).

Quando AFB₁ é ingerida pelo gado, ela sofre hidroxilação no fígado, transformando-se em aflatoxina M₁ (AFM₁), sendo o leite um dos possíveis meios de excreção (IARC, 2012; VENÂNCIO, 2017). A absorção de micotoxinas é via glândula mamária pode ocorrer através de filtração intercelular, difusão passiva através da membrana celular, ou transporte ativo, o que depende da estrutura química da micotoxina, seu estado iônico, entre outros (YIANNIKOURIS et al., 2002; KALAC, 2011.).

A excreção de micotoxinas no leite é afetado pela massa molar e lipofilicidade dessas. A taxa de transporte também é influenciada pelo gradiente de pH entre o plasma do sangue e leite, o que pode alterar de acordo com estado de saúde do animal. AFM₁ pode ser encontrada no leite entre 12 e 24 horas após a ingestão de AFB₁ (STOLOFF, 1977), e atinge níveis não detectáveis de 4 a 5 dias após a remoção da ração contaminada, independente dos níveis iniciais (STOLOFF, 1980).

Prado et al., (1999) observaram em pesquisa realizada em Belo Horizonte que das 61 amostras de leite analisadas, 50 (82%) apresentavam AFM₁ embora estivessem em concentrações dentro dos limites permitidos no Brasil, destas apenas 3 estavam com valores acima de 0,05 µg/kg, tolerância exigida por alguns países da Europa. Vacas leiteiras com consumo de 120 ppb de micotoxinas apresentam menor eficiência reprodutiva e menor produção, indicando que essas concentrações são prejudiciais (WHITLOW et al., 2004).

A legislação brasileira permitir a presença de no máximo 0,5 µg/kg de AFM₁ em leite fluido, 5 µg/kg em leite em pó, e 2.5 µg/kg em queijos (BRASIL, 2011). A organização

das nações unidas para a alimentação e a agricultura (FAO, 2007) recomenda práticas de prevenção de micotoxinas em grãos como parte integrante na produção de alimentos para consumo animal.

1.5 Uso ADS na alimentação de bovinos leiteiros

Devido à natureza tóxica das micotoxinas, estratégias têm sido desenvolvidas, tais como: prevenção da contaminação e do crescimento fúngico; descontaminação de alimentos e ainda, inibição ou a adsorção no trato gastrointestinal de micotoxinas presentes no alimento consumido (MALLMANN et al., 2006). Os adsorventes podem ser minerais, orgânicos ou polímeros sintéticos, possibilitando a formação de um complexo que é excretado nas fezes (ROSIM et al., 2018). Uma alternativa viável, segura e relativamente econômica, usado para reduzir os problemas associados à ingestão de micotoxinas e diminuir sua biodisponibilidade no intestino. Isso envolve a adsorção da toxina por agentes sequestrantes nas dietas (CAST, 2003).

O critério mais importante para avaliação de adsorventes é a estabilidade da ligação adsorvente-toxina, em uma ampla faixa de pH, uma vez que é esperado que o produto funcione durante a passagem pelo trato gastrointestinal (BINDER, 2007; ROSIM et al., 2018). Na adsorção física, as interações que ocorrem são eletrostáticas, de atração e de repulsão, força de Van der Waals e polarização, sendo, portanto, um fenômeno reversível, enquanto que na adsorção química existe uma troca eficaz de elétrons entre o adsorvente e a substância adsorvida, formando um complexo sobre a superfície sólida de forma irreversível (TAPIA-SALAZAR et al., 2010).

Segundo Olver (1997), os adsorventes aderem à Aflatoxina e impedem sua absorção pelo trato gastrintestinal, 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 e do grau de contaminação do alimento fornecido (DAMMSKI, 2014; DO PRADO, 2015).

Os adsorventes podem ser classificados em diferentes grupos com base em sua origem: não biológicos (por exemplo, aluminossilicatos, carvão ativado, bentonitas, montmorillonitas, zeólitas, entre outros) e biológicos (por exemplo, leveduras, fungos

filamentosos, bactérias, algas, enzimas microbianas, entre outros) (VARGA et al., 2010; HOJNIK et al., 2017; RODRIGUES, 2019).

O aluminossilicato hidratado de sódio e cálcio (HSCAS) é o composto mais estudado como agente sequestrante de aflatoxinas. Sua estrutura tem moléculas de água ligadas a um complexo metálico, com afinidade para adsorver compostos carregados positivamente (RAMOS et al., 1997; HUWIG et al., 2001; TAPIA-SALAZAR, et al., 2010). As bentonitas (montmorilonitas), devido à capacidade de trocas iônicas também são amplamente usadas como agentes sequestrantes de micotoxinas. São classificadas em bentonitas de cálcio, magnésio, potássio ou sódio e formam géis, quando intumescidas (DIAZ et al., 2005; SMITH 2005).

Agentes sequestrantes de aflatoxina à base de argila mostraram o potencial de ligar aflatoxinas e prejudicar sua absorção gastrointestinal (KABAK et al., 2006), mas altas doses podem reduzir a utilização de vitaminas e minerais (CHESTNUT et al., 1992). Diaz et al. (2004) relataram que 3 produtos de bentonita de sódio reduziram a concentração de resíduos de AFM1 no leite em 50 a 65%.

Os adsorventes de origem orgânica são principalmente os derivados na parede da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, o qual apresenta ação para vários tipos de micotoxinas, como as aflatoxinas, fumonisinas e ocratoxinas (Diaz et al., 2005). Dentre as categorias de produtos à base de micro-organismos, existem os probióticos e os suplementos dietéticos.

De acordo com Fuller (1989), os probióticos são suplementos alimentares de micro-organismos vivos que produzem efeitos benéficos no hospedeiro, favorecendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal, além de auxiliar na diminuição das concentrações de substâncias tóxicas em ambientes de cultivo. Edens et al. (1999) verificaram que *Lactobacillus reuteri*, probiótico, foi capaz de adsorver aflatoxina *in vitro*. Adição de alumínio silicato de cálcio e sódio hidratado é aplicada na alimentação de ruminantes para redução de aflatoxinas (FAO, 2007). Foi observado que aumento da quantidade de metionina diminui o efeito tóxico de aflatoxinas para animais (BAPTISTA et al., 2002), isso é devido possivelmente, à competição por absorção no trato gastrintestinal (SANTIN et al., 2000).

De acordo com Hai (2006) ao testar cepas de *Bacillus subtilis* no controle da produção de aflatoxinas concluiu que duas variantes desta cepa inibiram a produção da toxina.

Lactobacillus e Streptococcus são bactérias utilizadas principalmente como sequestradoras de micotoxinas mediante pontes hidrofóbicas que as liga à superfície bacteriana (TAPIA-SALAZAR et al., 2010). Entre os métodos biológicos, as bactérias ácido lácticas, são as mais estudadas e que apresentam resultados mais promissores na remoção desses contaminantes (BHAKTA et al., 2012; BOVO et al., 2013; SERRAÑO-NINÕ et al., 2013; ELSANHOTY et al., 2014; ZHANG et al., 2014).

Os adsorventes biológicos a base de probióticos estimula a produção de leite, pois os efeitos benéficos descrito por Krehbiel et al. (2003), participa da ativação do sistema imune e prevenção de acidose ruminal, podendo melhorar a saúde dos animais, refletindo em maiores produções. E na tentativa de estabelecer composto que possa fornecer informação a respeito da exposição á aflotoxina B1 e verificar a ação do adsorvente biológico em bovinos leiteiros.

2. OBJETIVOS

- Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do adsorvente biológico de micotoxinas a base de probióticos em dietas experimentalmente contaminadas com aflatoxina B1.

2.1 Objetivos específicos

Avaliar os efeitos do uso de adsorvente de micotoxinas nos seguintes parâmetros;

- Consumo de matéria seca, produção e composição do leite
- Hemograma e leucograma;
- Função hepática e renal
- Excreção e dinâmica de metabólito AFM1 no leite.
- Viabilidade econômica do uso do adsorvente

3. REFERÊNCIAS

ARAUJO, J. M. A. Química de Alimentos: teoria e prática. 3º ed. Vicosa: UFV, 2006.

ASSIS, J. R.; ASSIS, A. C. M.; NUNES, D.; CARLOS, A. B.; CARVALHO, T. T.; GALVOS-RIVEROS, A. C. Micotoxinas no metabolismo e desempenho de animais ruminantes. **Journal of Biology & Pharmacy**, v. 15, n. 4, 2019.

BAPTISTA, A.S.; HORII, J.; CALORI-DOMINGUES, M. A.; GLÓRIA, E. M. da; SALGADO, J.M.; VIZIOLI, M.R. Thermolysed and active yeast to reduce the toxicity of aflatoxin. **Scientia Agricola**, v.59, n.2, p.257-260, 2002.

BATTACONE, Gianni et al. The transfer of aflatoxin M1 in milk of ewes fed diet naturally contaminated by aflatoxins and effect of inclusion of dried yeast culture in the diet. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 4997-5004, 2009.

BHAKTA, J.N.; OHNISHI, K.; MUNEKAGE, Y.; IWASAKI, K.; WEI, M.Q. Characterization of lactic acid bacteria-based probiotics as potential heavy metal sorbents. **Journal of Applied Microbiology**, v.112, p.1193–1206, 2012.

BHAT, R., R. V. RAI, A. A. KARIM. 2010 Mycotoxins in food and feed: Present status and future concerns. **Compr. Rev. Food Sci. food Saf.** 9:57-81.

BIEHL ML, BUCK WB. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. **J. Food Nutr.**, 50: 1058-1073. 1987.

BINDER E.M. Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. **Anim. Feed Sci. Technol.**, n. 133, p.149-166, 2007.

BIOMIN. 2016. Mycotoxin Survey 2016 Third quarter (July to Sept 2016). Accessed Abr. 13, 2020. <https://nutricionanimal.info/wp-content/uploads/2016/11/Mycotoxin-Survey-Presentation-Q3-2016-1.pdf>.

BOVO, F.; CORASSIN, C. H.; ROSIM, R. E.; OLIVEIRA, C. A. F. Efficiency of Lactic Acid Bacteria Strains for Decontamination of Aflatoxin M1 in Phosphate Buffer Saline Solution and in Skimmed Milk. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 2230- 2234, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 3 de novembro de 2004. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/IN132004alteradapelaIN44201511.pdf>

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em

alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 22 fev. 2011 a. Seção 1, p. 72.

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

BURLLERMAN, L. B. Significance of mycotoxins to food safety and human health. In: **Journal of Food Protection**. Milwaukee, v. 42, p. 65-86, 1979.

CALVET, R.M., Nóbrega, M., Costa, A.P., Pereyra, C.M., Monte, A.M., & Muratori, M.C. Atividade anti-micotoxina in vitro de probiótico (*Bacillus* spp) e microalgas (*Chaetoceros gracilis*) para aflatoxina B1 e ocratoxina A usados na alimentação do *Litopenaeus vannamei*. **Research, Society and Development**, 9, 2020.

CAMPAGNOLLO, F. B., Khaneghah, A. M., Borges, L. L., Bonato, M. A., Fakhri, Y., Barbalho, C. B., ... & Oliveira, C. A. In vitro and in vivo capacity of yeast-based products to bind to aflatoxins B1 and M1 in media and foodstuffs: a systematic review and meta-analysis. **Food Research International**, 137, 109505, 2020.

CARVAJAL, M. Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1- ADN. TIR: **Revista Especializada em Ciências Químico – Biológicas**, ciudad de México, v. 16, n. 2, p. 109 – 120, 2013.

CAST. **Conselho de Ciência e Tecnologia Agrícola**. Micotoxinas: Riscos em Plantas, Animais, e sistemas humanos; CAST: Ames, IA, EUA, 2003.

CHESTNUT, A. B., P. D. Anderson, M. A. Cochran, H. A. Fribourg, and K. D. Gwinn. 1992. Effects of hydrated sodium calcium aluminosilicate on fescue toxicosis and mineral absorption. **J. Anim. Sci.** 70:2838–2846. Demetriou, J. A., P.

COIMBRA, L. S. G. Micotoxinas na alimentação de gado leiteiro da região metropolitana de Curitiba: um (des) conhecimento que faz diferença. [Dissertação] Pós Graduação em Produção vegetal. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2002.

CORREA, B. Fungos toxigênicos: panorama nacional. Encontro nacional de micotoxinas e simpósio de armazenamento qualitativas de grãos do Mercosul, 9°. Florianópolis: p. 162-168, 2000.

COULOMBE, R. A. JR. 1993. Biological action of mycotoxins. **J. Dairy Sci.** 76:880 – 891.

DE ASSIS, João Rafael et al. MICOTOXINAS NO METABOLISMO E DESEMPENHO DE ANIMAIS RUMINANTES. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 15, n. 4, 2019.

DE TOLEDO, Eduardo Amaral. Quantificação De Micotoxinas E Análise Bromatológica De Silagens De Milho Na Microrregião Geográfica Apucarana, No Norte Do Paraná. 2018.

DIAS, A. S. Micotoxinas em produtos de origem animal. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, n. 30, 2018.

DIAZ, D. E., W. M. Hagler Jr., J. T. Blackwelder, J. A. Eve, B. A. Hopkins, K. L. Anderson, F. T. Jones, and L. W. Whitlow. 2004. Aflatoxin binders II: Reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathologia* 157:233–241.

DIAZ, D.E.; SMITH, T.K. Micotoxin sequestering agents: practical tools for the neutralization of mycotoxins. In: DIAZ, E.D. **The Mycotoxin Blue Book**. Nottingham University press, Nottingham. P.323- 339. 2005.

DIEKMAN, M. A., AND M. L. GREEN. 1992. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. **J. Anim. Sci.** 70:1615–1627.

DILKIN, P. et al. Micotoxinas: prevalência em alimentos, efeitos em animais e seu controle. In: AVISULAT, 2014, Bento Gonçalves. Anais Avisulat Sanidade, 2014.

DILKIN, Paulo. Micotoxicose suína: aspectos preventivos, clínicos e patológicos. *Biológico*, v. 64, n. 2, p. 187-191, 2002.

EC - EUROPEAN COMMISSION REGULATION. Commission regulation (EC) No 466/2001: setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official journal of the European Communities**, v. 77, p. 1–13, 2001.

EDENS F.W.; HAGLER W.M.; CASAS I.A.; EL-NEZAMI H. Interaction between *Lactobacillus reuteri* and aflatoxin in broiler chickens. **Poultry Science**, v.78, n.1, p.17, 1999.

EGAL, S., A. HOUNSA, Y. Y. GONG, P. C. TURNER, C. P. WILD, A. J. HALL, K. HELL, AND K. F. CARDWELL. 2005. Dietary exposure to aflatoxin from maize and groundnut in young children from Benin and Togo, West Africa. **Int. J. Food Microbiol.** 104:215–224.

ELSANHOTY, R.M.; SALAM, S; A.; RAMADAN, M.F.; BADR, F.H. Detoxification of aflatoxin M1 in yogurt using probiotics and lactic acid bacteria. **Food Control**, v.43, p. 129–134, 2014.

EMBRAPA. Agência de Informações Embrapa. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/introducao>. Acesso em: 8 fev. 2020.

ESKOLA, M. et al. worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited ‘FAO estimate’ of 25%. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 3, p. 1-17, 2019.

FAO, 2007. On-farm Mycotoxin Control in Food and Feed Grain, Good Practices for Animal Feed and Livestock. Training Manual (FAO). **Food and Agriculture Organization of the United Nations**.

FERREIRA, H. et al. Aflatoxinas: um risco á saúde animal. *Ambiência*, v. 2. P. 113-127,02006.

FINK-GREMMELS, J. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: A review. *Food Addit. Contam. A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 2008, 25, 172–180.

FINK-GREMMELS, J., 2008. The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. *Vet. J.* 176, 84 e 92. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.034>.

FIRMIN, S., D. P. Morgavi, A. Yiannikouris, and H. Boudra. 2011. Effectiveness of modified yeast cell wall extracts to reduce aflatoxin B1 absorption in dairy ewes. **J. Dairy Sci.** 94:5611–5619.

- FIRMIN, S.; Morgavi, D.; Yiannikouris, A.; Boudra, H. Effectiveness of modified yeast cell wall extracts to reduce aflatoxin B1 absorption in dairy ewes. **J. Dairy Sci.** 2011, 94, 5611–5619.
- FLORES-FLORES, M.E.; LIZARRAGA, E.; LÓPEZ DE CERAIN, A.; GONZÁLEZ-PEÑAS, E. Presence of mycotoxins in animal milk: A review. **Food Control** 2015, 53, 163–176.
- FUJII, S., GARCIA, L. B., & HIROOKA, E. Y. Metodologia analítica imunoquímica com ênfase na detecção de micotoxinas–ficotoxinas no sistema agroalimentar. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, 15(3), 273-284. 2008.
- FULLER, R. Probiotic in man and animals. *Journal of applied bacteriology*, v.66, p.365-378, 1989.
- GALLO, A. et al. A mycotoxin-deactivating feed additive counteracts the adverse effects of regular levels of Fusarium mycotoxins in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 12, p. 11314-11331, 2020.
- GALLO, A., GIUBERTI, G., FRISVAD, J.C., BERTUZZI, T., NIELSEN, K.F., 2015. **Review on mycotoxin issues in ruminants**: occurrence in forages, effects of mycotoxin ingestion on health status and animal performance and practical strategies to counteract their negative effects. *Toxins (Basel)* 7, 3057e3111. <https://doi.org/10.3390/toxins7083057>.
- GALVANO, F.; PIVA, A.; RITTIENI, A.; GALVANO, G. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. In: **Journal of Food Protection**. Milwaukee, v. 64, n. 1, p.120-131, 2001.
- GARRETT, W. N., H. HEITMAN, AND A. N. BOOTH. 1968. Aflatoxin toxicity in beef cattle. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 127:188–190.
- GIMENO, A.; MARTINS, M.L. *Micotoxinas y micotoxicosis en animals y humanos*. 3 ed. Mexico: Ivenc. USA, p. 127, 2011.
- GOLDBLATT, L. A. Implications of mycotoxins. In: **Revista Clinical Toxicology**. New Orleans, v. 5, n. 4, p. 453-458, 1972.

GOMPERTZ, O. F.; GAMBALE, W.; PAULA, C. R.; CORREA, B. *Biologia dos Fungos*. In: Trabulsi, L. R.; Alterthum, F. (Ed.). *Microbiologia*. São Paulo: Atheneu, 2005, p. 451-459.

GONÇALVES, Keven David Moreira. Ocorrência de aflatoxinas B1 e M1 em leite em pó e UAT consumido em Cabo Verde e região sul do Brasil. 2018. Dissertação de Mestrado.

GONÇALVEZ, E.; PINTO, M. M.; FELICIO, J. D. Análise de micotoninas no Instituto Biológico de 1989 a 1999. **Divulgação Técnica do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 63, n. 1/2, p. 15-19, jan./dez. 2001.

GONZÁLEZ, E.; FELICIO, M.; ROSSI, M.H.; NOGUEITA, J.H.; MANGINELLI, S. Ocorrência de aflatoxina m1 em leite comercializado em alguns municípios do estado de são paulo. *Arquivos Do Instituto Biológico*, v. 72, n. 4, p. 435–438, 2005.

HAI, N. N., (2006). *Bacillus subtilis* possibly used for aflatoxin control. *Proceedings of International Workshop on Biotechnology in Agriculture*. October 20-21.

HAYES, J.D.; JUDAH, D.J.; MCLELLAN, L.I.; NEAL, G.E. Contribution of the glutathione-S-transferases to the mechanisms of resistance to aflatoxin B₁. *Pharmacol. Ther.*, **50**: 443-72, 1991.

HOJNIK, N.; CVELBAR, U.; TAVČAR-KALCHER, G.; WALSH, J. L.; KRIŽAJ, I. **Mycotoxin decontamination of food: cold atmospheric pressure plasma versus “classic” decontamination**. *Toxins*, v. 9, n. 5, 2017.

HSIEH, D.P.H.; ATKINSON, D.N. Bisfuranoid mycotoxins: their genotoxicity and carcinogenicity. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 283: 525-32, 1991.

HUWIG, A.; FREIMUND, S.; KAPPELI, O.; DUTLER, H. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. **Toxicology letters**, v. 122, n. 2, p. 179–188, 2001.

IAMANAKA, Beatriz Thie; OLIVEIRA, Idjane Santana; TANIWAKI, Marta Hiromi. Micotoxinas em alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 7, p. 138-161, 2010.

IARC, International Agency for Research on Cancer (2012) - Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: chemical agents and related occupations. A review of human carcinogens. 100 (2012) 224–248.

IARC. 2002. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Pages 171–300 in Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.

IBGE – **Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística**, 2019. Pesquisa Trimestral do leite – 2019.

INTERNATIONAL AGENCY ON RESEARCH IN CANCER (IARC). Some Naturally Occuring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins In: **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**. Monograph 56. Lyon. 1993.

JACKSON P.E.; GROOPMAN J.D. Aflatoxin and liver cancer. *Baillière’s Clin Gastroenterol*, n. 13, p. 545–55, 1999.

JENKINS, T. Promote higher performance level: keeping aflatoxin out of milk. *Rumin Issue* 61, 1–16. 2018.

JOBIM, C. C.; GONCALVES, G. D.; SANTOS, G.T. Qualidade sanitária de grãos e de forragens conservadas “versus” desempenho animal e qualidade de seus produtos. In: **Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas**. Maringa. 2001, p.242-261.

KABAK, B.; Dobson, ADW; Var, I. Estratégias para prevenir a contaminação por micotoxinas em alimentos e alimentação animal: uma revisão. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 46, 593–619. 2006.

KALAC, P., WOOLFORD, M.K., 1982. A review of some aspects of possible associations between the feeding of silage and animal health. *Br. Vet. J.* 138, 305e320.

KHANEGHAH, A. M., Martins, L. M., von Hertwig, A. M., Bertoldo, R., & Sant’Ana, A. S. (2018b). Deoxynivalenol and its masked forms: Characteristics, incidence, control and fate during wheat and wheat based products processing-A review. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 13-24.

- KISSELL, L., S. Davison, B. A. Hopkins, G. W. Smith, and L. W. Whitlow. 2013. Effects of experimental feed additives on aflatoxin in milk of dairy cows fed aflatoxin-contaminated diets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 97:694–700.
- KREHBIEL, C.R.; RUST, S.R.; ZHANG, G.; GILLILAND, S.E. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: performance response and mode of action. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 81, suppl. 2, p. E120-E132, 2003.
- LINDNER, E. **Toxicología de los alimentos** 2.ed. Zaragoza, Espanha: Acribia, 1995. 251p
- 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
- MAKI, C. R. et al. Effects of calcium montmorillonite clay and aflatoxin exposure on dry matter intake, milk production, and milk composition. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 2, p. 1039-1046, 2016.
- MALLMANN, C.A. et al. Critérios para seleção de um bom sequestrante para micotoxinas. In: **CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS**, 2006, Santos. Anais... Santos: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2006. p. 213-224.
- MARIMÓN SIBAJA, Karen Vanessa et al. Aflatoxin biotransformation by commercial peroxidase and its application in contaminated food. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 94, n. 4, p. 1187-1194, 2019.
- MARSON, B. Avaliação bioeconômica da utilização de adsorvente orgânico de micotoxinas na dieta de bovinos alimentados com rações contendo coprodutos da agroindústria. [Dissertação] Pós Graduação em Ciência Animal. Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2014.
- MISTURA, Marcelo; LINDINO, Cleber Antonio. Incidência de micotoxinas em milho nos estados do Paraná, Mato Grosso E Mato Grosso Do Sul entre 2015 e 2018. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 76671-76688, 2020.

MOSCHINI, M., A. GALLO, G. PIVA, AND F. MASOERO. 2008. The effects of rumen fluid on the in vitro aflatoxin binding capacity of different sequestering agents and in vivo release of the sequestered toxin. **Anim. Feed Sci. Technol.** 147:292–309.

MULLER H.M., Amend R., Formation and disappearance of mycophenolic acid, patulin, penicillic acid and PR toxin in maize silage inoculated with *Penicillium roquefortii*, **Arch. Anim. Nutr.** 50 (1997) 213–225.

NONES, Janaína. et al. Processamento de argilas visando o combate dos efeitos tóxicos causados pela aflatoxina B1. 2016.

OGUNADE, I. M. et al. Silage review: Mycotoxins in silage: Occurrence, effects, prevention, and mitigation. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 5, p. 4034-4059, 2018.

OKUMA T.A.; HUYNH T.P.; HELLBERG R.S. Use of enzyme-linked immunosorbent assay to screen for aflatoxins, ochratoxin A, and deoxynivalenol in dry pet foods. **Mycotoxin Research**, v.34, n.1, p.69-75, 2018.

OLIVEIRA, C. A. F., & Corassin, C. H. (2014). Aflatoxins. In S. C. Duarte, A. L. S. Pena, & C. M. Lino (Eds.), *Mycotoxins and their Implications in Food Safety*. ed., p. 3-15.

OLIVEIRA, Carlos Augusto Fernandes de; GERMANO, Pedro Manuel Leal. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 4, p. 417-424, 1997.

OLVER, M.D. Effect of feeding clinoptilolite (zeolite) on the performance of three strains of laying hens. **British Poultry Science**, v.38, p.220-222, 1997.

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. In: **Arquivos de Biologia e Tecnologia**. Curitiba, v. 30, n. 21, p 253-265, 1987.

PINHEIRO, R. E. E., Pereyra, C. M., Neves, J. A., Calvet, R. M., Santos, J. T. D. O., Lima, C. E., ... & Muratori, M. C. S. Avaliação in vitro da adsorção de aflatoxina B1 por produtos comerciais utilizados na alimentação animal. **Arquivos do Instituto Biológico**, 84. 2017.

PINTO, V.E.F. & VAAMONDE, G. Hongos productores de micotoxinas en alimentos. **Rev. Arg. Microb.**, Buenos Aires, v.28, n.3, p.147-162, 1996.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; ABRANTES, F. M.; SANTOS, L. G.; SOARES, C. R.; VELOSO, T. Ocorrência de aflatoxina M1 em leite consumido na cidade de Belo Horizonte - Minas Gerais/Brasil - agosto/98 a abril/99. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 3, n. 19, p.420, dez. 893 1999.

RAMOS A.J., HERNÁNDEZ E. Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs: A review. **Anim. Feed Sci. Technol.**, 65 (1997), pp. 197-206

RODRIGUES, Aline Maria Dourado. CAPACIDADE PROBIÓTICA E ADSORVENTE DE AFLATOXINA B1 POR LEVEDURAS ISOLADAS DE VIVEIROS DE PISCICULTURA. 2019. Tese de Doutorado.

ROSA, A. F., & Odessa, N. (2014). Ocorrência natural de aflatoxina m1 e parâmetros de qualidade do leite em propriedades do estado de São Paulo. Dissertação de mestrado.

ROSIM, R. E., DE OLIVEIRA, C. A. F., CORASSIN, C. H. Aflatoxina M1 e Aflatoxina B1-Lisina Como Biomarcadores de Avaliação Da Eficiência de Adsorventes Para Aflatoxinas: Artigo de Revisão. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e Da Saúde**, v. 22, n. 3, p. 171-178, 2018.

ROSMANINHO, J. F.; OLIVEIRA, C. A. F.; REIS, T. A.; CORRÊA, B. Aflatoxina M1 e Ácido Ciclopiazônico em Leites de Consumo Comercializados no Município de São Paulo, SP, Brasil. **Braslian Journal: Of Foof Technology**, Campinas, n., p.55-59, 2006.

SANTACROCE, M. P. et al., Aflatoxina in aquatic species: metabolismo, toxicity and perspectives. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, Dordrecht, v. 18, n. 1, p. 99 – 130, 2008.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; ZANELLA, I.; MAGON, L. Micotoxinas do Fusarium spp. na avicultura comercial. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.1, p.185-190, 2000.

SCHNEIDER, A. F., Mayer, J. K., Volpato, J., & Gewehr, C. E. Minerais séricos, características morfométricas ósseas e deposição de minerais ósseos de frangos de corte

alimentados com dieta com inclusão de bentonita. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 71, 594-602, 2019.

SERNA, Carolina Maria Bedoya. Efeito de aflatoxinas na ração sobre Matrinxã (*Brycon cephalus*): acúmulo em tecidos e desempenho produtivo. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2018.

SERRANO-NIÑO, J. C.; CAVAZOS-GARDUÑO, A.; CANTÚ-CORNELIO, F.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; VALLEJO-CÓRDOBA, B.; HERNÁNDEZMENDOZA, A.; GARCÍA, H. S. In vitro reduced availability of aflatoxin B1 and Acrylamide by bonding interactions with teichoic acids from *Lactobacillus* strains. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 1334-1341, 2015.

SHETTY, P.H.; JESPERSEN, L. *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. v. 17, p. 48-55, 2006.

SOUZA, Carine de Freitas et al. Adição do óleo de *Melaleuca alternifolia* na dieta de peixes minimiza efeitos tóxicos causados pelo consumo diário de aflatoxina. 2020. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

STOLLOFF, L. Aflatoxin M1 in perspective. **J. Food Prot.**, v. 43, p.226-230, 1980.

STOLOFF, L. Aflatoxins: an overview. In: PROCEEDINGS OF A CONFERENCE ON MYCOTOXINS IN HUMAN AND ANIMAL HEALTH. Pathotox Publishers Inc., **Park Forest South, Illinois**, p. 7-28, 1977.

STREIT, E., K. Naehrer, I. Rodrigues, and G. Schatzmayr. 2013. Mycotoxin occurrence in feed and feed raw materials worldwide: Longterm analysis with special focus on Europe and Asia. **J. Sci. Food Agric.** 93:2892-2899.

TAPIA-SALAZAR, M. et al. Uso de secuestrantes para disminuir la toxicidad de micotoxinas en alimentos para acuicultura. X Avances en Nutrición Acuicola. In: **SIMPOSIO INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA**, San Nicolás de los Garza, México. p. 514-546. 2010.

TOLEDO, Eduardo Amaral de. Quantificação de micotoxinas e análise bromatológica de silagens de milho na microrregião geográfica apucarana, no norte do paraná. 2018.

UPADHAYA, S. D., M. A. PARK, ad J. K. Ha. 2010 mycotoxins and their biotransformation in the rumen: A review. **J. Anim. Sci.** 23: 1250 – 1260.

VARGA, J.; KOCINFÉ, S.; PÉTERI, Z.; VÁGVÖLGYI, C.; TÓTH, B. Chemical, physical and biological approaches to prevent ochratoxin induced toxicoses in humans and animals. **Toxins**, v. 2, n. 7, p. 1718–1750, 2010.

VIDAL, Vanessa Duarte. Determinação de AFM1 no leite materno: avaliação da exposição de lactentes em Angola. 2020. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra.

WHITLOW, L.W.; HAGLER, W.M. Mycotoxins in feeds. **Feedstuffs**, v.76, n.38, p.66- 76, 2004.

WILSON, D. M. et al. Biology and ecology of mycotoxigenic aspergillus species as related to economic and health concerns. In: DE VRIES, J. W.; TRUCKESESS, M. W.; JACKSON, L. S. (Eds.). mycotoxins and food safety. Dordrecht: **Kluwer Academic Plenum Publications**, 2002. P. 3 – 17.

XIONG, J. L., Y. M. Wang, T. D. Nennich, Y. Li, and J. X. Liu. 2015. Transfer of dietary aflatoxin B1 to milk aflatoxin M1 and effect of inclusion of adsorbent in the diet of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 98:2545–2554.

YIANNIKOURIS, A. ; JOUANY, J-P. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur deve nir et leurs effets chez l'animal. **INRA Production Animal**, v.15, n.1, p.3-16, 2002.

ZHANG, YH.; XU, D.; LIU, Jia-Qi.; ZHAO, Xin-Huai. Enhanced degradation of five organophosphorus pesticides in skimmed milk by lactic acid bacteria and its potential relationship with phosphatase production. **Food Chemistry**, v.164, n.1, p.173-178, 2014.

CAPÍTULO II

Uso adsorventes biológicos de micotoxinas em dietas de vacas leiteiras em lactação

Beatriz Aparecida Dias, ¹*, Euclides Reuter de Oliveira ¹ e Jefferson R. Gandra²

¹Universidade Federal da Grande Dourados- Faculdade de Ciências Agrárias/UFGDFAC, Laboratório de Aquicultura, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Unidade II, 79.804-970 Dourados MS, Brasil. EuclidesOliveira@ufgd.edu.br

²Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará/UNIFESSPA – Instituto de Desenvolvimento Agrário e Regional Quadra Sete (Fl.31), Nova Marabá, 68.5075-90 - Marabá, PA, Brasil. jeffersongandra@unifesspa.edu.br (J.R.G)

*Autor correspondente: beatrizapdiass@gmail.com

Resumo

Objetivou-se avaliar o uso de adsorvente de probiótico, com capacidade de reduzir a concentração de AFB1 e AFM1 e o efeito sobre consumo de matéria seca após ingestão de alimentos contaminados experimentalmente. Foram utilizadas 05 vacas primíparas da raça Jersey, divididos em 5 tratamentos: 1- CONTROLE (sem micotoxinas e sem adsorvente); 2- MICOTOXINA (adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado e sem adsorvente); 3- ADSORVENTE (adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado + 2 kg de adsorvente ADS/tonelada de concentrado) 4- ANT1 (adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado + 1 kg de ANT. /tonelada de concentrado), 5- ANT3 (adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado + 3 kg de ANT. /tonelada de concentrado). Foram realizadas análises das amostras de alimentos da dieta, produção e composição do leite. Análise de viabilidade econômica para uso do adsorvente de probiótico. A inclusão de adsorvente em dietas contaminadas com AFB1 melhorou a produção de leite e foi eficaz na absorção AFB1 no trato gastrointestinal de vacas, reduzindo assim a excreção de AFM1 no leite, no tratamento MIC houve maior concertação de AFM1 (0,37) e com administração ANT3 a concentração foi menor (0,099). Os resultados sugerem um efeito positivo do uso ANTIMICOX MR, foi possível reduzir a ação toxica da micotoxina.

Palavras-chave: Aflatoxina, Leite, Ruminantes e Toxicidade.

1. INTRODUÇÃO

A alimentação é parte integrante da cadeia alimentar e desempenha um papel importante no crescimento, bem-estar e produtividade de uma fazenda, bem como na composição, segurança e qualidade dos produtos de origem animal (leite, carne e ovos) e no abastecimento de alimentos na rede comercial (GUERRE, 2016; MAKKAR, 2016).

A atividade leiteira é uma fonte de renda para o pequeno e o grande produtor brasileiro, os produtores rurais deparam-se com desafio cada vez maior para atender à crescente necessidade de alimentos de qualidade. A contaminação por micotoxinas é um risco potencial para o desempenho animal, saúde e a segurança dos alimentos de origem animal.

As Micotoxinas são metabolitos secundários tóxicos, de baixo peso molecular e não antigênicos (QUIN et al., 2005), produzidos por algumas espécies de fungos, sobretudo dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. Estes fungos estão associados a produção de aflatoxinas, ocratoxinas, esterigmatocistina, patulina, rubratoxina B, ácido penicílico, citrina, zearalenona e tricotecenos, sendo estas micotoxinas comprovadamente tóxicas em alimentos (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

Dentre elas, a aflatoxina B1 (AFB1) é a mais tóxica, sendo hepatotóxica, teratogênica, genotóxica e classificada como carcinógeno humano (grupo 1) pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC, 1993; JACKSON E GROOPMAN, 1999; WANG et al., 2001; IARC, 2002). Os efeitos das micotoxinas nos animais dependem da quantidade consumida, tempo de exposição, e interação entre diferentes toxinas (UPADHAYA et al., 2010). Diante disto, uma das alternativas é uso adsorventes para micotoxinas em rações como aditivos. Os agentes adsorventes podem ser classificados em diferentes grupos com base em sua origem: não biológicos (por exemplo, aluminossilicatos, carvão ativado, bentonitas, montmorillonitas, zeólitas, entre outros) e biológicos (por exemplo, leveduras, fungos filamentosos, bactérias, algas, enzimas microbianas, entre outros) (VARGA et al., 2010; HOJNIK et al., 2017; RODRIGUES, 2019). Estes micro-organismos quando adicionados aos alimentos contaminados são capazes de adsorver micotoxinas, propiciando a redução da quantidade destes agentes tóxicos (PIZZOLITTO et al., 2012; RAHAIE et al., 2012; RODRIGUES, 2019).

Nesse sentido esse trabalho objetivou avaliar o efeito do uso de um adsorvente biológico, sobre desempenho produtivo, composição do leite, excreção de aflatoxina M1 no leite, função hepática, renal e a viabilidade econômica do adsorvente em vacas leiteiras recebendo dietas experimentalmente contaminadas com aflatoxina B1.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi conduzido nos meses de abril a junho de 2019, no setor de Nutrição de Ruminantes e Forragens Conservadas pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados, Unidade II.

2.1. Animais e tratamento experimentais

Foram utilizadas 05 vacas primíparas da raça Jersey, DEL = 105 dias, produção de leite = $15.0 \pm 4,25$ kg/dia, peso médio das vacas = 410 ± 36.50 kg. Os animais foram distribuídos num delineamento em quadrado latino, sendo 5 tratamentos e 5 períodos. As vacas foram alojadas em baias individuais de (21 m²), que continham bebedouros e comedouros. As dietas foram fornecidas duas vezes ao dia (7:00h e 14:00h).

O período experimental total foi de 95 dias em períodos compostos de 12 dias de adaptação, 4 de colheita de dados e 5 dias de wash out.

Os tratamentos foram: 1- CONTROLE (CON, sem micotoxina e sem adsorvente); 2- MICOTOXINA (MIC, adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado e sem adsorvente); 3- ADSORVENTE (ADS, adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado + 2 kg de adsorvente ADS/tonelada de concentrado) 4- ANTIMICOX MR 1 (ANT1, adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado + 1 kg de ANTIMICOX MR /tonelada de concentrado), 5- ANTIMICOX MR 3 (ANT3, adição de 200 µg de aflatoxina/kg de concentrado + 3 kg de ANTIMICOX MR /tonelada de concentrado).

As dietas foram balanceadas de acordo com o NRC 2001 (Tabela 1). Os volumosos utilizado foram a silagem de milho e feno de tifton.

Tabela 1- Composição centesimal e nutricional da dieta experimental.

Ingredientes (g/kg)	
Silagem de milho	500,00
Feno de <i>cynodon</i>	50,00
Milho fubá	260,00
Farelo de soja	160,00
Núcleo mineral ¹	30,00
Composição química (g/kg)	
Matéria seca	618,70
Matéria orgânica	952,80
Proteína bruta	161,70
Extrato etéreo	20,45
Amido	320,60
Fibra em detergente neutro	338,40
Fibra de detergente neutra (Fe) ²	263,95
Fibra em detergente ácido	237,00
Lignina	43,20
Carboidrato não fibroso	432,25
Nutriente digestíveis totais ³	636,64
EL _L (Mcal/kg MS) ³	1,44

¹Núcleo mineral (Ca 110 g/kg; P 42 g/kg; S 18 g/kg; Mg 20 g/kg; Na 123 g/kg; Co 14 mg/kg; Cu 600 mg/kg; Cr 20 mg/kg; Fe 1050 mg/kg; I 28 mg/kg; Mn 2000 mg/kg; Se 18 mg/kg; Zn 2800 mg/kg; biotina 80 mg/kg; vitamina A 240000 UI/kg; vitamina D 100000 UI/kg; vitamina E 100000 UI/kg; monenisina 600 mg/kg).²Calculado de acordo com Mertens et al. 1999 ³Calculado de acordo com NRC, 2001.

Os adsorventes usados foram ANTIMICOX MR (Biomart Nutrição Animal), composto por Metionina 12,50 g/kg; Ferro 2.000,00 mg/kg; Cobalto 500,00 mg/kg; Silimarina 250,00 mg/kg; Selênio 50 mg/kg; Cromo 50 mg/kg; Vitamina E 5.000,00 UI; *Bacillus subtilis* $1,2 \times 10^{12}$ UFC/kg; *Bifidobacterium bifidum* $4,0 \times 10^{11}$ UFC/kg; *Enterococcus faecium* $4,0 \times 10^{11}$ UFC/kg; *Lactobacillus acidophilus* $4,0 \times 10^{11}$ UFC/kg; *Lactobacillus buchneri* $8,0 \times 10^{11}$ UFC/kg; *Lactobacillus casei* $4,0 \times 10^{11}$ UFC/kg; *Lactobacillus lactis* $4,0 \times 10^{11}$ UFC/kg; *Saccharomyces cerevisiae* $8,0 \times 10^{10}$ UFC/kg.). E o adsorvente da MASTERSORB GOLD (GRASP), um produto comercialmente disponível, composto por bentonita, parede celular de levedura, extrato de cardo-mariano, e silimarina (min) 500,0 mg/Kg.

2.2. Análises bromatológicas

As amostras de silagem, feno e ingredientes do concentrado e sobras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS; método 930,15), proteína bruta (PB;N x 6,25; método Kjeldahl 984,13), extrato etéreo (EE; método 920,39), conforme técnicas descritas por (AOAC, 2000) e fibra em detergente neutro (FDN, fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG), conforme técnica descrita por (VAN SOEST et al., 1991). O conteúdo de amido foi analisado por meio do método da degradação enzimática e absorvância medidos em espectrofotômetro, seguindo a metodologia de Hendrix (1993).

Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram estimados segundo Hall (1998) onde: $CNF = 100 - [(\%PB + \%EE + \%MM + \%FDN)]$. Os nutrientes digestíveis totais foram calculados conforme equações de Weiss et al. (1992), descritas no NRC (2001), em que: $NDT = CNFd + PBd + (AGd * 2,25) + FDNd - 7$, onde PBd, CNFd, FDNd e AGd representam o total destes nutrientes digestíveis. Os teores de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente neutro livre de cinza e proteína (FDNcp), e fibra detergente ácido (FDA) foram obtidos conforme método descrito por Van Soest et al. (1991), utilizando-se α -amilase e sem adição de sulfito de sódio na determinação do FDN, em Sistema Ankon®. O teor de energia líquida foi estimado através da equação estabelecida pelo NRC (2001), em que $EL (Mcal/kg) = 0,0245 * NDT (\%) - 0,12$.

2.3 Consumo de matéria seca

Diariamente foram feitas pesagens das quantidades dos volumosos e concentrados fornecidos e das sobras de cada animal, para estimativa do consumo. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, às 7h00 e às 14h00, de acordo com o consumo no dia anterior, de forma a ser mantido percentual de sobras das dietas entre 5 e 10% do fornecido, para que não houvesse limitação de consumo.

Às 6h00, os animais eram conduzidos para ordenha, as sobras retiradas e pesadas e ambos, concentrado e volumoso eram pesados, em duas porções, para serem fornecidas aos animais nos dois fornecimentos diários. No fornecimento, o concentrado e o volumoso eram homogêneos no cocho, e fornecidos na forma de dieta completa. Amostras das sobras de cada animal e ingredientes da dieta fornecida eram coletadas durante todo o período de avaliação de consumo, perfazendo amostra composta dos diferentes dias, que após coletada e eram armazenadas a -20° C.

2.4 Produção e composição do leite

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, às 6h00 e às 16h00 sendo a produção de leite (PL) registrada diariamente durante todo o período experimental e produção média considerada apenas dos últimos sete dias de cada período. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLC) segundo fórmula de Sklan et al. (1992), onde $PLC = (0,432 + 0,163 * G\%) * PL$.

As amostras utilizadas para análise da composição do leite foram obtidas no 13º, 14º e 15º dias de cada período experimental, na qual cada amostra proveniente das duas ordenha diárias, com amostragens proporcionais. Foram determinados os teores de gordura, proteína e lactose, através de espectrometria de infravermelho pelo equipamento LACTOSCAN®.

2.5 Parâmetros sanguíneos

As amostras de sangue foram obtidas no 15º dia de cada período experimental, antes do fornecimento das dietas no período da manhã, por meio de punção da veia/artéria coccígea, utilizando um sistema a vácuo para múltiplas colheitas. Foram obtidas amostras em tubos sem anticoagulante, que foram centrifugadas a 2000 g por 15 minutos, obtendo-se soro, que foi aliquoteado, armazenadas a -20 °C, para posterior dosagens de aspartato aminotransferase (AST), gama glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA). Também foram colhidas amostras em tubos contendo K3-EDTA, para a obtenção do hemograma.

As análises bioquímicas foram realizadas em analisador automático (SBA-200, CELM), utilizando-se kits reagentes (Bioclin/Quibasa®), conforme recomendações do fabricante. Os parâmetros hematológicos (contagem de hemácias, concentração de hemoglobina, volume globular, contagem global de leucócitos, granulócitos, linfócitos, monócitos e plaquetas) foram determinados em aparelho hematológico automático (Mindray, BC-2800 Vet).

2.6 Análises de micotoxinas nos alimentos

Visando um monitoramento do status de micotoxinas da dieta como um todo foram realizadas análises de micotoxinas (aflatoxina, fumonisina e zearelonona) na silagem de milho, no feno de tifton e no concentrado utilizado no balanceamento da dieta (Tabela 2). Amostras dos volumosos e concentrado foram colhidas ao longo do período experimental a fim de quantificar a concentração de contaminação natural de micotoxinas presente na dieta dos animais.

As análises foram realizadas pelos métodos HPLC (High Performance Liquid Chromatography) usando um equipamento Agilent série 1100 segundo metodologia AOAC, (1998) e LC-MS/MS (Liquid Chromatography – Mass Spectrometry) usando o equipamento API 5000TM. Todos os valores foram expressos em $\mu\text{g}/\text{kgMS}$.

2.7 Excreção de aflatoxina M1 no leite.

No dia 16º dia de cada período experimental 500 ml de amostra de leite para mensuração da concentração de aflatoxina M1 (AFM1) no leite.

A determinação de AFM1 nas amostras de leite foi efetuada mediante a utilização dos procedimentos preconizados por (TUINSTRA et al., 1993), com adaptações propostas pela empresa fabricante de colunas de imunoafinidade (Aflatest, Vicam) e determinado através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplado a um espectrômetro de massa triplo quadrupolo (Waters Corporation, Milford, MA, EUA) equipado com sistema de bomba binária e um injetor automático com interface com o espectrômetro de massa Xevo TQ-S equipado com uma fonte de ionização por electrospray Z-ortogonal (Waters Corporation, Milford, MA, EUA). A amostra analítica (25 mL) foi previamente aquecida a 37°C e submetida à centrifugação (1.250 x g) durante 15 min., imediatamente filtrada (filtro de microfibras 1,5 μm , Millipore) e o sobrenadante passado através da coluna de imunoafinidade para a retirada de impurezas contidas no mesmo. A coluna de imunoafinidade foi adaptada a uma seringa e

acoplada a um manifold, que por sua vez estava conectado a uma bomba de vácuo (Modelo 131 tipo 2v, Primatec- Itu, SP, Brasil).

Primeiramente passou-se pela coluna 20 mL do sobrenadante a ser analisado, a um fluxo de 2-3 mL/ min. Em seguida, lavou-se a coluna através da passagem de 20 mL de uma solução de água deionizada- metanol (9:1) e eluiu-se a toxina (AFM1) passando 1 mL de metanol (grau CLAE). O eluato foi recolhido em frasco âmbar e diluído com água ultra- purificada até formar uma solução metanol-água (7:3), semelhante a fase móvel utilizada na corrida cromatográfica.

O padrão de AFM1 (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, USA) foi dissolvido em solução de benzeno-acetonitrila (9+1), logo, foi calibrado espectrofotometricamente ($\lambda = 350$ nm) através da técnica preconizada por Scott (1990), obtendo-se a concentração exata de AFM1. Após a calibração foram transferidos 200 μ L do padrão para um frasco, evaporou-se até a secura sob fluxo de nitrogênio e ressuspendeu- se em volume conveniente de metanol grau CLAE, de maneira a obter uma solução de trabalho contendo 0,1 μ g AFM1/mL. Esta solução foi utilizada no preparo dos padrões da curva de calibração (concentrações de 0,5 ng/mL, 1,0 ng/mL, 5,0 ng/mL e 10 ng/mL).

Para a separação cromatográfica foi utilizada coluna fenil-hexil 2,0 x 150 mm, 3 μ m termostatizada a 50°C. A composição da fase móvel foi: (A) 0,1% de ácido fórmico em água (v/v) e (B) 0,1% ácido fórmico em acetonitrila (v/v). A composição inicial da fase móvel foi 30% de solvente B sendo mantida por 10 min, logo, alterada para 95% de B e mantida por 1,5 min, retornando então para 30% de B por 4 min. O analito foi detectado no modo MRM, sendo a transição observada em: m/z 329 --- 273 (M1). O limite de quantificação utilizado foi 0,5 μ g.kg⁻¹.

2.8 Viabilidade econômica do uso de adsorvente

Os dados econômicos e financeiros foram obtidos após o processamento das informações extraídas do experimento. Os valores em R\$/ton dos ingredientes da dieta foram estabelecidos de acordo com os dados obtidos pelo CEPEA-USP. O custo do litro de leite foi estabelecido de acordo com os valores praticados na “Média Brasil” entre os meses de abril a junho de 2019 via CEPEA-USP.

Os valores para as bases de cálculos apresentados (R\$/ton de matéria seca) foram: silagem de milho (R\$ 400,00), feno (R\$ 640,00); milho (R\$ 500,00); farelo de soja (R\$

1700,00) e núcleo mineral (R\$2100,00). Os cálculos de custos e receitas brutas foram calculadas de acordo com a teoria econômica básica.

2.9 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados analisados pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + Q_k + D_l + e_{ijkl}$$

onde: Y_{ijkl} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito de animal ($j = 1$ a 5), P_j = efeito do período ($y = 1$ a 5), Q_k = efeito do quadrado ($k = 1$ to 2), S_l = efeito de dieta ($l = 1$ a 5), e e_{ijklm} = erro. O efeito aleatório do modelo (random) caracterizou-se por: A_i e P_j . Os graus de liberdade foram corrigidos por $DDFM = kr$. Com os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0, adotando-se nível de significância de 5%, sendo avaliados por teste de TUKEY ajustado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição de ingredientes da dieta experimental é mostrada na (Tabela 1). Composição de nutrientes analisados da dieta experimental é mostrado na (Tabela 2). O efeito de transferência foi testado e presente estudo mostrou uma variável de interesse ($P < 0,01$), é mostrada na (Tabela)3. O consumo de matéria seca, produção e composição de leite é mostrada na (Tabela 4).

3.1 Concentrações de micotoxinas na dieta

As dietas fornecidas a vacas em lactação estavam naturalmente contaminadas pelas micotoxinas. Pode-se observar que há a presença aflatoxina B1, fumonisina e zealeronona na silagem de milho e no concentrado, não foi observado presença destas micotoxinas no feno de tifton (Tabela 2). A legislação brasileira, através da Portaria nº. 07, de 9 de novembro de 1988 (BRASIL, 1988), estabelece como limite máximo 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxinas para alimentos de consumo animal, matérias primas e rações. Existe grande variação de quantidades de aflatoxinas dentre as amostras analisadas, sendo a menor quantidade encontrada a de 239,30 e maior de 258,53 ($P < 0,05$).

As micotoxinas estão presentes em uma variedade de alimentos para animais, incluindo concentrados, forragens, fenos e silagens (BIOMIN, 2016; OGUNADE et al., 2018). As culturas de milho têm um maior teor de proteína e sacarídeos que podem ajudar no crescimento e sobrevivência de fungos e outros patógenos (ZACHARIASOVA et al., 2014).

Tabela 2 - Contaminação inicial dos ingredientes, presente na dieta de acordo com os tratamentos experimentais.

Item	Tratamentos experimentais ¹					EPM ²	P*
	CON	MIC	ADS2	ANT1	ANT3		
<i>Consumo de aflatoxina (µg/kgMS)</i>							
Silagem de milho	42.91	43.89	44.95	41.53	42.99	0.598	0.588
Feno tifton	0	0	0	0	0	-	-
Concentrado	204.40	208.54	213.57	197.76	204.27	2.782	0.599
Total	247.31	252.43	258.53	239.30	247.27	3.387	0.601
<i>Consumo de fumonisina (µg/kgMS)</i>							
Silagem de milho	4986.90	5100.78	5224.03	4826.75	4996.21	69.576	0.588
Feno tifton	1.30	1.33	1.36	1.26	1.30	0.017	0.596
Concentrado	26943	27489	28153	26069	26927	367	0.599
Total	31932	32591	33378	30897	31924	437	0.601
<i>Consumo de zealeronona (µg/kgMS)</i>							
Silagem de milho	4162.90	4257.96	4360.85	4029.22	4170.68	58.080	0.588
Feno tifton	278.47	284.26	291.12	269.62	278.58	3.780	0.596
Concentrado	147.72	150.71	154.35	142.93	147.63	2.015	0.599
Total	4589.10	4692.94	4806.32	4441.77	4596.89	63.873	0.601

1CON (dieta sem adição de micotoxina ou adsorvente), MIC (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS), ADS (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS + adsorvente a base de bentonita 2 kg/ton de concentrado), ANT1 (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS + ANT1 kg/ton de concentrado), ANT3 (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS + ANT3 kg/ton de concentrado), EPM² (erro padrão da média). P < 0,05 pelo teste Tukey.

3.2 Concentração, excreção e transferência de AFM1

Na contaminação natural e exógena de AFB₁ (Tabela 3), não houve efeito significativo (P > 0,05) em relação ao consumo de AFB₁. No entanto houve transferência de

toxina, nos tratamentos com adsorventes com efeito significativo ($P < 0,01$) nos níveis baixos de AFM₁. s. A ingestão de micotóxina de forma crônica pelos rebanhos induz a perda de peso, aumento de casos de distúrbios reprodutivos e doenças em resposta a baixa imunidade (D'MELLO et al., 1999; LINDEMANN et al., 1993; VEDOVATTO et al., 2020; AGUIAR, 2021).

Tabela 3 - Consumo de aflatoxina por contaminação natural, exógena, excreção de AFM₁ no leite e taxa de transferência de acordo com os tratamentos experimentais.

Item	Tratamentos experimentais ¹					EPM ²	P*
	CON	MIC	ADS2	ANT1	ANT3		
<i>Consumo de aflatoxina (µg/kg MS)</i>							
Silagem de milho	42,91	43,89	44,95	41,53	42,99	0,598	0,588
Feno tifton	0	0	0	0	0	-	-
Concentrado	204,40	208,54	213,57	197,76	204,27	2,782	0,599
Exógena	0 ^b	3918,55 ^a	4013,20 ^a	3712,54 ^a	3838,46 ^a	6,765	<,0001
Total	247,31 ^b	4170,98 ^a	4271,73 ^a	3951,84 ^a	4085,72 ^a	6,967	<,0001
<i>Excreção de AFM₁</i>							
Leite (µg/kg)	0,056 ^c	0,86 ^a	0,60 ^{ab}	0,50 ^b	0,24 ^c	0,063	<,0001
Leite (µg/dia)	0,99 ^d	15,57 ^a	10,47 ^b	8,02 ^{bc}	3,97 ^{cd}	1,148	<,0001
Taxa de transferência (%) ³	0,40 ^a	0,37 ^a	0,25 ^{ab}	0,20 ^b	0,099 ^c	0,026	<,0001

¹CON (dieta sem adição de micotóxina ou adsorvente), MIC (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS), ADS (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS + adsorvente a base de bentonita 2 kg/ton de concentrado), ANT1 (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS + ANT1 kg/ton de concentrado), ANT3 (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS + ANT3 kg/ton de concentrado), EPM² (erro padrão da média). P < 0,05 pelo teste Tukey, Proporção Erro amostral (%).

A ingestão de AFB₁ acima dos 200 µg/kg já era esperada e mostrou-se suficiente mais induzir um aumento das concentrações de AFM₁ no leite. A excreção reduzida pode ser

devido à adsorção de toxinas, o que pode ter diminuído sua absorção pelas vilosidades intestinais (MAKI et al., 2017). Como adsorventes a base de probiótico tem o potencial de aderir compostos como as aflatoxinas em sua superfície, impedindo que as mesmas sejam absorvidas pelo epitélio do trato gastrointestinal, menos AFB₁ é metabolizada e convertida a AFM₁, justificando a redução (P <0,01; Tabela 3) das concentrações de AFM₁ no leite das vacas, quando estas foram alimentadas com dietas contendo adsorventes. Resultado semelhante foi relatado por Diaz et al. (2004), onde os autores observaram uma redução de 50 a 65% de resíduos de AFM₁ no leite de vacas alimentadas com 100 µg/kg aflatoxina sob ação de três produtos à base de bentonita de sódio.

Para a taxa de transferência de micotoxinas no leite, fica evidente que as vacas que receberam dietas COM e MIC (0,40 e 0,37), houve aumento significativo na excreção de AFM₁. A taxa de excreção de AFM₁ no leite de vacas leiteiras pode variar de 0,3 a 6,2 % da quantidade ingerida de AFB₁, dependendo do estágio da lactação e volume da produção de leite (VAN EIJKEREN et al., 2006). Uma vez presente no leite, AFM₁ é resistente ao tratamento térmico, como pasteurização ou esterilização (GALVANO et al., 1998). Por essa razão, o risco permanece não somente no leite disponível comercialmente, mas também nos seus produtos derivados.

As vacas que receberam a dieta ANT3 apresentaram uma taxa de transferência de toxinas (0,099) menor do que as observadas no leite das vacas que não receberam qualquer tipo de adsorvente. Isso confirma a eficácia do ANTIMICOX MR, em adsorver a aflatoxinas quando empregado na concentração de 3 kg/ton de concentrado (Tabela 3). Os mecanismos de adsorção compreendem a ligação por compostos orgânicos ou adsorção biológica.

3.3 Consumo de matéria seca, produção e composição do leite

Para os dados de consumo de matéria seca, produção, composição de leite e eficiência dos animais de acordo com os tratamentos experimentais (Tabela 4), houve efeito no uso do adsorvente (ADS2) na ingestão de matéria seca, entretanto não diferiram dos animais que receberam o tratamento CON E MIC.

Estudos mostram que os ruminantes têm maior tolerância a alimentação contaminada por micotoxinas. Acredita-se que esta característica esteja ligada a capacidade da microflora ruminal para degradar as micotoxinas, transformando as em substâncias

intermediárias menos potentes ou menos inativas (HUSSEIN E BRASEL, 2001; FINK-GREMMELS, 2008).

Tabela 4 - Consumo de matéria seca, produção e composição de leite de acordo com as dietas experimentais.

Item	Tratamentos experimentais ¹					EPM ²	P*
	CON	MIC	ADS2	ANT1	ANT3		
<i>Kg/dia</i>							
Consumo de matéria seca	17.45 ^{ab}	17.71 ^{ab}	18.08 ^a	16.68 ^c	17.15 ^b	0.296	0.033
Produção de leite corrigida	19.28 ^b	16.38 ^d	18.27 ^c	19.35 ^b	21.80 ^a	0.702	0.032
Gordura	0.741 ^b	0.605 ^c	0.659 ^c	0.732 ^b	0.905 ^a	0.034	0.029
Proteína	0.586	0.526	0.609	0.601	0.650	0.016	0.070
Lactose	0.868	0.787	0.911	0.900	0.973	0.025	0.212
<i>Porcentagem</i>							
Gordura	4.42 ^a	3.99 ^{ab}	3.76 ^b	4.27 ^a	4.86 ^a	0.147	0.410
Proteína	3.50	3.47	3.48	3.49	3.45	0.021	0.856
Lactose	5.18	5.20	5.21	5.22	5.17	0.031	0.832
<i>Mcal/dia</i>							
Energia corrigida	19.30	16.58	18.64	19.45	21.53	0.652	0.032
<i>Eficiência</i>							
PL/CMS ³	0.966 ^{ab}	0.859 ^b	0.965 ^{ab}	1.033 ^a	1.083 ^a	0.022	0.010
PLC/CMS ⁴	1.11 ^b	0.929 ^c	1.01 ^{bc}	1.17 ^b	1.32 ^a	0.040	0.009
ECM/CMS ⁵	1.11 ^b	0.940 ^c	1.03 ^{bc}	1.17 ^b	1.30 ^a	0.036	0.008

¹CON (dieta sem adição de micotoxina ou adsorvente), MIC (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS), ADS (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS + adsorvente a base de bentonita 2 kg/ton de concentrado), ANT1(adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS + ANT1 kg/ton de concentrado), ANT3 (adição de aflatoxina 200 µg/kg de MS + ANT3 kg/ton de concentrado).

P < 0,05 pelo teste Tukey.

²EPM (erro padrão da média).

³PL/CMS = Produção de leite (kg/dia) / consumo de matéria seca (kg/dia).

⁴PLC/CMS = Produção de leite corrigida para 3.5% de gordura (kg/dia) / consumo de matéria seca (kg/dia).

⁵ECM/CMS = Energia corrigida para 3.5% de gordura (kg/dia) / consumo de matéria seca (kg/dia).

A produção de leite foi menor (P < 0,05) no tratamento MIC do que no grupo ANT3 (16,38 e 21,80 kg/d, respectivamente). Além disso, tanto a produção de leite quanto sua

composição mudaram conforme os tratamentos usados no períodos experimentais. Em particular, a concentração de gordura no tratamento ANT3 apresentou ($0,905 P > 0,05$). No entanto, um estudo desafiando vacas leiteiras com dieta AFB1 mostrou redução na produção de leite (APPLEBAUM et al., 1983), concentração de proteína do leite e produção de gordura do leite (QUEIROZ et al., 2012).

Já Nocek et al., (2006) relatou um aumento de 6% ($P < 0,01$) na produção de leite de vacas da raça Holandesa quando utilizou probiótico a base de *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae*. Já Barbirolli et al., (2007) e Kutz et al., (2009) relataram que as concentrações de proteína e gordura do leite não foram afetadas quando vacas em lactação, receberam dietas contaminadas com AFB1.

Na (Tabela 4) observamos a eficiência da relação produção de leite (kg/dia) e consumo de matéria seca (kg/dia), os tratamentos que receberam ADS ($1,083 P < 0,05$). Além disso, tanto a produção de leite quanto sua composição mudaram entre os grupos experimentais. Em particular, a PL/CMS diminuiu ($0,859 P < 0,05$) no grupo que não receberam ADS. No estudo Sulzberger et al. (2017) relataram que $100 \mu\text{g/kg}$ de AFB1 não afetou a produção de leite, ingestão ou eficiência alimentar. Da mesma forma, Rodrigues et al. (2019) mostraram que a alimentação de $105,5 \mu\text{g/kg}$ de aflatoxinas (uma mistura de B1, B2, G1 e G2) não afetou o desempenho, a ingestão ou a eficiência do leite

3.4 Parâmetros sanguíneos

Quando as micotoxinas são absorvidas no gado, o primeiro compartimento biológico sistêmico onde a toxina pode ser quantificada é o sangue, que se torna um interessante marcador biológico de exposição à AFB1 em um organismo animal (GRENIER et al., 2013).

As medidas dos parâmetros sanguíneos (Tabela 5) indicaram que o volume de hemácias, hemoglobina tendeu a ser maior no tratamento MIC ($P < 0,05$). As mudanças nos parâmetros sanguíneos nos diferentes tratamentos foram geralmente modestas, embora algumas das diferenças fossem estatisticamente significativas.

Tabela 5 - Hemograma completo, função renal e hepática de acordo com os tratamentos experimentais.

Item	Tratamentos experimentais ¹					EPM ²	P*
	CON	MIC	ADS2	ANT1	ANT3		
<i>Hemograma</i>							
Hemácias (x10 ⁶ /μL)	6,64	7,18	6,93	6,93	6,95	0,288	0,568
Hemoglobina (g/dL)	10,64	11,68	10,96	10,96	10,84	0,360	0,541
Hematócrito (%)	30,40	34,00	33,20	34,00	31,00	0,589	0,554
VGM (fl)	46,62	46,90	47,10	46,52	45,96	0,345	0,412
CHGM (g/dL)	34,74	34,90	33,94	34,14	34,48	0,507	0,527
<i>Leucograma (valores absolutos)</i>							
Leucócitos (μL)	8640	9140	9020	8180	9200	34,672	0,145
Neutrófilos (μL)	3909	4301	4528	3542	4936	43,890	0,112
Linfócitos (μL)	3743 ^{ab}	4400 ^a	4170 ^a	3954 ^a	2813 ^b	36,257	0,042
Monócitos (μL)	133	189	143	162	195	27,347	0,214
Eosinófilos (μL)	288 ^b	488 ^a	284 ^b	177 ^c	167 ^c	54,892	0,002
Neut/Linf	1,21 ^b	1,44 ^b	1,67 ^{ab}	1,53 ^{ab}	2,91 ^a	0,324	0,024
Plaquetas (x10 ⁵ /μL)	3,78	4,76	4,43	4,98	4,18	0,321	0,451
Proteína plasmática (g/L)	7,92 ^{ab}	7,72 ^b	7,78 ^b	8,32 ^a	8,28 ^a	0,085	0,028
<i>Função renal</i>							
Ureia (mg/dL)	42,26	41,16	37,74	42,93	36,91	1,408	0,502
Creatinina (mg/dL)	0,82	0,78	0,84	0,96	0,82	0,030	0,457
Ureia/Creat	51,64 ^a	52,99 ^a	45,64 ^b	45,44 ^b	46,03 ^b	1,633	0,022
<i>Função hepática</i>							
Alanina aminotransferase (UI/ml)	27,58 ^b	28,64 ^a	25,06 ^c	25,02 ^c	24,14 ^c	0,958	0,003
Gama gutamil transferase (UI/ml)	29,78 ^b	30,66 ^a	26,46 ^c	28,04 ^b	28,60 ^b	0,996	0,034
Fosfatase alcalina (UI/ml)	39,56 ^b	40,60 ^a	37,76 ^{ab}	32,28 ^b	33,56 ^b	1,771	0,046

¹CON (dieta sem adição de micotoxina ou adsorvente), MIC (adição de aflatoxina 200 μg/kg de MS), ADS (adição de aflatoxina 200 μg/kg de MS + adsorvente a base de bentonita 2 kg/ton de concentrado), ANT1 (adição de aflatoxina 200 μg/kg de MS + ANT1 kg/ton de concentrado), ANT3 (adição de aflatoxina 200 μg/kg de MS + ANT3 kg/ton de concentrado); ALT, alanina aminotransferase; ²EPM (erro padrão da média); P <0,05 pelo teste Tukey..

Os níveis de AST e GGT, foram considerados dentro dos padrões fisiológicos de vacas em lactação. Os valores de referência da aspartato-aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT) de bovinos leiteiros da raça Jersey, são: AST, $(31,45 \pm 7,54 \text{U/l})$ e GGT, $(11,2 \pm 0,39$ a $28,5 \pm 11,3)$, (SOUZA, 1997; SOUZA et al., 2004). A GGT e AST são indicadores da funcionalidade e inflamação do fígado (WEEMHOFF et al., 2017). Estudos anteriores relataram que as vacas que não receberam um desafio AFB1 tiveram maior GGT em comparação com vacas recebendo um desafio de FAB1 (SULZBERGER et al., 2017).

Os resultados indicam que as proteínas não aumentaram devido à contaminação com AFB1, indicando assim que elas não provocaram uma resposta inflamatória aguda. Isso é compatível com uma atenuação da resposta imune sistêmica, também em caso de liberação de citocinas pró-inflamatórias, e é uma resposta conhecida em casos de insuficiência hepática por trauma (ORZHESHKOVSKIY et al., 2019; GALLO et al., 2020) ou desafios do sistema imune inato. Todos esses parâmetros foram maiores no tratamento com adsorventes, sugerindo um possível benefício da dieta.

Não foram observados efeito nos níveis de ureia, com média de $42,93 \pm 36,91 \text{mg/dL}$, e creatinina $0,96 \pm 0,82 \text{mg/dL}$, em relação aos parâmetros normais, segundo os valores de referência citados por Lopes et al., (2007), ureia (17,2 - 42,8 mg/dL), creatinina (1,2 - 1,9 mg/dL), Vacas alimentadas com rações contaminadas com micotoxinas apresentam metabólitos séricos significativamente elevados, incluindo ureia, proteína, aspartato aminotransferase, glutamato desidrogenase e gama glutamil transferase (CHAIYOTWITTAYAKUN et al., 2010).

3.5 Avaliação econômica

A análise econômica relacionadas com o uso de adsorvente de micotoxinas nas dietas de vacas em lactação são apresentados na (Tabela 6). Os custos por Kg de MS e consumo dos animais foi muito semelhantes na dietas com e sem adsorvente, enquanto maior ganho de peso diário nos animais do grupo tratado com ANT3 apresentaram maior custo alimentar, porém apresentaram maior produção de leite e conseqüentemente maior renda bruta do leite, juntamente com maior margem bruta de 16,29, em relação aos outros tratamentos avaliados (Tabela 6).

A economia está diretamente relacionada ao custo da dieta que é fornecida, os investimentos elevados e a maior produtividade dos rebanhos, quando se analisa o custo final da dieta por litro, pois o custo por litro é menor, quando as vacas mais produtivas, mostram-se mais rentáveis (COSTA et al., 2011). O preço do leite pago ao produtor está em baixa e o custo de produção em alta, as margens de lucro dos sistemas de produção de leite ficam muito reduzidas. Em sistemas de produção intensiva, a alimentação costuma representar até 70% dos custos efetivos (não totais), mas, em propriedades menos tecnificadas, esses insumos respondem por menos de 50% dos custos.

Tabela 6 - Análise econômica alimentar de acordo com os tratamentos experimentais.

Item	Tratamentos experimentais ¹				
	CON	MIC	ADS2	ANT1	ANT3
<i>Custo alimentar (R\$)</i>					
Silagem de milho	2,94	3,00	3,08	2,84	2,94
Feno tifton	0,59	0,60	0,62	0,57	0,59
Concentrado	10,87	11,09	11,36	10,52	10,86
Adsorvente	0	0	0,14	0,45	0,93
Total	14,39	14,69	15,18	14,38	15,32
<i>Renda bruta (R\$)</i>					
Leite	27,96	23,75	26,49	28,06	31,61
<i>Margem bruta (R\$)</i>					
	13,56	9,06	11,31	13,68	16,29

¹CON (dieta sem adição de micotoxina ou adsorvente), MIC (aflatoxina 200 µg/kg de MS), ADS (aflatoxina 200 µg/kg de MS + adsorvente a base de bentonita 2 kg/ton de concentrado), ANT1(aflatoxina 200 µg/kg de MS + ANT1 kg/ton de concentrado), ANT3 (aflatoxina 200 µg/kg de MS + ANT3 kg/ton de concentrado), ²EPM (erro padrão da média), P <0,05 pelo teste Tukey.

Desse modo, fica evidente que maiores investimentos na produção propiciam melhores resultados, com custos fixos diluídos (CEPEA, 2007). A média de produção de uma vaca é de 15 litros/vaca/dia e o preço do leite R\$ 1,20/litro, a receita mensal será de R\$ 54.000,00. Nesse cenário o custo de alimentação das vacas em lactação será de R\$ 41.010,00 (PEDROSO et al., 2020). Os resultados encontrados no presente trabalho confirmam que o uso de adsorvente de micotoxinas se mostrou economicamente e biologicamente viável para vacas em lactação.

4. Conclusão

As micotoxinas afetam o desempenho das vacas em lactação e a inclusão de ADS na dieta permitiu a recuperação parcial do desempenho quando os animais foram alimentados com dietas contaminadas. Além de diminuir a excreção AFM1 no leite e a manutenção do status imunológico dos animais.

Financiamento: Este projeto não obteve financiamento.

Conflito de Interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse.

5. Referências

1. AGUIAR, Maria Helena Souza de et al. Zearalenona (ZEA) e seus efeitos na reprodução de bovinos. **2021**. TCC (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina. Campus Curitibanos. Medicina Veterinária.
2. APPLEBAUM, R.S., MARTH, E.H. Responses of dairy cows to dietary aflatoxin: concentration of blood serum constituents and hormones associated with liver-kidney dysfunction and maintenance of lactation. *Europ. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 18:381-386, **1983**.
3. BARBIROLI, A. et al. Binding of aflatoxin M1 to different protein fractions in bovine and caprine milk. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 90. P. 532-540. **2007**.
4. BIOMIN. 2016. Mycotoxin Survey 2016 Third quarter (July to Sept 2016). Accessed Abr. 13, 2020. <https://nutricionanimal.info/wp-content/uploads/2016/11/Mycotoxin-Survey-Presentation-Q3-2016-1.pdf>.
5. BRASIL. Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria no 07 de 09 de novembro de 1988. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 14 de novembro de **1988**. Seção 1.
6. CARMELOSSO, Camila da Rosa. Efeito Do Uso De Adsorventes De Micotoxinas Na Dieta De Vacas Leiteiras Em Propriedades Familiares Do Alto Jacui – Rs. **2015**. Dissertação de Mestrado.

7. CEPEA - ESALQ/USP. Receita compensa gasto extra com dieta para rebanhos mais produtivos. Boletim Técnico, dez. **2007**. Disponível em: www.cepea.esalq.usp.br/leite/boletim/162/insumos.pdf.
8. CHAIYOTWITTAYAKUN, A. et al. Mycotoxins and health in dairy cattle. In: Globalization of tropical animal diseases and public health concerns. Proceedings of the 13th Association of Institutions for Tropical Veterinary Medicine (AITVM) Conference, Bangkok, Thailand, 23-26 August **2010**. Association of Institutions for Tropical Veterinary Medicine (AITVM), 2010. p. 221-223.
9. COMMISSION REGULATION (EU) n° 165/2010 amending Regulation (EC) n° 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. Official Journal of the European Union, L 50/8, 27 of february **2010**.
10. COSTA, Lucas Teixeira et al. Análise econômica da adição de níveis crescentes de concentrado em dietas para vacas leiteiras mestiças alimentadas com cana-de-açúcar. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 40, n. 5, p. 1155-1162, **2011**.
11. D’MELLO, J. P. F. et al. Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. Animal Feed Science and Technology, v. 80, n.3, p. 183-205, **1999**.
12. DAOU, Rouaa et al. Occurrence of aflatoxin M1 in raw, pasteurized, UHT cows’ milk, and dairy products in Lebanon. Food Control, v. 111, p. 107055, **2020**.
13. DIAZ D.E. et. al., Aflatoxin binders II: reduction of Aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. Mycopathologia, n.157, p.233-241, **2004**.
14. DO PRADO, Josué Olivo Oliveira. Níveis De Aflatoxina M1 No Leite Produzido E Comercializado No Corede Alto Jacuí. **2015**. Dissertação de Mestrado.
15. DUARTE, S.C. et al. Ochratoxin A in feed of food-producing animals: an undesirable mycotoxin with health and performance effects. Veterinary Microbiology, v. 154, p. 1-13, **2011**.
16. ELLIOTT, Christopher T.; CONNOLLY, Lisa; KOLAWOLE, Oluwatobi. Potential adverse effects on animal health and performance caused by the addition of mineral adsorbents to feeds to reduce mycotoxin exposure. Mycotoxin Research, v. 36, n. 1, p. 115-126, **2020**.

17. EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Anuário leite 2019: novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais. 2 ed. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa, **2019**. 104 p.
18. ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. D. Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. Caxias do Sul: Editora da Universidade de Caxias do Sul. **2004**. 510 p.
19. FERNANDEZ A, HERNANDEZ M, VERDE MT, SANZ M. Effect of aflatoxin on performance, hematology, and clinical immunology in lambs. *Can J Vet Res* 64: 53-58, **2000**.
20. FINK-GREMMELS, J. The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. *Vet. J.* 176:84–92, **2008**.
21. GALLO, A. et al. A mycotoxin-deactivating feed additive counteracts the adverse effects of regular levels of *Fusarium* mycotoxins in dairy cows. *Journal of dairy science*, v. 103, n. 12, p. 11314-11331, **2020**.
22. GALVANO, F. et al. Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy. *J. Food Prot.*, v. 61, p.738-741, **1998**.
23. GALVANO, F.; et al. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. In: *Journal of Food Protection*, Milwaukee, v. 64, n. 1, p.120-131, **2001**.
24. GARVICAN, L.; CAJONE, F.; RESS, K. R. the mechanism of action of aflatoxin B1 on protein synthesis: observations on malignant, viral transformed and cells in culture. *Chemico-Biological Interactions*, Shannon, v. 7, p. 29-50, 1973.
25. GRENIER, B.; Applegate, T.J. Modulation of intestinal functions following mycotoxin ingestion: Meta-analysis of published ex-periments in animals. *Toxins* **2013**, 5, 396–430.
26. GUERRE P. (2016) Worldwide mycotoxins exposure in pig and poultry feed formulations. *Toxins* 8:350. <https://doi.org/10.3390/toxins8120350>.
27. HOJNIK, N.; CVELBAR, U.; TAVČAR-KALCHER, G.; WALSH, J. L.; KRIŽAJ, I. Mycotoxin decontamination of food: cold atmospheric pressure plasma versus “classic” decontamination. *Toxins*, v. 9, n. 5, **2017**.
28. HUSSEIN, H. S., and J. M. BRASEL. **2001**. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* 167:101–134.

29. IARC - International Agency for Research on Cancer. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon: IARC, **1993**.
30. IARC - International Agency for Research on Cancer. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon: IARC Press, v. 82, p. 171–274, **2002**.
31. JACKSON P.E.; GROOPMAN J.D. Aflatoxin and liver cancer. *Baillière's Clin Gastroenterol*, n. 13, p. 545–55, **1999**.
32. KELLER, L., L. Abrunhosa, K. Keller, C. A. Rosa, L. Cavaglieri, and A. Venâncio. **2015**. Zearalenone and its derivatives, α -zearalenol and β -zearalenol, decontamination by *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from bovine forage. *Toxins (Basel)* 7:3297–3308.
33. KUILMAN, ME, MAAS, RF AND FINK-GREMMELS, J. **2000**. Cytochrome P450-mediated metabolism and cytotoxicity of aflatoxin B (1) in bovine hepatocytes. *Toxicology In Vitro*, 14: 321–327.
34. KUTZ, R. E., J. D. Sampson, L. B. Pompeu, D. R. Ledoux, J. N. Spain, M. Vazquez-Anon, and G. E. Rottinghaus. **2009**. Efficacy of Solis, NovasilPlus, and MTB-100 to reduce aflatoxin M1 levels in milk of early to mid-lactation dairy cows fed aflatoxin B1. *J. Dairy Sci.* 92:3959–3963.
35. LINDEMANN, M. D. et al. Potential ameliorators of aflatoxicosis in weanling growing swine. *J. Anim. Sci.* 71, 171–178. **1993**.
36. LOPES S. T. A, BIONDO A. W., Santos A. P. *Manual de Patologia Clínica Veterinária. 2007 UFSC - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA CCR M.; QUEIROGA, R. C. R. E. Carne caprina e ovinan.* 3, p. 497-506, **2008**.
37. LYNCH, G. P. et al. Responses of dairy calves to aflatoxin-contaminated feed. *Journal of Dairy Science.* Champaign, v. 53, p. 63-71, **1970**.
38. MAKI, C.R. S. Haney, M. Wang, S.H. Ward, B.J. Rude, R.H. Bailey, R.B. Harvey, T.D. Phillips Calcium montmorillonite clay for the reduction of aflatoxin residues in milk and dairy products *Dairy Vet. Sci. J.*, 2, pp. 1-11, **2017**.

39. MAKKARH (2016) Animal nutrition in a 360-degree view and a framework for future R&D work: towards sustainable livestock production. *Anim Prod Sci* 56:1561–1568.
40. MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria MA/SNAD/SFA nº 07, de 09 de novembro de 1988. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 de nov. 1988. Seção 1, p. 21.968.
41. MOSCHINI, M., A. GALLO, G. PIVA, AND F. MASOERO. 2008. The effects of rumen fluid on the in vitro aflatoxin binding capacity of different sequestering agents and in vivo release of the sequestered toxin. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147:292–309.
42. NOCEK, J. E.; KAUTZ, W. P. Direct-fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of pre-and postpartum dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 89, n. 1, p. 260-266, 2006.
43. OGUNADE, I. M. et al. Silage review: Mycotoxins in silage: Occurrence, effects, prevention, and mitigation. *Journal of dairy science*, v. 101, n. 5, p. 4034-4059, 2018.
44. ORZHESKOVSKYI, V. V., and M. A. Trishchynska. 2019. Ceruloplasmin: Its role in the physiological and pathological processes. *Neurophysiology* 51:141–149.
45. PEDROSO, A. M.; COSTA, M. T. Produzir Leite pode ser uma atividade lucrativa no atual cenário?. *Notícias Agrícolas. Nutron/Cargill*. Acesso em 01 dez. 2020. Disponível em: < <https://www.noticiasagricolas.com.br/artigos/artigos-geral/262982-produzir-leite-pode-ser-uma-atividade-lucrativa-no-atual-cenario.html#.X826l9hKhPY>>
46. 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.
47. PIZZOLITTO, R.P., Armando, M.R., Combina, M., Cavaglieri, L.R., Dalcero, A.M., Salvano, M.A., 2012. Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* strains as probiotic agent with aflatoxin B1 adsorption ability for use in poultry feedstuffs. *J. Environ. Sci. Heal. B.* 47, 933–941.
48. QUEIROZ, O. C. M. et al. Effect of adding a mycotoxin-sequestering agent on milk aflatoxin M1 concentration and the performance and immune response of dairy cattle

- fed an aflatoxin B1-contaminated diet. *Journal of dairy science*, v. 95, n. 10, p. 5901-5908, **2012**.
49. QUIN, P. J. et al. *Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas*. Porto Alegre - RS: Artmed. **2005**.
50. RAHAIE, S. et al. Evaluation of aflatoxin decontaminating by two strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in pistachio nuts. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 47, p. 1647–1653. **2012**.
51. RODRIGUES, Aline Maria Dourado. CAPACIDADE PROBIÓTICA E ADSORVENTE DE AFLATOXINA B1 POR LEVEDURAS ISOLADAS DE VIVEIROS DE PISCICULTURA. **2019**. Tese de Doutorado.
52. RODRIGUES, R.; Rodrigues, R.O.; Ledoux, D.; Rottinghaus, G.; Borutova, R.; Averkieva, O.; McFadden, T. Feed additives containing sequestrant clay minerals and inactivated yeast reduce aflatoxin excretion in milk of dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2019**, 102, 6614–6623.
53. SARLAK. Z.; ROUHI, M.; MOHAMMADI, R.; KHAKSAR, R.; MORTAZAVIAN, A.M.; SOHRABVANDI, S.; GARAVAND, F. Probiotic biological strategies to decontaminate aflatoxin M1 in a traditional Iranian fermented milk drink (Doogh). *Food Control*, v.71, p.152-159, **2017**.
54. SÁVIO, PEDRO LEONARDO OLSZEWSKI. “Viabilidade do uso de adsorvente de micotoxina na terminação de cordeiros texel em confinamento”. **2018**. Dissertação de mestrado.
55. SKLAN, D. R.; ASHKENZAZI, R.; BRAUN, A.; DEVORIN, A.; TABORI, K. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cotton seeds fed to high yielding cows. *Journal of Dairy Science*, v. 75, p. 2463-2472, **1992**.
56. SOUZA, P.M. Perfil bioquímico sérico de bovinos das raças Gir, Holandesa e Girolanda, criados no Estado de São Paulo - Influência de fatores de variabilidade etários e sexuais. **1997**. 168f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
57. SOUZA, R. M.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; AYRES, M. C. C.; BIRGEL, E. H. Influência dos fatores raciais na função hepática de bovinos da raça Holandesa e Jersey. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 41. p. 306-312, **2004**.

58. STEIN, D. R.; ALLEN, D. T.; PERRY, E. B.; BRUNER, J. C.; GATES, K. W.; REHBERGER, T. G.; MERTZ, K.; JONES, D.; SPICER L. J. Effects of feeding propionibacteria to dairy cows on milk yield, milk components, and reproduction. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 89, n. 1, p. 111 - 125, **2006**.
59. SULZBERGER, S. A.; MELNICHENKO, S.; CARDOSO, F. C. Effects of clay after an aflatoxin challenge on aflatoxin clearance, milk production, and metabolism of Holstein cows. *Journal of dairy science*, v. 100, n. 3, p. 1856-1869, **2017**.
60. TRCKOVA, M. et al. The effect of dietary bentonite on post-weaning diarrhoea, growth performance and blood parameters of weaned piglets. *Applied clay science*, v. 90, p. 35-42, **2014**.
61. TRIPATHI, M. K.; MONDAL, D.; KARIM, S. A. Growth, haematology, blood constituents and immunological status of lambs fed graded levels of animal feed grade damaged wheat as substitute of maize. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 92, n. 1, p. 75-85, **2008**.
62. UPADHAYA, S. D., M. A. PARK, ad J. K. Ha. **2010**. mycotoxins and their biotransformation in the rumen: A review. *J. Anim. Sci.* 23: 1250 – 1260.
63. VAN EIJKEREN J.C. H.; BAKKER M.I.; ZEILMAKER M.J.A Simple steady-state model for carry-over of aflatoxins from feed to cow's milk. *Food Addit Contam.*, n. 23, p. 833-838, **2006**.
64. VARGA, J.; KOCINFÉ, S.; PÉTERI, Z.; VÁGVÖLGYI, C.; TÓTH, B. Chemical, physical and biological approaches to prevent ochratoxin induced toxicoses in humans and animals. *Toxins*, v. 2, n. 7, p. 1718–1750, **2010**.
65. VEDOVATTO, M. G. et al. Micotoxinas na dieta de bovinos de corte: revisão. *Archivos de Zootecnia*, [S.L.], v. 69, n. 266, p. 234-244, 15 jan. 2020. Disponível em: <https://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az/article/view/5119>. Acesso em: 21 de julho de **2021**.
66. VIOTTI, Glêdes Cabral de Albuquerque et al. Desenvolvimento e caracterização de argilas organofílicas para uso em alimentação animal como adsorvente inativador de micotoxinas: aflatoxina B1 e fumonisina B1. **2006**.

67. WANG J.S. et al. Hepatocellular carcinoma and aflatoxin exposure in Zhuqing Village, Fusui County, People's Republic of China. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent*, n.10, p.143-146, **2001**.
68. WEATHERLY, M. E. et al. Physiological responses to a yeast and clay-based adsorbent during an aflatoxin challenge in Holstein cows. *Animal Feed Science and Technology*, v. 235, p. 147-157, **2018**.
69. WEEMHOFF, James L. et al. Plasma biomarkers to study mechanisms of liver injury in patients with hypoxic hepatitis. *Liver International*, v. 37, n. 3, p. 377-384, 2017.
70. WILSON, D. M. et al., Biology and ecology of mycotoxigenic aspergillus species as related to economic and health concerns. In: DE VRIES, J. W.; TRUCKESESS, M.; JACKSON, L. S. (Eds.) *Mycotoxins and food safety*. Dordrecht: Kluwer Academic Plenum Publications, **2002**. p. 3-17.
71. YANG, W. et al. Genome-wide miRNA-profiling of aflatoxin B1-induced hepatic injury using deep sequencing. *Toxicol. Lett.*, v.226, n.2, **2010**.
72. ZACHARIASOVA, M. et al. Occurrence of multiple mycotoxins in European feedingstuffs, assessment of dietary intake by farm animals. *Animal Feed Science and Technology*, v. 193, p. 124-140, **2014**.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As micotoxinas são responsáveis por quadro grave de toxicidade em animais e humanos quando as condições ambientais são favoráveis à sua produção. Essas substâncias indesejáveis apresentam efeito patogênico sobre os animais que as consomem em doses tóxicas, as medidas de controle devem ser eficazes para controlar a propagação desses metabólitos.

O uso do adsorvente nas dietas para vacas em lactação se mostrara promissoras, já que tivemos aumento na produção de leite e não alterou as características do leite, sendo biologicamente viável.

O tratamento com ANTIMICOX MR apresentou maior capacidade de absorção da AFB1 em vacas leiteiras previamente intoxicadas.