



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ângela Sofia da Silva

Relatórios de Estágio sob a orientação do Dr. Victor Rodrigues e do Dr. João Dias e Monografia intitulada “Ergot Alkaloids in cereals and seeds: analytical methods, occurrence and future perspectives” sob a orientação da Professora Doutora Ana Teresa Sanches Silva, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D COIMBRA

Ângela Sofia da Silva

Relatórios de Estágio sob a orientação do Dr. Victor Rodrigues e do Dr. João Dias e Monografia intitulada “Ergot Alkaloids in cereals and seeds: analytical methods, occurrence and future perspectives” sob a orientação da Professora Doutora Ana Teresa Sanches Silva, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023

Eu, Ângela Sofia da Silva, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º2018276291, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Ergot Alkaloids in cereals and seeds: analytical methods, occurrence and future perspectives” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 1 de setembro de 2023.

Ângela Sofia da Silva

(Ângela Sofia da Silva)

Agradecimentos

À minha família, em especial aos meus pais, por todo o apoio, confiança e por todos os esforços que fazem todos os dias para que possa seguir os meus sonhos.

Ao meu Zé pelo apoio incondicional em todo o percurso, por toda a força que me transmitiu e por ter sempre acreditado nos meus sonhos.

Aos amigos que tiveram sempre uma palavra de apoio e que sempre acreditaram em mim.
Em especial aos amigos que Coimbra me deu e que tão rápido se tornaram família.

À minha família de praxe, que me ensinou o verdadeiro significado de Coimbra e me apresentou esta cidade e todas as suas tradições da forma mais bonita. Um obrigado especial à Érica por todo o apoio ao longo destes 5 anos.

À Professora Doutora Ana Teresa Sanches Silva, pela orientação, disponibilidade e conselhos transmitidos ao longo da elaboração da monografia.

Ao Dr. Victor Rodrigues e a toda a equipa da Farmácia Militar de Coimbra, por ter sido tão bem acolhida, por todo o carinho, disponibilidade e por todos os ensinamentos e valores transmitidos. Um obrigado especial à Maria Aquino por ter tornado esta passagem tão especial.

Ao Senior Manager João Dias e a toda a equipa Glintt Business Solutions Lda., em especial ao departamento Business Consulting - Adjustt por todos os momentos, pelo carinho, apoio e todos os conhecimentos que me transmitiram.

A ti Coimbra, cidade que será para sempre casa, por todos os momentos, por todas as memórias e por todas as pessoas que serão sempre lembradas com saudade.

A todos, o meu eterno obrigado!

Índice

Parte I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	7
1. Introdução.....	8
2. Farmácia Militar de Coimbra do Laboratório Nacional do Medicamento	8
3. Análise SWOT	9
3.1. Pontos Fortes	9
3.1.1. Equipa e relação interpessoal	9
3.1.2. Diversidade das funções desempenhadas.....	10
3.2. Pontos Fracos.....	11
3.2.1. Dificuldade de associação entre a prescrição por Denominação Comum Internacional (DCI) e o nome comercial	11
3.2.2. Hesitação no aconselhamento.....	12
3.3. Oportunidades	12
3.3.1. Singularidade dos utentes	12
3.4. Ameaças.....	13
3.4.1. Prescrição por Receita Manual.....	13
3.4.2. Dificuldade na aquisição de medicamentos e produtos de saúde e bem-estar por parte da sucursal.....	13
4. Considerações Finais	13
5. Casos Práticos.....	14
Referências Bibliográficas	17

Parte II - Relatório de Estágio em Consultoria e Gestão de Farmácias

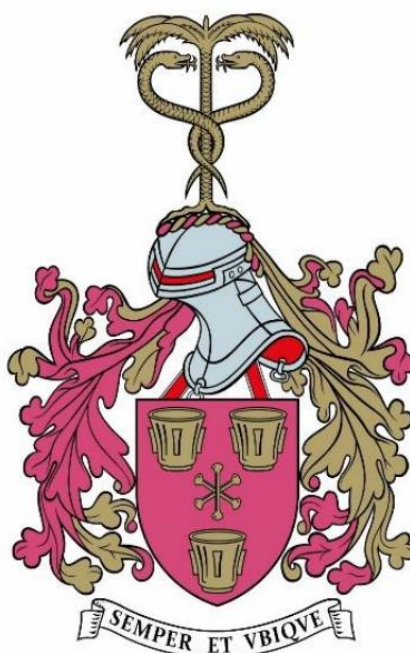
Lista de Abreviaturas	19
1. Introdução.....	20
2. Adjustt by Glintt.....	20
3. Análise SWOT	21
3.1. Pontos Fortes	22
3.1.1. Equipa e relação interpessoal	22
3.1.2. Filosofia <i>Kaizen</i> e reuniões semanais.....	22
3.2. Pontos Fracos.....	23
3.2.1. Duração do estágio	23
3.3. Oportunidades	23
3.3.1. Formação específica.....	23
3.3.2. Consultoria em contexto real.....	24
3.4. Ameaças.....	25
3.4.1. Sensibilidade dos conteúdos abordados.....	25

4. Considerações Finais	25
Referências Bibliográficas	27
Parte III - Monografia: "Ergot Alkaloids in cereals and seeds: analytical methods, occurrence and future perspectives"	
List of Abbreviations	29
Resumo	32
Abstract	33
1. Introduction.....	34
2. Mycotoxins	34
3. Ergot Alkaloids.....	36
4. Factor Associated with Contamination by Ergot Alkaloids.....	37
5. Toxicity and Mechanisms of action.....	38
6. Legislation with focus on EU	38
7. Determination of Ergot Alkaloids	40
7.1. Sampling.....	40
7.2. Sample Pre-treatment	40
7.2.1. Extraction	41
7.2.2. Clean-up	42
7.3. Analytical Methods	43
8. Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) notifications	57
9. Decontamination of Mycotoxins	58
9.1. Pre-Harvest Strategies.....	59
9.2. Post-Harvest Strategies	60
10. Conclusion and future perspectives	62
References.....	64

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Laboratório Nacional do Medicamento
Farmácia Militar de Coimbra



Janeiro 2023 - Abril 2023

Estágio sob a orientação do Dr. Victor Rodrigues

Lista de Abreviaturas

ADM - Assistência na Doença aos Militares

ADSE - Assistência na Doença aos Servidores do Estado

CSMC - Centro de Saúde Militar de Coimbra

DCI - Denominação Comum Internacional

DFA - Deficientes das Forças Armadas

FCE - Farmácia Central do Exército

FFUC - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

LM - Laboratório Nacional do Medicamento

LMPQF - Laboratório Militar de Produtos Químicos e Farmacêuticos

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM - Medicamento Sujeito a Receita Médica

SAD-GNR - Serviço de Assistência na Doença – Guarda Nacional Republicana

SAD-PSP - Serviço de Assistência na Doença – Polícia de Segurança Pública

SNS - Serviço Nacional de Saúde

SWOT - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

Desde 1449 que o exercício farmacêutico é conhecido em Portugal. Inicialmente estes profissionais eram denominados de boticários, cujas funções eram centradas na preparação oficial de medicamentos ou substâncias medicamentosas. Com o passar dos anos, a atividade farmacêutica passou a ter como foco o cidadão, passando a desenvolver serviços de apoio à comunidade através das farmácias, iniciando-se assim a utilização do termo Farmácia Comunitária. Dada a sua ampla distribuição geográfica, as farmácias tornaram-se pilares do Serviço Nacional de Saúde (SNS), garantindo a acessibilidade ao medicamento, e a prestação de serviços de saúde à comunidade. Devido a esta grande distribuição geográfica das farmácias e do facto de estas se encontrarem no seio da comunidade, os farmacêuticos são muitas das vezes a primeira linha de apoio à população, prestando assim um papel preponderante na salvaguarda da saúde pública e na educação da população no âmbito da promoção da saúde. Esta proximidade realça ainda mais o papel chave do farmacêutico em 4 áreas fundamentais: promoção da adesão à terapêutica, identificação de doentes de risco, indicação terapêutica e prevenção de doenças através da prestação de serviços.^{1,2}

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), ministrado na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), destaca-se por um plano de estudos multidisciplinar, com duração de 5 anos letivos, culminando com a realização de estágios, onde a vertente de Farmácia Comunitária se apresenta como obrigatória. Esta componente de estágio torna-se essencial para a consolidação e aplicação dos conhecimentos adquiridos pelos alunos ao longo de todo o percurso académico, bem como para a aquisição de novos conhecimentos, sendo por isso muito importante para o futuro exercício da profissão.

A vertente de Farmácia Comunitária, da unidade curricular “Estágio curricular”, teve início em janeiro de 2023 e terminou em abril de 2023, sob orientação do Dr. Victor Rodrigues. O presente relatório tem por objetivo refletir os principais pontos inerentes à realização do estágio através da discussão dos pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças através de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*).

2. Farmácia Militar de Coimbra do Laboratório Nacional do Medicamento

Em 1918 surgiu a Farmácia Central do Exército (FCE) com o intuito de fornecer medicamentos ao Exército e à Marinha. Posteriormente, em 1947 passou a designar-se por Laboratório Militar de Produtos Químicos e Farmacêuticos (LMPQF). Todavia, em 2020 passou a designar-se de Laboratório Nacional do Medicamento (LM).³ Esta instituição tem como missão

garantir o apoio logístico na área do medicamento e sanitário, tanto ao sistema de saúde militar como às Forças Armadas, bem como aos seus familiares e aos Deficientes das Forças Armadas (DFA), apresentando também um papel relevante na produção e manipulação de medicamentos, garantido assim a resposta às necessidades do Ministério da Saúde.^{4,5}

A Farmácia Militar de Coimbra, insere-se num conjunto de 7 sucursais distribuídas a nível nacional integradas no LM, e presta auxílio direto ao Hospital Militar, nº2, atualmente designado de Centro de Saúde Militar de Coimbra (CSMC). A farmácia apresenta um horário de funcionamento das 9h às 17h de segunda a sexta-feira.

3. Análise SWOT

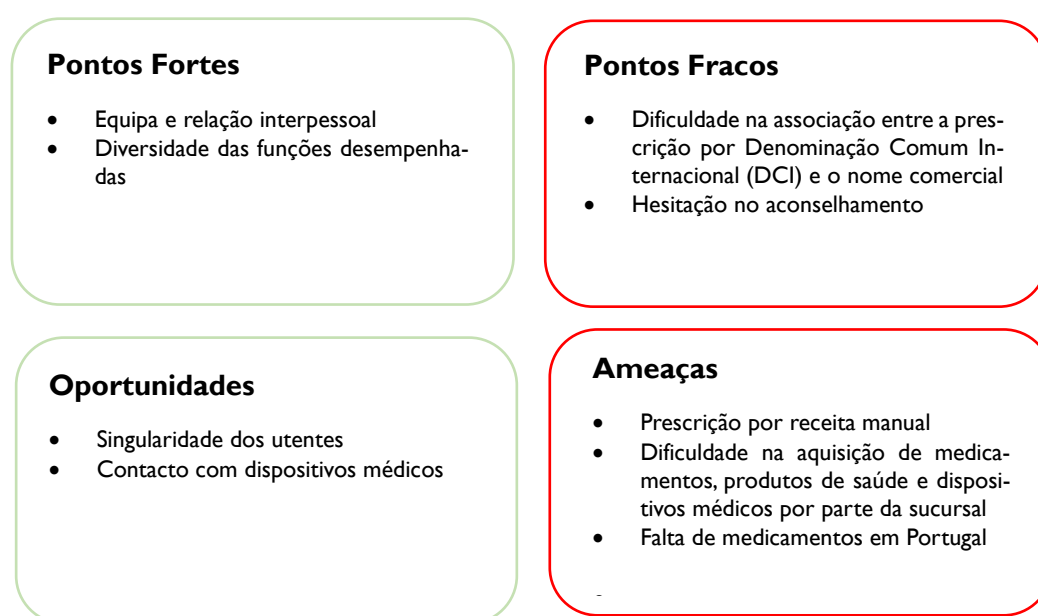


Figura 1. Análise SWOT do estágio realizado na Farmácia Militar de Coimbra

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Equipa e relação interpessoal

A equipa da sucursal de Coimbra do LM é constituída por dois farmacêuticos, o chefe da sucursal Tenente-Coronel Farmacêutico Paulo Santos e o Diretor Técnico Victor Rodrigues, e por dois assistentes técnicos, Celeste Casquilho e Vítor Nogueira. Durante o meu período de estágio a equipa foi reforçada através da prestação de serviços por parte da Farmacêutica Maria Aquino.

Desde o primeiro dia de estágio, que o acolhimento, a simpatia e o acompanhamento por parte de toda a equipa permitiram-me adquirir conhecimentos e métodos essenciais ao exercício da profissão. Durante todo o período de estágio foi notório o acompanhamento por

parte de toda a equipa na realização das diversas tarefas inerentes ao estágio e a disponibilidade de todos os elementos para esclarecer as minhas dúvidas.

A competência, o rigor, o espírito de equipa, o bom ambiente vivido na farmácia, em conjunto com todo o acompanhamento prestado no decorrer do estágio, foram pilares fundamentais para que me sentisse acolhida e que me permitiram evoluir, tanto a nível profissional como pessoal.

3.1.2. Diversidade das funções desempenhadas

No decorrer do estágio tive a oportunidade de desempenhar várias funções relativas ao normal funcionamento da sucursal e ao dia a dia de um farmacêutico.

Relativamente às atividades de *backoffice*, tive a oportunidade de desempenhar várias tarefas, essencialmente relacionadas com o aprovisionamento, armazenamento e gestão de *stocks*, mais precisamente tarefas relacionadas com a conferência de prazos de validade, regularização de devoluções, receção de encomendas e gestão do stock da sucursal.

A conferência dos prazos de validade dos medicamentos e dos restantes produtos era executada mensalmente. Nesta conferência, os produtos cujo prazo de validade expirasse nos três meses seguintes eram reorganizados e armazenados num local diferente, de modo a evitar possíveis erros na dispensa. Todos os meses era feita a devolução aos respetivos fornecedores dos produtos cujo prazo de validade expirasse no mês seguinte, e posteriormente era realizada a regularização da devolução. Esta regularização era feita em sistema informático e poderia consistir em três justificações: não aceite, troca pelo mesmo produto ou nota de crédito.

O processo de receção de encomendas incluía várias etapas, tais como a verificação das quantidades recebidas, conferência dos prazos de validade, conferência do preço de custo e o cálculo ou conferência do preço de venda ao público. Nesta fase era também realizada a separação dos produtos correspondentes a reservas, que eram armazenados em local próprio. Após a receção todos os produtos eram devidamente armazenados.

Estes procedimentos de *backoffice* foram fundamentais para a familiarização com os medicamentos e produtos de saúde e bem-estar permitindo conhecer os produtos com maior rotatividade, bem como associar os produtos à respetiva embalagem e, no caso dos medicamentos, fazer a associação entre o princípio ativo e o nome comercial, sendo por isso uma mais-valia uma vez que os conhecimentos aqui adquiridos se demonstraram úteis na fase de atendimento ao balcão.

A sucursal de Coimbra, ao prestar auxílio direto à Farmácia Hospitalar e ao Laboratório de Análises do CSMC, para além da aquisição de produtos para dispensa em balcão, era também realizada a aquisição de produtos necessários ao funcionamento destas estruturas. Assim, esta colaboração permitiu-me um contacto com estas realidades bem como com todos os procedimentos inerentes a esta dinâmica.

Desde o início do meu estágio que a importância da atuação do farmacêutico ao nível do atendimento ao balcão foi realçada. A este nível, inicialmente passei por uma fase de aprendizagem observacional acompanhada pela leitura do Manual de Procedimentos Internos da sucursal, o que permitiu uma interiorização de todas as etapas relacionadas com a dispensa dos vários produtos, do método de trabalho e do modo de funcionamento do programa SPharma®. Com o início da realização de atendimentos fui adquirindo autonomia, tentando sempre adaptar o discurso aos vários tipos de utente e, sempre que pertinente, o aconselhamento de medidas não farmacológicas. Durante o atendimento surgiram várias oportunidades de explicação de utilização de dispositivos médicos, destacando-se os dispositivos inalatórios, aparelhos de medição da pressão arterial e aparelhos de medição de glicémia.

A Farmácia Militar de Coimbra dispões de vários serviços de promoção de saúde e bem-estar dos utentes tais como avaliação do peso e altura, medição da pressão arterial e medição da glicémia. Vários utentes deslocavam-se frequentemente à farmácia para monitorização dos parâmetros bioquímicos e biofísicos, assim, durante o estágio foi-me possível aplicar e consolidar os conhecimentos adquiridos ao longo da minha formação académica.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Dificuldade de associação entre a prescrição por Denominação Comum Internacional (DCI) e o nome comercial

Atualmente é obrigatória a prescrição de medicamentos por Denominação Comum Internacional (DCI), permitindo assim ao utente a escolha do medicamento que corresponda à substância, dosagem, forma farmacêutica e dimensão da embalagem, de acordo com o prescrito pelo médico, que lhe é mais conveniente.

Na Farmácia Militar de Coimbra a preferência, por parte dos utentes, por medicamentos de marca era notória. No momento do atendimento a associação entre a Denominação Comum Internacional (DCI) e o nome de marca apresentou-se algumas vezes como uma dificuldade, que foi sendo superada através de um maior contacto com os medicamentos nas atividades de *backoffice* em conjunto com todo apoio prestado pela equipa técnica e à utilização

do software SPharma[®] que permitia consultar de uma forma mais rápida as opções existentes no grupo homogéneo de determinado princípio ativo.

3.2.2. Hesitação no aconselhamento

No decorrer do estágio existiram algumas situações que levaram a que sentisse alguma dificuldade no aconselhamento farmacêutico para algumas afeções menores, apesar de todos os conhecimentos que fui adquirindo ao longo de toda a minha formação. Estas situações deveram-se principalmente pela elevada variedade de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e produtos de saúde e bem-estar, por vezes acompanhada pela dificuldade na compreensão da situação apresentada pelo utente, dificultado o processo de aconselhamento. As principais dificuldades basearam-se na dosagem, posologia, início de tratamento e período de duração do tratamento.

Estas dificuldades foram ultrapassadas através da observação de aconselhamentos elaborados pela equipa, e pelo apoio e disponibilidade de toda a equipa para esclarecer as minhas dúvidas. Assim, com o passar do tempo senti um crescimento no desempenho durante os atendimentos que com o aumento da confiança me permitiu superar esta dificuldade.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Singularidade dos utentes

A Farmácia Militar de Coimbra tem a particularidade de apenas dispensar Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) a beneficiários de subsistemas de saúde: Assistência na Doença aos Militares (ADM), Assistência na Doença aos Servidores do Estado (ADSE), Serviço de Assistência na Doença – Polícia de Segurança Pública (SAD-PSP) e Serviço de Assistência na Doença – Guarda Nacional Republicana (SAD-GNR). Podemos ainda destacar os Deficientes das Forças Armadas (DFA) que possuem uma comparticipação de 100 % em medicamentos, produtos de saúde e bem-estar e dispositivos médicos. A aquisição de dispositivos médicos com a comparticipação de 100 % apenas é possível nas sucursais do LM, perante a apresentação de uma receita médica prescrita num Hospital Militar. Por vezes a aquisição destes dispositivos requer um pedido de orçamento para a aquisição do produto que cumpre com as necessidades do utente. Esta realidade permitiu-me um maior contacto com dispositivos médicos, aumentando os meus conhecimentos nesta área. Estas situações específicas permitiram-me o acompanhamento destes processos em todas as etapas, tentando satisfazer as necessidades dos utentes e as questões inerentes a toda a situação, levando a que muitas das vezes tivesse de moldar o meu modo de atuação perante cada situação.

3.4. Ameaças

3.4.1. Prescrição por Receita Manual

No decorrer do estágio tive oportunidade de contactar com vários tipos de receituário, nomeadamente, prescrição manual, prescrição eletrónica materializada e prescrição eletrónica.

A prescrição por Receita Manual correspondia a uma grande parte do receituário total da farmácia. Este tipo de prescrição tem de cumprir um conjunto de regras específicas e bem-definidas, no entanto, por vezes surgiam alguns casos em que as regras não eram totalmente cumpridas, assim a existência de incorreções levava à necessidade da deslocação ao CSMC de forma a corrigir estas situações. Para além disto, uma das grandes dificuldades sentidas perante as receitas manuais era a incompreensão do que tinha sido prescrito, levando a inseguranças no atendimento que por vezes eram resolvidas recorrendo aos restantes membros da equipa ou através do contacto com o médico. Assim, este tipo de prescrição, por vezes tornava o atendimento demorado.

3.4.2. Dificuldade na aquisição de medicamentos e produtos de saúde e bem-estar por parte da sucursal

Durante o meu período de estágio, a aquisição de medicamentos e produtos de saúde e bem-estar encontrou-se condicionada, o que levou a uma progressiva diminuição de *stock*, devido à incapacidade de repor os produtos vendidos. Esta dificuldade decorreu do facto de a farmácia se integrar no Exército, sendo o fornecer das sucursais do LM escolhido após concurso público e apresentação de propostas. Devido a um atraso no concurso público, a farmácia esteve durante um período alargado restringida a um compromisso com um único fornecedor, que após término obrigava à troca de fornecedor e elaboração de um novo compromisso, estando sempre os fornecimentos restringidos a um único fornecedor. Isto levava a uma maior dificuldade na aquisição de produtos esgotados e rateados. Este fator aleado ao período de falta de alguns medicamentos em Portugal levou a uma grande dificuldade na manutenção de *stocks* e na satisfação das necessidades dos utentes. Estes fatores condicionaram o atendimento, levando por vezes a incompreensão e ao descontentamento por parte dos utentes.

4. Considerações Finais

O estágio na Farmácia Militar de Coimbra foi uma etapa fundamental no meu percurso académico. Durante os 4 meses de estágio tive a oportunidade de aplicar os vários conhecimentos adquiridos ao longo dos 5 anos do MICF bem como aprofundar e adquirir novos conhecimentos. Tive também a oportunidade de desenvolver novas competências que serão

extremamente importantes para o meu futuro profissional. A singularidade desta farmácia e a colaboração e apoio de toda a equipa foram fundamentais para uma evolução e enriquecimento tanto profissional como pessoal. Efetivamente, o estágio em farmácia comunitária permitiu-me adquirir uma visão alargada do exercício da profissão tendo sido desafiante e gratificante. Todos estes fatores permitiram-me adquirir competências que me enriquecem enquanto futura farmacêutica.

O papel de toda a equipa da Farmácia Militar de Coimbra foi fundamental ao longo de todo o meu percurso. O ambiente, a disponibilidade, o rigor, o método e o profissionalismo permitiram não só uma melhoria continua no que se relaciona com as questões teóricas, mas também uma melhoria contínua como pessoa e futura profissional.

5. Casos Práticos

Caso 1.

Utente com cerca de 40 anos dirige-se à farmácia com queixas de tosse seca, dor no peito e desconforto nasal. Quando questionada sobre a duração dos sintomas, a utente refere que já permaneciam há cerca de 5 dias devido à utilização de lixívia no trabalho, referindo também ser alérgica à lixívia. Questionei sobre a utilização de medidas preventivas aquando do contacto com a lixívia e com que frequência utilizava, a utente referiu que o contacto com o alérgeno era diário e que não tinha tomado nenhuma medida preventiva quanto à exposição. Questionei também sobre a duração das dores no peito, tendo a utente referido que teriam aparecido aquando da exacerbação da tosse, o que me levou a concluir que a dor no peito resultava do reflexo da tosse. Perante tudo isto, apresentei como medidas farmacológicas a toma de Bissoltussim[®] Tosse Seca, para alívio do reflexo da tosse. Assim, indiquei que a posologia deveria consistir na toma de 12 ml com intervalos de 6 horas por um período de 3 dias, e em caso de persistência dos sintomas deveria consultar um médico.

Reforcei ainda a importância das medidas não farmacológicas na prevenção deste tipo de crises, tendo aconselhado a utilização de máscara de proteção durante a utilização de lixívia, uso de óculos, uso de luvas e lavagem das mãos após utilização do produto. Para além disto referi ainda a importância da lavagem da cara após utilização do produto, pois poderia ter salpicos resultantes do manuseamento da lixívia.

Caso 2.

Utente jovem desloca-se à farmácia com queixas de dores corporais e congestão nasal, refere ainda já ter efetuado testagem para despiste de uma possível infeção pelo vírus SARS-

CoV-2. Questionei-o sobre os restantes sintomas de gripe, como febre e tosse seca, tendo o utente referido não apresentar mais nenhum sintoma. Perante esta situação, indiquei a toma de Cegripe[®], uma vez que apresenta na sua constituição um analgésico (Paracetamol 500 mg) para alívio das dores musculares e um anti-histamínico (Maleato de Clorofenamina 1 mg) para alívio dos sintomas gripais. Assim, indiquei que deveria tomar 2 comprimidos três vezes ao dia, de preferência após as refeições, até melhoria dos sintomas. Indiquei ainda que, caso não fossem verificadas melhorias após 3 dias do início da terapêutica, deveria ser visto por um médico.

Caso 3.

Utente com cerca de 30 anos desloca-se à farmácia com queixas de diarreia. Após questionada relativamente à presença de outros sintomas, como febre ou flatulência, ou viagens recentes, a utente refere não ter mais nenhum sintoma nem ter feito nenhuma viagem recente. Questionei ainda sobre a duração dos sintomas, tendo referido terem aparecido no próprio dia, mas já ter feito 4 evacuações, tratando-se assim de um caso de diarreia aguda. Aconselhei assim a toma de Imodium[®] Rapid, composto por 2 mg de Cloridrato de Loperamida, um anti-diarreico para alívio rápido. Indiquei a toma de 2 comprimidos na primeira toma e depois 1 comprimido após cada dejeção, num máximo de 8 comprimidos por dia, até obtenção de pelo menos uma dejeção sólida. Reforcei ainda a importância de caso não se verificar melhorias 48 horas após o início da terapêutica consultar um médico.

Como medida não farmacológica aconselhei ainda um reforço na hidratação de modo a repor os líquidos perdidos e evitar a ingestão de alimentos ricos em fibras, alimentos gordurosos ou muito temperados.

Caso 4.

Jovem desloca-se à farmácia solicitando algo para o tratamento do herpes labial, referindo que durante a noite começou a sentir formiguelo, comichão e dor no lábio. Após uma análise do local da queixa verifiquei apresentar vermelhidão, não tendo nenhuma lesão nitidamente visível. Tendo isto em conta, recomendei a aplicação de Zovirax[®] creme indicado para o tratamento de infeções de vírus *Herpes simplex*. Zovirax[®] creme apresenta na sua composição o antivírico Aciclovir que trata e impede a progressão do herpes labial. Indiquei que a aplicação deveria ser efetuada o mais rapidamente possível, de modo a evitar o surgimento da lesão ulcerosa, aplicando 5 vezes ao dia por um período de 4 dias, lavando bem as mãos antes e depois da aplicação. Recomendei ainda a hidratação dos lábios com o stick labial com fator proteção solar de modo a prevenir o surgimento deste tipo de situações com frequência, uma

vez que a exposição solar pode ser um fator desencadeante para o aparecimento de herpes labial.

Caso 5.

Utente com cerca de 40 anos deslocou-se à farmácia com queixas de azia. Após ser questionada relativamente ao período de duração dos sintomas referiu que os sintomas de ardência teriam começado depois do almoço. Quando questionada sobre outros sintomas, se o que sentia era frequente e se já teria tomado algo para o alívio da condição, a utente respondeu que não às 3 questões. Assim, após me certificar que a utente não possuía qualquer contraindicação, indiquei como opção Gaviscon[®], um antiácido, tanto sob a forma de suspensão oral em saquetas como sob a forma de comprimidos mastigáveis. A utente demonstrou preferência pelas saquetas, tendo por isso indicado a toma de 1 a 2 saquetas após as refeições e ao deitar, até 4 vezes por dia. Reforcei a importância de a toma destes medicamentos dever ser feita separadamente da toma de outros medicamentos, de preferência com um intervalo de 2 horas. Referi ainda a importância de caso após 7 dias os sintomas persistissem, consultar um médico.

Como medidas não farmacológicas aconselhei evitar alimentos que possam agravar os sintomas, tais como alimentos ácidos, condimentados, picantes, bebidas gaseificadas, álcool, alimentos fritos e com muita gordura, aconselhando ainda dormir com a cabeceira da cama elevada de modo a diminuir o refluxo. Como medidas não farmacológicas preventivas aconselhei mastigar bem os alimentos e comer devagar, fazer várias refeições ligeiras por dia, fazer a última refeição 3 horas antes da hora de deitar, evitar roupas muito justas e apertadas na zona da cintura.

Referências Bibliográficas

1. **A Farmácia Comunitária - Farmácia Comunitária - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos** - [Consult. 1 jul. 2023]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. SANTOS, Henrique - Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária. [s.d.].
3. **História** - [Consult. 1 jul. 2023]. Disponível em: <https://lm.exercito.pt/historia.html>
4. **Decreto-Lei n.º 13/2021.D.R. I Série. 28 (2021-02-10) 3-19** - [Consult. 1 jul. 2023].
5. **Sobre Nós** - [Consult. 1 jul. 2023]. Disponível em: <https://lm.exercito.pt/sobre.html>

Parte II

Relatório de Estágio em Consultoria e Gestão de Farmácias

Glantt Business Solutions Lda.

Departamento de Business Consulting - Adjustt



Maio 2023 – Julho 2023

Estágio sob a orientação do Senior Manager João Dias

Lista de Abreviaturas

ANF - Associação Nacional das Farmácias

FFUC - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PAD - Plano de Avaliação de Desempenho

SWOT - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), ministrado na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), contempla um plano de estudos multidisciplinar que culmina com a elaboração de um Estágio Curricular. No âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular” é dada a possibilidade aos alunos finalistas de estagiarem noutras áreas, para além de farmácia comunitária, através do estabelecimento de protocolos com diversas entidades. Esta oportunidade permite o enriquecimento do percurso académico dos alunos, através da experiência em diversas áreas de atuação do farmacêutico.

Os efeitos da crise económica que afetou Portugal em 2012 foram sentidos em todas as áreas da saúde. No setor farmacêutico afetou não só as farmácias, mas todo o ciclo do medicamento levando a um continuo declínio do setor.¹ Existindo várias farmácias em Portugal a serem alvo de processos de insolvência ou penhoras e com previsões de que centenas de farmácias teriam o mesmo fim surgiu a necessidade de apoio na gestão do negócio das farmácias.² Com a necessidade de garantir a sustentabilidade do setor a Associação Nacional das Farmácias (ANF) desenvolveu um projeto piloto de Consultoria e Gestão às Farmácias que aliado com os conhecimentos de profissionais do setor se tornou essencial para a recuperação do setor.

Assim, devido ao meu interesse por esta área optei por realizar um estágio em Consultoria e Gestão de Farmácias que decorreu entre maio de 2023 e julho de 2023, sob a orientação do Senior Manager João Dias, no departamento de Business Consulting – Adjustt.

O presente relatório, relativo à componente de Consultoria e Gestão às Farmácias, no âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular”, tem por objetivo refletir os principais pontos inerentes à realização do estágio apresentados sob a forma de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*).

2. Adjustt by Glintt

A Glintt é uma empresa de referência na área da consultoria e serviços tecnológicos com mais de 20 anos de experiência. Atualmente lidera o mercado ibérico de saúde, estando os seus serviços presentes em cerca de 430 hospitais, 600 clínicas e 14000 farmácias. Ao nível do setor de Farmácia Comunitária atua através de uma oferta completa de serviços, que incluem consultoria, conceção e projeção de espaço de lojas, automação, infraestruturas e consumíveis.³

O serviço de Consultoria e Gestão de Farmácias surgiu do interesse da ANF em defender a sustentabilidade do setor das farmácias em 2014, iniciando este apoio através de um projeto piloto. Após a verificação de resultados muito promissores no projeto piloto, em 2015 foi desenvolvida uma parceria com o instituto *Kaizen*, implementando uma política de melhoria contínua ao processo, o que permitiu continuar a consolidar o modelo de consultoria. O serviço de Consultoria de Gestão às Farmácias foi integrado na Glintt em 2016, com intervenção em 4 áreas fundamentais relativas à gestão de negócio da farmácia: eficiência operacional, gestão económico-financeira, gestão de recursos humanos e gestão comercial e *marketing*, aliando este serviço à inovação e tecnologia criou-se um serviço único no mercado da saúde. Em 2018, com a necessidade de criação de uma marca que representasse a consultoria focada no negócio das farmácias surgiu a Adjustt.

Na Glintt, o departamento de Business Consulting – Adjustt tem como missão construir o futuro com as farmácias, através de uma visão 360° da gestão da farmácia aliada a uma filosofia de melhoria contínua (filosofia *Kaizen*), focando o serviço na eliminação do desperdício e aumentando a eficiência do negócio.⁴

3. Análise SWOT

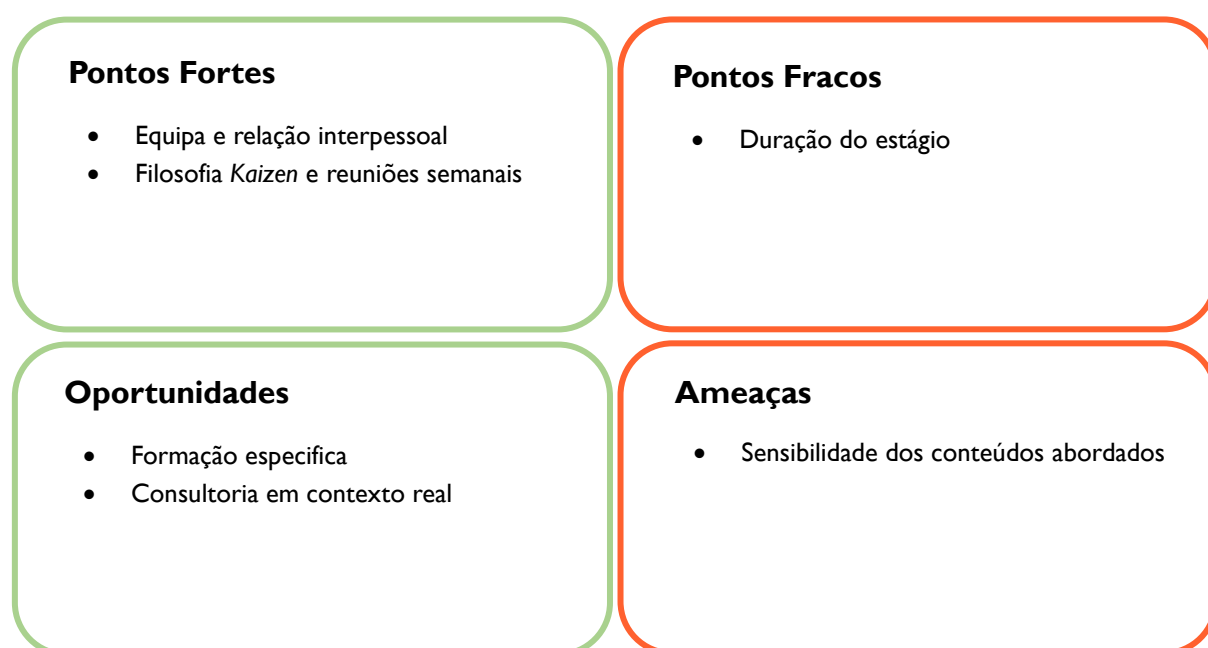


Figura 2. Análise SWOT do estágio em Consultoria de Gestão às Farmácias

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Equipa e relação interpessoal

A Adjutt é constituída por uma equipa jovem, dinâmica e motivada caracterizada pelo rigor no exercício das suas funções. Apresentando sempre uma atitude de integração e colaboração, todos os elementos são integrados na discussão de temas relevantes ao exercício das funções bem como na partilha de experiências, permitindo assim uma constante evolução.

O profissionalismo de toda a equipa e o bom ambiente vivenciado, em conjunto com a constante disponibilidade para me ajudar e integrar nas atividades relacionadas com o meu estágio permitiram uma rápida integração, facilitando todo o processo de aprendizagem e evolução. Estas características permitiram-me sentir integrada e incluída desde o primeiro dia, tendo ainda estimulado as minhas competências profissionais e pessoais através de uma participação crescente nos temas abordados.

3.1.2. Filosofia *Kaizen* e reuniões semanais

A aplicação da Filosofia *Kaizen* não só como modelo de intervenção nas farmácias, mas também nas atividades diárias da empresa permitem que esta atue sempre com foco na melhoria contínua. O termo *Kaizen* surge da junção do termo “*Kai*” que significa mudar e do termo “*Zen*” que significa melhor, procurando assim um processo de melhoria contínua.⁵ Esta metodologia tem como objetivo a criação de valor estratégico com pessoas motivadas. A formação obtida nesta área, bem como o contacto com esta filosofia no terreno permitiram-me desenvolver uma metodologia de trabalho e um pensamento crítico que me serão fundamentais para o futuro profissional.

Semanalmente eram realizadas reuniões de equipa onde era transmitido o ponto de situação de cada consultor e eram partilhados os desafios vividos ao longo da semana, com partilha de ideias por parte de toda a equipa, eram também definidos objetivos e o planeamento das tarefas semanais. Estas reuniões de equipa permitiram-me uma maior integração no trabalho desenvolvido por toda a equipa, assim como enriquecer os meus conhecimentos em diversas áreas, uma vez que estas reuniões funcionavam também como formação complementar sobre diversos temas. Paralelamente a estas reuniões semanais era feita uma reunião de *feedback* com o orientador, o que demonstrou ser benéfico para o meu percurso neste estágio uma vez que aqui ocorria uma contextualização do trabalho realizado a cada semana, funcionando também como espaço para esclarecimento de dúvidas ou dificuldades sentidas durante o estágio.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Duração do estágio

O estágio em Consultoria de Gestão às Farmácias teve a duração de 3 meses, período este que considerei curto tendo em conta toda a contextualização, áreas formativas e atuação no terreno. A Adjustt baseia a sua atuação nas quatro vertentes essenciais à gestão de negócio acima referidas. Assim, dada a grande quantidade de conteúdos abordados pela Adjustt não me foi possível ter uma visão aprofundada dos diversos temas. No entanto, ao longo do meu estágio tive a oportunidade de ter momentos de formação nas quatro vertentes de atuação que me permitiram adquirir conhecimentos gerais sobre a atuação da Adjustt.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Formação específica

Sendo a Adjustt guiada pelo ideal de melhoria continua e pela constante atualização do conhecimento de toda a equipa, frequentemente eram realizadas atividades formativas. Parte das reuniões semanais de equipa funcionavam como momentos formativos sobre diversas áreas. Efetivamente as primeiras semanas de estágio consistiram numa vertente mais formativa onde tive a oportunidade de participar em formações iniciais de integração, introdução e contextualização. Para além destas formações e pelo facto de a Adjustt atuar num leque tão alargado de áreas tive a oportunidade de frequentar formações sobre os vários pilares de atuação destacando algumas atividades formativas como formações sobre filosofia *Kaizen*, gestão de categorias, ciclo do colaborador, formação económica e financeira e *sifarma.gest*. Estas formações ocorriam tanto em contexto presencial, com a participação de outros membros da equipa, como em contexto remoto, através de formações *online* e visualização de conteúdos pré-gravados.

De todos os quatro pilares de atuação da Adjustt destaco a oportunidade de contactar e obter formação na área de gestão económica e financeira. Esta é uma área que não é muito abordada ao longo do plano de estudos do MICE, mas que se torna essencial ao funcionamento de uma farmácia uma vez que funciona como a base de qualquer negócio. Algumas das formações permitiram também o aprofundamento dos conhecimentos obtidos durante o percurso académico relativos à utilização do *software* Sifarma. Aliando as funcionalidades do *software* Sifarma com o pilar de gestão económico-financeira tive a oportunidade de contactar com a ferramenta Sifarma.Gest e obter formação sobre a utilização desta ferramenta.

Em paralelo a todas as formações relativas ao processo de atuação Adjustt e todas as áreas que este abrange tive ainda a oportunidade de obter formação mais específica relativamente à utilização da ferramenta Excel e aprofundar os conhecimentos sobre esta ferramenta essencial ao trabalho do farmacêutico em diversas áreas da sua atuação.

De facto, considero que a oportunidade de realizar toda esta panóplia de formações foi essencial não só para me inteirar de informações relativas à empresa e ao seu funcionamento, como também permitiram um enriquecimento dos meus conhecimentos em diversas áreas.

3.3.2. Consultoria em contexto real

Ao longo do estágio tive a oportunidade de acompanhar alguns consultores na sua atuação presencial ao nível das farmácias. Este acompanhamento permitiu-me ter uma perceção real do dia-a-dia do consultor bem como perceber a aplicação dos conhecimentos teóricos na realidade da farmácia. O seguimento da atuação em várias farmácias permitiu uma interligação dos vários pilares e verificar os resultados de alguns planos de ação, permitindo ter uma visão das diferentes formas de aplicação dos conteúdos em contexto real pelo consultor perante as diferentes realidades vividas em cada farmácia acompanhada da aquisição de conhecimentos através da escuta ativa em diferentes realidades.

Relativamente aos quatro pilares de atuação da Adjustt, tive a oportunidade de assistir à aplicação prática das diversas áreas. Ao nível do pilar de eficiência operacional tive a oportunidade de analisar créditos a clientes, devoluções por regularizar, o peso das reservas e os erros de *stock*. Em relação ao pilar de recursos humanos através do Plano de Avaliação de Desempenho (PAD) foi possível a análise de um conjunto de indicadores, como por exemplo, a percentagem de atendimentos com o utente identificado ou a margem média por colaborador, permitindo um aumento do alinhamento da equipa e definição de planos de ação que permitam uma melhor qualidade no atendimento prestado. A análise do pilar económico-financeiro baseou-se essencialmente na análise de vendas totais, margens aplicadas, prazo médio de existências e alinhamento de produtos. Por fim, ao nível do pilar comercial e de *marketing* foi trabalhado o número de atendimentos com clientes identificados, o valor médio por atendimento e dinamização de produtos sem rotação.

Assim, as visitas de consultoria para além de funcionarem como momento de consolidação dos conteúdos teóricos aprendidos, funcionaram também como momento formativo complementar uma vez que alguns dos conhecimentos foram aprofundados aquando da aplicação real das metodologias.

3.4. Ameaças

3.4.1. Sensibilidade dos conteúdos abordados

O processo Adjustt baseia-se na elaboração de um diagnóstico e identificação célere de ineficiências e oportunidades de melhoria com a definição de um plano de ação baseado em quatro áreas de intervenção: a área da eficiência operacional atuando no âmbito do atendimento, gestão de *stocks*, análise de indicadores; a área de gestão económico-financeira atuando no âmbito do planeamento e controlo orçamental, análise de rácios, tesouraria; na área de gestão de recursos humanos atuando no âmbito da definição de funções, avaliação de desempenho, satisfação dos colaboradores; por fim, a área da gestão comercial e *marketing* atuando no âmbito das compras, gestão de categorias, gestão do ponto de venda, gestão de clientes, dinamização de ferramentas saúde. Trabalhando assim com informações confidenciais e sensíveis do negócio das farmácias, este tornou-se muitas das vezes uma barreira no decorrer do estágio, havendo uma certa distância e dificuldade na nossa aceitação nas visitas de consultoria quando assuntos relacionados com a área económica e financeira (como por exemplo análise de vendas totais, análise de margens e valor médio por atendimento) e com a área de gestão de recursos humanos (como por exemplo na discussão de sistemas de incentivos ou satisfação dos colaboradores) eram discutidos, acabando muitas das vezes por ser um impedimento na verificação da aplicação das atividades no terreno.

4. Considerações Finais

A profissão farmacêutica é caracterizada por uma grande variedade de ramos e valências, o que permite a existência de várias saídas profissionais. A possibilidade dada pela unidade curricular “Estágio Curricular” relativa à oportunidade de realizar estágios em diversas áreas do setor farmacêutico é uma mais-valia para os alunos finalistas do MICF permitindo experimentar e aprofundar a realidade de diversas áreas.

Efetivamente o estágio realizado na Glintt, no departamento de Consultoria de Gestão às Farmácias - Adjustt, para além de permitir o enriquecimento dos meus conhecimentos em diversas áreas, permitiu também a aquisição e desenvolvimento de *soft skills*. Os conhecimentos adquiridos aliados ao facto de o estágio me ter obrigado a sair da zona de conforto contribuiu para o meu crescimento tanto a nível pessoal como profissional.

Durante o estágio tive a oportunidade de trabalhar com uma equipa jovem, dinâmica e motivada caracterizada pelo rigor e cooperação, valores estes que me foram transmitidos

desde o meu primeiro dia de estágio e que me acompanharam ao longo de todo o meu percurso na Adjustt. O meu sincero obrigado a toda a equipa Adjustt por todos os conhecimentos que me foram transmitidos e por ter sido tão bem acolhida nesta equipa.

Referências Bibliográficas

1. OBSERVATÓRIO PORTUGUÊS DOS SISTEMAS DE SAÚDE OPSS Relatório de Primavera 2013 duas faces da saúde O Observatório Português dos Sistemas de Saúde (OPSS) é uma parceria entre - [s.d.].
2. **Mais de 400 farmácias em Portugal alvo de penhora ou insolventes | Netfarma** - [Consult. 14 jul. 2023]. Disponível em: <https://www.netfarma.pt/mais-de-400-farmacias-em-portugal-alvo-de-penhora-ou-insolventes/>
3. **Sobre a Glintt** - [Consult. 14 jul. 2023]. Disponível em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-somos/sobreaglintt/Paginas/default.aspx>
4. **Glintt | Portal Pharma** - [Consult. 14 jul. 2023]. Disponível em: <https://portal.glintt.com/#/produto/l-consultoria-de-gest%C3%A3o->
5. **O que é KAIZEN™** - [Consult. 14 jul. 2023]. Disponível em: <https://pt.kaizen.com/o-que-e-kaizen>

Parte III

Monografia

**“Ergot Alkaloids on cereals and seeds: analytical methods,
occurrence and future perspectives”**

Sob a orientação da Professora Doutora Ana Teresa Sanches Silva

List of Abbreviations

Acl – Agroclavine
AFs – Aflatoxins
ASE – Accelerated Solvent Extraction
CAPP – Cold Atmospheric Pressure Plasma
CE – Capillary Electrophoresis
ChaI – Chanoclavine-I
CIT – Citrinin
CONTAM – Panel on Contaminants in Food Chain
DEco – Dihydroergocornine
DEcr – Dihydroergocristine
DEkr – Dihydroergokryptine
DErn – Dihydroergine
DEt – Dihydroergotamine
DLs – Dihydrolysergol
DON – Deoxynivalenol
EAs – Ergot Alkaloids
ECD – Electron Capture Detection
Ecl – Elymoclavine
Eco – Ergocornine
Econ – Ergocorninine
Ecr – Ergocristine
Ecrn – Ergocristinine
EFSA – European Food Safety Authority
Ekr – Ergokryptine
EKrn – Ergokryptinine
ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ELSD – Evaporative Light Scattering Detector
Em – Ergometrine
Emn – Ergometrnine
Eno – Ergonovine
Enon – Ergonovinine
Erg – Erginine
Es – Ergosine

ESI – Electrospray Interface
Esn – Ergosinine
Et – Ergotamine
Etn – Ergotaminine
EU – European Union
FAO – Food and Agriculture Organization
Fcl – Festuclavine
FLD – Fluorescence Detection
FUMs – Fumonisin
GAP – Good Agricultural Practices
GC – Gas Chromatography
GMP – Good Manufacturing Practices
HACCP – Hazard Analysis and Critical Control Points
HPLC – High Performance Liquid Chromatography
IAC – Immunoaffinity Columns
IM – Ion mobility
LC – Liquid Chromatography
LLE – Liquid-Liquid Extraction
LLP – Liquid-Liquid Partitioning
Ls – Lysergol
MAE – Microwaved-Assisted Extraction
MS – Mass Spectrometry
MS/MS – Tandem Mass Spectrometry
MSPD – Matrix Solid Phase Dispersion
NIV – Nivalenol
OTA – Ochratoxin A
PAT – Patulin
PSA – Primary Secondary Amine
PSA-SPE – Dispersive Primary Secondary Amine Solid Phase Extraction
QuEChERS – Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe
RASFF – Rapid Alert System for Food and Feed
SCX – Strong Cation Exchange
SFE – Supercritical Fluid Extraction
SLE – Solid-Liquid Extraction

SPE – Solid Phase Extraction

TCs – Trichothecenes

TDI – Tolerable Daily Intake

TLC – Thin Layer Chromatography

UHPLC – Ultra-high Performance Liquid Chromatography

UV – Ultraviolet Light

WHO – World Health Organization

ZEA – Zearalenone

Resumo

Os Alcaloides da Cravagem são metabolitos secundários resultantes de fungos do género *Claviceps* que se apresentam como altamente tóxicos. Estas micotoxinas infetam comumente cereais, como por exemplo trigo, centeio, cevada e aveia. Devido ao aumento mundial do consumo de cereais e produtos à base de cereais, a presença de Alcaloides da Cravagem representa uma ameaça para a segurança humana. Por esta razão, é essencial o desenvolvimento de métodos analíticos que permitam a deteção destes compostos tóxicos. Nesta revisão são compilados e discutidos os estudos e métodos mais relevantes usados na deteção e quantificação de Alcaloides da Cravagem. Para além disto, os métodos de descontaminação são também referenciados, com atenção especial aos métodos de triagem, limpeza, fritura, cozimento, descascamento e amonização, uma vez que são os únicos já aplicados aos Alcaloides da Cravagem.

Palavras-chave: Alcaloides da Cravagem; Métodos Analíticos; Descontaminação; Cereais; Mictoxinas.

Abstract

Ergot Alkaloids are secondary metabolites resulting from fungi of the genus *Claviceps* that have proven to be highly toxic. These mycotoxins commonly infect cereal crops, such as wheat, rye, barley, and oats. Due to the increase worldwide consumption of cereal and cereal-based products, the presence of Ergot Alkaloids in food presents a concern for human safety. For this reason, it is essential the development of several analytical methods that allow the detection of these toxic compounds. This review compiles and discusses the most relevant studies and methods used in the detection and quantification of Ergot Alkaloids. Moreover, the decontamination techniques are also addressed, with special attention to sorting, cleaning, frying, baking, peeling and ammonization methods, as they are the only ones already applied to Ergot Alkaloids.

Keywords: Ergot Alkaloids; Analytical Methods; Decontamination; Cereals; Mycotoxins.

1. Introduction

Mycotoxins are natural toxic contaminants resulting from the metabolism of fungi of the genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, and *Fusarium*. Nowadays, hundreds of mycotoxins are known. From these Aflatoxins (AFs), Ochratoxin A (OTA), Patulin (PAT), Fumonisin (FUMs), Trichothecenes (TCs), Zearalenone (ZEA), Citrinin (CIT) and Ergot Alkaloids (EAs) are those with the relevance.^{1,2}

Ergot Alkaloids are secondary metabolites produced by fungi of the genus *Claviceps*, mainly *Claviceps purpurea*, that have been detected in cereals and seeds. The presence of these toxic compounds in food and feeds needs to be considered because can cause health concerns, due to their stability, resistance to decomposition, and at determined concentrations can be associated with acute and chronic health problems.²

In Europe, limits of Ergot Alkaloids have been established for foodstuffs by the European Commission. Due to the importance of these toxic compounds, many organizations such as World Health Organization (WHO), Food and Agriculture Organization (FAO)³, and European Food Safety Authority (EFSA)⁴ are taking these mycotoxins into account.

Due to their importance, many methods have been reported for the determination and quantification of Ergot Alkaloids. In this line, liquid chromatographic based methods coupled with tandem mass spectrometry seem to be the methods of choice over the last years.

The present review intends to compile the most relevant studies and review the main methods used in the detection and quantification of Ergot Alkaloids. Moreover, the decontamination techniques are also addressed.

2. Mycotoxins

Mycotoxins are secondary metabolites, with low molecular weight, produced by filamentous fungi, especially fungi of the genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, and *Fusarium*. From all the known mycotoxins, Aflatoxins (Afs), Ochratoxin A (OTA), Patulin (PAT), Fumonisin (FUMs), Trichothecenes (TCs), Zearalenone (ZEA), Citrinin (CIN) and Ergot Alkaloids (EAs) appears has the most important ones.^{1,3}

Aflatoxins are a result of the metabolism of fungus of the genus *Aspergillus* (principally *A. flavus*, *A. parasiticus*, and *A. nomius*) and can contaminate milk, almonds, groundnuts, pistachio nuts, hazelnuts, Brazil nuts, maize, rice, spices, dried figs, melon seeds and numerous other foods. They are highly toxic, mutagenic, carcinogenic, and teratogenic compounds.^{4,5}

Fungi of the genus *Penicillium* and *Aspergillus* (mainly *A. ochraceus* and *P. verrucosum*) are responsible for the production of Ochratoxin A, and are present in products such as cereals, coffee, cocoa, spices, beer, wine, dried fruits, animal feed and animal origin products. Health problems including hepatotoxicity, nephrotoxicity, immunotoxicity, mutagenicity, among other have been related to this mycotoxin.^{1,3,6}

Patulin is a toxic compound produced by fungus of the genus *Penicillium*, *Aspergillus* and *Byssoschlamys*. *P. expansum* is the principal responsible for producing this toxic compound, which can be found in fruits, such as grapes, pears, peaches, and apples, and fruit-based products. It has been reported as immunotoxic, genotoxic and carcinogenic compound.^{1,3,7}

Fumonisin are mycotoxins that result from the metabolism of *Fusarium* species (principally *F. verticillioides* and *F. proliferatum*) and are most prevalent in maize. These compounds can also be found in asparagus, figs, garlic, millet, onions, pea, raisins, sorghum, and soybeans. Their toxicity affects the nervous system, respiratory system, digestive system, reproductive system and can cause systemic immunotoxicity.^{1,3}

Deoxynivalenol (DON) and their derivatives, nivalenol (NIV), T2 and TH2 are Trichothecenes produced by fungus of the genus *Fusarium*. DON is mainly produced by *F. colonarum* and *F. graminearum*, and can be found in products such as barley, maize, oats, rye and wheat. NIV results mainly of the metabolism of *F. colonarum*, *F. graminearum* and *F. tricinctum*, and its presence can be noticed in cereals such as barley, maize, oats, rye and wheat. T2 and TH2 are produced by *F. langsethiae* and *F. sporotrichioides* and occur in grain-based foods. This class of toxins can cause gastroenteritis, emesis, anorexia, growth problems and immunotoxicity.^{1,8}

Zearalenone is also produced by *Fusarium* fungi (mainly *F. culmorum* and *F. graminearum*) and can occur in products such as bread, breakfast cereals, fine bakery and grain milling products. These mycotoxins are related to systemic toxicity.^{1,9}

Citrinin is a mycotoxin that can be detected in beans, fruits, vegetables, herbs, and spices. It is produced by fungi of the genus *Aspergillus* (*A. niger*), *Monascus* (*M. purpureus*) and *Penicillium* (*P. expansum*).¹

Ergot Alkaloids are mycotoxins produced by *Claviceps* species (principally *C. purpurea*) and can contaminate seeds and cereal products such as barley, oats, rye, triticale, and wheat, among others.^{1,3}

Depending on the concentration of mycotoxins ingested and the frequency of ingestion, these toxins can cause acute and chronic toxic effects on human health. These effects can be aggravated and dangerous if more than one mycotoxin is ingested, because of the synergistic or potentiating toxic effects.^{10,11}

Production of these toxic compounds depends on many factors such as temperature, humidity, insect damage in crops, nutrients, and concentration of the fungal.^{2,12}

Mycotoxins can contaminate food and feed in many phases of the food chain, and this contamination can occur pre-harvest (by crop contamination with fungi in the field) or post-harvest (during storage, transportation, and industrial food processing).¹⁵ These compounds are very stable and resistant to degradation², so good agricultural and manufacturing processes, industrial or home food processing are not enough to eliminate them.¹⁵

3. Ergot Alkaloids

Ergot Alkaloids (EAs) are secondary metabolites commonly produced by fungi of the *Claviceps* genus. Production of these compounds depends on geographic region, being *C. purpurea* the main responsible for its production in Europe.^{1,14} Beyond this, the production of EAs depends on multiple factors such as the type of fungi and plants, the concentration of fungus, temperature, humidity, and nutrients, among others, being those related to climatic conditions the most influential because EAs production is favored in wet soils and rainfall conditions.^{15,16,17}

The presence of this toxic compound is noticed essentially in seed and cereals products such as rye, wheat, barley, triticale, oat, and millet, of which rye, triticale and barley are the most affected ones.^{1,18}

To date more than 80 EAs are known and can be divided into 3 main groups: clavine type (hydroxyl- and dehydro- derivatives of 6,8-dimethylergoline), simple lysergic acid amines, and peptide type (which have an additional cyclic tripeptide linked through an amide bond to the lysergic acid).^{10,17} All EAs have an ergoline ring as the main structure and a nitrogen atom at position 6 (that can be methylated in some structures), differing in the substitution on C8 position of the ergoline ring, and the possession of a double bond between C8 and C8 or C9 and C10.^{16,17} EFSA published a scientific opinion on Ergot Alkaloids in food and feed where Clavine type are described as the most common and toxic EAs, being Ergometrine, Ergosine, Ergotamine, Ergocornine, Ergokryptine and Ergocristine and their -inine forms the most

important ones.⁴ The suffix -inine result of epimerization process of the C8 position of the ergoline ring to C8 (S)-configuration, corresponding the suffix -ine to the (R)-configuration.¹⁶

The epimerization process of Ergot Alkaloids is still not yet totally understood, but a bunch of factors that influence this process are known. Factors like temperature, humidity, light, pH and solvent characteristics can affect this process.^{14, 19, 20} Many studies reveal that temperature of -20 °C or lower, non protic solvents, the use of amber glass or aluminum foil can minimize the epimerization process.^{14, 19, 21}

Epimerization can occur rapidly, especially in aqueous solutions, and the conversion on -inine forms can also convert back into -ine forms or vice versa.¹⁷ Some studies evaluated the activity of the -inine forms and concluded that this form is biologically active^{19, 22}, despite -ine forms be considered more active in what concerns to toxicity.²⁴

Because of all that, and because this phenomenon can occur on several occasions such as storage, food processing, pre-treatment procedures (extraction or clean-up), among others.²⁵ Panel on Contaminants in Food Chain (CONTAM) of EFSA suggests that all -ine and -inine forms must be quantified in order to avoid an underestimation of the total biological active EAs.⁴

4. Factor Associated with Contamination by Ergot Alkaloids

After infection of the host plant, fungal filamentous invade the ovule of the plant and colonize the whole ovary, after some weeks, when the wintering body of the fungus turns visible, the wintering body containing alkaloids is replaced on developing grain or seed.^{14, 16} This wintering body is known as Ergot body or Sclerotium which has a dark color and crescent tubular shape.^{17, 20} The content of Ergot Alkaloids in sclerotia depends on many factors such as the maturity of Ergot bodies, the fungal strain, the host plant, the geographical region, and the climatic conditions.^{16, 17, 20}

Sclerotia can be harvested together with grain, seeds, and grasses, resulting in contamination of food and feed cereal-based products. Ergot Alkaloid contamination can also occur in different phases of the food chain, once sclerotia can be broken during transportation, which facilitates their entrance in food chain.^{10, 20}

Nowadays a considerable amount (up to 80 %²¹) of EAs can be eliminated by effective cleaning milling techniques such as grading, sieving and sorting.¹⁴ However, this presence cannot be totally eliminated not even with fungicides, what makes its determination very relevant.²⁵

5. Toxicity and Mechanisms of action

Effects of Ergot Alkaloids consumption depend on the amount ingested and frequency of the ingestion and can vary from acute to chronic diseases, and in most several cases can cause death. These effects can be manifested in several forms once these compounds are known to interact with adrenergic, serotonergic, and dopaminergic receptors.²¹ One of the effects caused by excessive ingestion of EAs is vasoconstriction, mediated by α -adrenergic receptors interaction, which is characterized by cramps, swelling, red marks, necrosis, loss of extremities, and death. Interaction with serotonergic and dopaminergic receptors affects the central nervous system causing symptoms such as hallucinations, giddiness, formication, nausea, paralysis, psychosis, dementia, dizziness, pins and needles, limb seizure, and death.^{18, 22}

Intoxications by EAs are known as Ergotism, this condition is known since the Middle Ages when several intoxications occurred for ingestion of contaminated grains, flour, and bread.¹⁴ These intoxications were known as St. Anthony's Fire or Holy Fire because of the intensive pain caused by the vasoconstriction effect as well as the neurotoxic effects.¹⁶ There are two symptomatic forms of ergotism (gangrenous and convulsive), on the gangrenous form tingling effects are felt in peripheral tissues and can lead to loss of limbs, convulsive form is characterized by tingling followed by hallucinations, delirium, and epileptic-type seizures.²⁶

In recent days, Ergotism has been practically eliminated, however it remains an important veterinary issue.^{15, 19} Animals like cattle, horses, sheep, pigs and chicken are the most affected.²⁰ Infection can occur through consumption of contaminated feed.²¹ The excessive intake of Ergot Alkaloids can lead to a significant reduction of feed intake, dry matter digestibility, nitrogen retention and growth. Moreover, can also cause an interference in hormones activity inhibiting the pituitary prolactin secretion and stimulatory effect of estrogen in prolactin levels, what leads to a reduce on lactation performance or even the complete cessation of milk production. Behind that, interference with norepinephrine, dopamine and serotonin can lead to lameness, gangrene in extremities, absorption or, in several cases, death.^{10,}

²⁶

6. Legislation with focus on EU

Due to the health problems caused by mycotoxins, governmental authorities such as WHO, FAO and EFSA, are paying attention to these toxic compounds. Some controlling strategies have been reported by the authorities and levels of mycotoxins in foodstuffs have been established around the world, including for Ergot Alkaloids.

In Europe, the European Commission has established a maximum level for the most frequent mycotoxins in foodstuffs. In Commission Regulation (EU) no. 2023/915 of 25 April 2023 maximum levels mycotoxins, including for Ergot Sclerotia and Ergot Alkaloids are established in certain foodstuffs.²⁸ Levels established for EAs are compiled in Table 1.

Table 1. Maximum levels established for Ergot Alkaloids in food and foodstuffs (adapted from Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023)

Foodstuffs	Maximum Level (µg/kg)
Barley, wheat, spelt and oats products (ash content < 900 mg/100 g)	100 50 after 1 July 2024
Barley, wheat, spelt and oats products (ash content ≥ 900 mg/100 g) and products for the final consumer	150
Rye milling products and rye for the final consumer	500 250 after 1 July 2024
Wheat gluten	400
Baby foods for infants and young children	20

Although maximum level of 500 µg/Kg is established in European Union for EAs (Table 1), however in 1 July 2024 there will be a reduction of the maximum levels of EAs for some categories of foods, to provide a high level of human health protection. To safeguard the human and animal health, the CONTAM panel of EFSA establishes a group acute reference dose of 1 µg/Kg body weight and a group tolerable daily intake (TDI) for total Ergot Alkaloids of 0.6 µg/Kg of body weight/day.¹⁴

Limits established by the European Commission are more restrict when compared to other countries around the world. In 2004 FAO published “Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003” where legal mycotoxin limits can be accessed in several countries around the world.²⁹

Australia have established 500 mg/Kg for maximum limit for Ergot Alkaloids, which is extremely higher than the actual limits in Europe.²⁹ Limits in Canada are lower than the ones reported in Australia but are similar to the ones established in Europe with a limit of 0.1 mg/Kg.^{14,28} Limits in China are set at 0.01 % of the total EAs content in grains.³⁰ Regulations in Switzerland limited maximum levels of EAs in cereals to 100 µg/Kg.^{14,28}

7. Determination of Ergot Alkaloids

Determination of EAs is of great importance due to their prevalence in cereals and seeds and for all the health safety problems resulting from their ingestion. Due to the complexity of food matrices resulting from a high number of different compounds from different natures, and the varying concentrations of the different compounds, make it difficult to determine residual concentrations of Ergot Alkaloids.³¹ This leads to the need of an efficient and sensitive method for the determination and quantification of EAs below the legal limits.³²

To allow the possibility of monitoring and regulating these contaminants in seed and cereal based foods, many analytical techniques have been developed over the years to separate and quantify the main Ergot Alkaloids and their epimer forms. Nowadays, common determination follows several steps initiated by sampling procedures, extraction of the analyte, clean-up procedures, detection, and quantification.²²

Table 2 compiles the most relevant studies for determination of Ergot Alkaloids in food samples.

7.1. Sampling

Sampling is a crucial step in Ergot Alkaloids determination, once they are heterogeneously distributed on a lot, influencing the precision of the determination. In what concerns to cereal samples, matrices can contain tiny fragments of sclerotia or bulks of EAs, making sampling a step of higher importance.³³

For large storages, sampling should be taken from different locations and then blended. This mixture must be reduced to small particle sizes and homogenized, for a subsequent sample ben taken from this mixture for analysis.²²

To make sure that sampling procedures are well done and have comparable levels of performance among control laboratories, it is necessary to establish general criteria which the method of analysis should respect. So, the European Commission established the Commission Regulation EC No 401/2006 of 23 February 2006 where the methods of sampling and analysis for the official control of levels of mycotoxins in foodstuffs are described.³³

7.2. Sample Pre-treatment

Extraction is a step of greatest importance once is responsible for the separation of the analyte from the matrix, and sometimes can be followed by a clean-up procedure to

eliminate possible interferences on the analysis. This pre-treatment of samples is required not only to remove interferences, but to pre-concentrate the analytes.¹⁶

Some pre-treatment techniques such as Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QEChERS)^{16, 34, 35} procedures and solid-liquid extractions^{17, 23, 36} have been applied over the years to Ergot Alkaloids.

7.2.1. Extraction

On EAs determination, the choice of the extraction solvent and the extraction procedure are critical to obtain satisfactory results.²⁰ Factors such as EAs epimerization, extraction solvent volume, extraction time and evaporation temperature of the extraction solvent are critical for the extraction efficiency of the analyte.^{17, 19} Several extraction methods have been described over the years, such as liquid extraction (either liquid-liquid extraction (LLE) and solid-liquid extraction (SLE)) and Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QEChERS).¹⁷

Liquid extraction using organic solvent mixtures is the most frequent method and can be done either in alkaline or acidic conditions.^{14, 21, 23, 24} On one hand, extraction can be made with non-polar solvents (like dichloromethane, ethyl acetate, and methanol) in combination with ammonium hydroxide to obtain an alkaline pH, on the other hand polar solvents (like methanol and acetonitrile) can be mixed with dilute acid or buffer at a low pH.^{14, 21} Liquid-liquid extraction is mostly used with liquid samples (such as oils), what makes solid-liquid extraction the most used in EAs determination because samples are usually cereal and grains.³² However, this method has some disadvantages such as the fact of being time-consuming and sometimes uses a considerable volume of organic solvents, especially when the process involves extraction of many samples.⁴

Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QEChERS) procedure was originally applied to the recovery of pesticides residues in fruits.³⁷ Nowadays is used either in extraction or clean-up steps for mycotoxins determination, and as its name suggests is a cheap and fast method, because most times clean-up procedures and pre-concentration steps are not necessary for a good recovery.³⁴

In recent years techniques such as supercritical fluid extraction (SFE), pressurized liquid extraction, microwaved-assisted extraction (MAE) and accelerated solvent extraction (ASE) have been used for the extraction of contaminants from food. Despite all the advantages, these

techniques still have not been applied to Ergot Alkaloid determination once they are expensive and present high matrix effects.^{19,32}

7.2.2. Clean-up

The clean-up step is important because it reduces the quantity of material placed on to the column which can affect the chromatography, it reduces the quantity of material reaching the detector which has several effects on sensitivity, and it can offer the potential for concentration of the analyte and for changing of the solvent composition.²² Clean-up processes like liquid-liquid partitioning (LLP), solid-phase extraction (SPE), immunoaffinity columns (IAC) as well as QuEChERS have been described over the years.

Liquid-liquid partition (LLP) method works by adding an ammonium bicarbonate buffer to the extract to improve the transference of EAs to the non-polar solvent fraction. Polar matrix components are removed in the aqueous phase leading to a partially cleaned extract, however nonpolar matrix contaminants such as pigments, essential oils, and fatty acids, are co-extracted on the non-polar phase. To eliminate these contaminants, a lipid removal method can be applied. Removal of lipids can be made by using organic solvents (like methanol or acetone) during the washing step.^{17, 19} Once LLP is time-consuming, in recent years SPE has been preferred.²⁵

Solid-phase extraction (SPE) consists of the use of an extract where Ergot Alkaloids are dissolved as mobile phase and make them pass through a solid support (small columns named as cartridges) which consist in the stationary phase. Cartridges selectively bind the EAs while other compounds are removed with the solvent, then EAs are recovered by elution with a different organic solvent as final step. A washing step, before the EAs elution, can be applied to eliminate possible interferents that might also be adsorbed in the stationary phase. At the final step, choice of the elution solvent is of great importance because a strong chemical affinity between the solvent and the EAs is needed.³⁸ Many SPE clean-up methods based on different cartridges can be used for EAs determination, including basic alumina cartridges¹⁹, C18 reverse phase³⁹, strong cation Exchange (SCX)²⁵, and immunoaffinity cartridges⁴⁰. In this method factors such as the type of sorbent, elution sorbent and dilution factors are important to be taken into account.⁵

Matrix solid-phase dispersion (MSPD) has been developed in order to simplify the SPE procedure, the main difference between the typical SPE to MSPD is that this technique does not need cartridges to mix samples and adsorbent. This technique has been applied in many cereal matrices for multimycotoxin determination, and the efficiency of this procedure depends

on many factors such as type and amount of dispersing phase, amount of sample and nature and volume of eluting solvents.^{5,34}

Immunoaffinity columns (IAC) are composed by an activated solid phase support, bound to a specific antibody. This method uses specific antibodies for mycotoxins providing separation of the analyte from matrix contaminants by selectively binding EAs to the column antibodies, interferences and co-extracted matrix components are removed by a washing step. At the end, EAs are eluted with a miscible solvent, removing them from the immunoaffinity column. This method has some advantages such as a total removal of the interferences and a limited mycotoxin loss. However, commercial IACs have several disadvantages such as low recoveries, expensive costs, is time consuming, and uses toxic solvents.^{35,36}

The Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) method consists of extraction with organic solvents in presence of salts such as sodium chloride (NaCl) and magnesium sulfate (MgSO₄) in order to remove water and polar interferences. A subsequent purification step by Solid Phase Extraction (SPE) can be applied. The purification step by SPE is used to retain co-extracted matrix compounds and are frequently made using primary secondary amine (PSA) or C18 cartridges.²²

A Dispersive primary secondary amide solid-phase extraction (PSA-SPE) method has been applied in EAs determination, and is similarly to the SPE procedure, differing in the fact of the sorbents are not held in a cartridge but added directly to the extract, and then mixed and removed by filtration. The PSA phase is a weak anion exchanger that adsorbs hydrogen bonds forming co-extractives from the matrix.²²

7.3. Analytical Methods

Many methods have been reported for Ergot Alkaloids determination, such as liquid chromatography (LC), Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), Capillary electrophoresis (CE), Gas chromatography (GC), and thin layer chromatography (TLC).^{16,17} Gas chromatography is usually coupled with electron capture detection (ECD), liquid chromatography can be coupled with different detectors, such as ultraviolet light (UV), fluorescence detector (FLD), evaporative light scattering detector (ELSD), and mass spectrometry (MS).^{15, 17, 36}

Chromatographic methods are based on the separation of components depending on their affinity to a mobile or stationary phase. These different affinities make different movements in the column, leading to a possible separation of the compounds.⁵ This method

makes possible the determination of the major EAs individually and to sum them in order to obtain the total Ergot Alkaloid content, however this requires a lot of standards making this process costly. A more cost-effective approach is to transform the EAs into a common structure before the analyses, what can be achieved by a hydrolysis process where EAs and their epimers are cleaved to an uniform lysergic acid hydrolyze.⁴²

Since EAs are non-volatile and can decompose in the injector once they are susceptible to heat, gas chromatographic (GC) techniques have become less applied to these compounds. On the other hand, liquid chromatographic methods are commonly used for polar, non-volatile or thermally labile mycotoxins, such as EAs.^{19,21}

Liquid chromatographic methods such as thin layer chromatography (TLC), high-performance liquid chromatography (HPLC) and ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC) have been applied for EAs determination. With the technological advances UHPLC shown to be rapid and efficient for compounds separation, what can be justified for the use of columns packed with submicron particles, making this technique more applied to mycotoxin determination.^{4,36} In what respects to detectors, UV was used for EAs quantification, however UV light conduct to epimerization process, interfering on quantification, so FLD detectors started to be applied, not only to offer more specificity and sensitivity but because some EAs are naturally fluorescent, however mass spectrometry detectors have become widely used for EAs quantification.²⁰ In recent years, mass spectrometry (MS) has become the standard detection procedure to EAs determination and quantification. In this procedure, EAs are ionized in an electrospray interface (ESI) to produce a protonated molecular ion that, together with the collision gas, will be fragmented into a final ionized product that can be identified and detected.²²

Although chromatographic methods are important for official and reference laboratories to control EAs concentration, seems to be necessary the development of a fast and cost-effective test system for application in the production locations to make a primary screening for Ergot Alkaloids. In this sense, Enzyme-linked-Immunosorbent assay (ELISA) has been applied as solid basis for a rapid and sensitive screening of Ergot Alkaloids. This method is based between the interaction of the mycotoxin with antibodies marked with a conjugate toxin-enzyme, binding of the mycotoxin to the conjugate produces color depending on the amount of binding. In this method there are a particularly important factor, namely the position of the conjugation on the Ergot Alkaloid molecule to a protein used for the immunization.⁴² It

is important to notice that ELISA cannot be used for confirmatory analysis, it only can be used as a screening method.²⁰

In recent years Ion-mobility (IM) have been applied to the analysis of residues and contaminants in food matrices, and seems to be a powerful analytical separation technique due to the advantages when integrated with traditional analytical methods, once reduce the matrix effects improving sensitivity and providing high quality for compound identification. This technique consists in a gas-phase technique in which ionized molecules are separated in a carrier buffer gas through the mobility cell. This separation is based on their mobility through the mobility cell, this mobility depends on factors such as size, shape and charge, factors that lead to a slower or faster movement allowing to separation. This process occurs under an electric field at atmospheric pressure (or near).³¹

All over the years, incorporation of detection of Ergot Alkaloids in multi-mycotoxin analysis has been increasing due to its importance to guarantee the safety for cereals and cereal based products. Simultaneous analysis for a large range of mycotoxins makes it impossible to implement a specific method, so a basic and simple procedure must be used, however can lead to significant matrix interferences.²²

Table 2. Analytical techniques for quantification of Ergot Alkaloids.

Sample (n)	EAs Tested	Extraction	Clean-up	Analytical Technique	LOD and LOQ (µg/Kg)	Recovery (%)	RSD (%) Intra-day (inter-day)	Study Conclusions	Year	Ref.
Rye Flour (34)	Eco	Extraction Solution: MeOH:0.013 M aq.H ₃ PO ₄ (70:30 v/v)	SPE-SCX	HPLC-FLD <u>Analytical Column:</u> X-Terra MS C18 (250 x 3.0 mm; 5 µm) <u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase A: ACN:aq. 0.01 M (NH ₄) ₂ CO ₃ adjusted to pH 9.6 with 0.5 M NaOH (1:4 v/v) Injection Volume: 20 µL Column Temperature: 25 °C λ Excitation: 240 nm λ Emission: 410 nm	LOD: 0.2-1.1 LOQ: 0.7-3.6	58-65	8.4- 12.0	EAs were found in 32 samples and the most common EAs were Ergotamine (level of contamination: ND-390 µg/Kg) and α-Ergocryptine (level of contamination: ND-4.6 µg/Kg).	2008	25
	Ecr	EAs were extracted at room temperature for 30 min, then the extract was centrifuged for 10 min at the same temperature. After the centrifugation, the extract was applied to the SPE column with a flow of 2 mL/min on the clean-up step.								
	α-Ekr									
	Eno									
	Et									
Barley	Et	Extraction Solution: ACN/(NH ₃) ₂ CO ₃ (84:16, v/v) Samples were extracted by shaken with the extraction solution and centrifuged at 1500 rpm at 4 °C for 30 min.	SPE-PSA	LC-MS/MS <u>Analytical Column:</u> Gemini RP-C18 (2 x150 mm, 5 µm) <u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase A: (NH ₄) ₂ CO ₃ Mobile Phase B: ACN Injection Volume: 10 µL Column Temperature: 30 °C Autosampler Temperature: 15 °C	LOD: 0.02-1.20 LOQ: 0.17-2.78	91-121	-	Extraction and analytical conditions applied in the study able to maximize EAs recovery, while minimizing epimerization.	2008	43
	Etn									
	Es									
	Esn									
	Eco									
	Econ									
	Ekr									
	Ekrn									
Em										
Emn										
Ecr										
Ecrn										
Rye										

Rye Flour (22)	Eco	Extraction Solution: EtOAc/MeOH/NaOH (75:5:7, v/v/v)	SPF with basic alumina	HPLC-FLD <u>Analytical Column:</u> Gemini C6- phenyl (250 x 4.6 mm, 5 µm) <u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase: ACN/NH ₄ CO ₂ :NH ₂ (50:50 v/v) Column Temperature: 30 °C λ Excitation: 315 nm λ Emission: 415 nm	LOD: 0.02-1.10 LOQ: 0.09-3.30	89.3-99.8	2.8-12.4	EAs were found in all samples being Ergocristine (level of contamination: 14.6-152.5 µg/Kg) and Ergotamine (level of contamination: 4,3- 132.9 µg/Kg) the major alkaloids in rye flour and course meal samples. On rye samples ergotamine was not as important as in the other samples being Ergocristine (level of contamination: 0.0-58.9 µg/Kg) the most present in this samples.	2008	19
	Econ									
Rye Course Meal (7)	Ecr	Samples were extracted with the extraction solution by turbulent shaking for 45 min and centrifuged (5000 rpm) for 20 min at 10 °C. Then the extract was transferred on a basic alumina cartridge for clean-up step.	SPE	UPLC-MS/MS <u>Analytical Column:</u> Acquity BEH C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) <u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase A: ACN Mobile Phase B: (NH ₄) ₂ CO ₃ Injection Volume: 10 µL Source Temperature: 150 °C Desolvation Temperature: 500 °C Desolvation and Cone Gas: Nitrogen	LOD: - LOQ: 0.01-10.0	59-130	1.3-13.9	This method provided the determination of low levels of EAs in both samples.	2010	26
	Ecrn									
	α-Ekr									
	α-Ekrn									
	Em									
	Emn									
	Es									
Rye Flakes (3)	Esn	Extraction Solution: ACN:(NH ₄) ₂ CO ₃ (84:16, v/v)	SPE	UPLC-MS/MS <u>Analytical Column:</u> Acquity BEH C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) <u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase A: ACN Mobile Phase B: (NH ₄) ₂ CO ₃ Injection Volume: 10 µL Source Temperature: 150 °C Desolvation Temperature: 500 °C Desolvation and Cone Gas: Nitrogen	LOD: - LOQ: 0.01-10.0	59-130	1.3-13.9	This method provided the determination of low levels of EAs in both samples.	2010	26
	Et									
Rye	Etn	Samples were extracted by shaken in horizontal shaker with the extraction solution for 1h at 250 rpm, then the extract was filtered and transferred to a glass tube for the clean-up step.	SPE	UPLC-MS/MS <u>Analytical Column:</u> Acquity BEH C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) <u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase A: ACN Mobile Phase B: (NH ₄) ₂ CO ₃ Injection Volume: 10 µL Source Temperature: 150 °C Desolvation Temperature: 500 °C Desolvation and Cone Gas: Nitrogen	LOD: - LOQ: 0.01-10.0	59-130	1.3-13.9	This method provided the determination of low levels of EAs in both samples.	2010	26
	Em									
	Es									
	Eco									
	Ekr									
Wheat	Et	Extraction Solution: ACN:(NH ₄) ₂ CO ₃ (84:16, v/v)	SPE	UPLC-MS/MS <u>Analytical Column:</u> Acquity BEH C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) <u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase A: ACN Mobile Phase B: (NH ₄) ₂ CO ₃ Injection Volume: 10 µL Source Temperature: 150 °C Desolvation Temperature: 500 °C Desolvation and Cone Gas: Nitrogen	LOD: - LOQ: 0.01-10.0	59-130	1.3-13.9	This method provided the determination of low levels of EAs in both samples.	2010	26
	Ecr									
Wheat	Econ	Extraction Solution: ACN:(NH ₄) ₂ CO ₃ (84:16, v/v)	SPE	UPLC-MS/MS <u>Analytical Column:</u> Acquity BEH C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) <u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase A: ACN Mobile Phase B: (NH ₄) ₂ CO ₃ Injection Volume: 10 µL Source Temperature: 150 °C Desolvation Temperature: 500 °C Desolvation and Cone Gas: Nitrogen	LOD: - LOQ: 0.01-10.0	59-130	1.3-13.9	This method provided the determination of low levels of EAs in both samples.	2010	26
	Econ									

Grass Silages (9)	Ekrrn	<p>QueChERS</p> <p>Samples were homogenized, centrifuged, added to an extraction solution of 0.1 % CH₂O₂: DI-H₂O and mixed for 3 min. A time up of 10 min was applied, and then ACN was added to the mixture and vigorously shaken for 3 min. Finally, a mixture of salts was added and the mixture shaken for 3 min again.</p> <p>Salts: MgSO₄ and NaCl</p>	PSA	<p>UPLC-Orbitrap@MS</p> <p><u>Analytical Column:</u> Acquity UPLC HSS T3 (100 x 2.1 mm, 1.8 µm)</p> <p><u>Analytical Conditions:</u></p> <p>Mobile Phase A: 5 mM NH₄HCO₂ 0.1% : CH₂O₂:H₂O</p> <p>Mobile Phase B: 5 mM NH₄HCO₂ 0.1%:CH₂O₂:CH₃OH</p> <p>Injection Volume: 5 µL</p> <p>Column Temperature: 40 °C</p> <p>Flow Rate: 300 mL/min</p> <p>Capillary Temperature: 250 °C</p> <p>Heater temperature: 250 °C</p> <p>Capillary Voltage: + 60/ -50V</p> <p>Spray Voltage p4/3.1 kV</p>	<p>LOD: -</p> <p>LOQ: 1.0-2.5</p>	<p>64.1-93.4</p> <p>4.4-9.6</p>	<p>2012</p> <p>34</p>	<p>QueChERS extraction together with UHPLC-Orbitraps MS was confirmed to be an accurate, precise, and sensitivity methodology for the detection of 32 mycotoxins.</p>
	Ecrn							
	Es							
	Eco							
	Ekrr							
	Ecr							
Barley	Et	<p>LLE</p> <p>Extraction solution: EtOAc:MeOH:NH₄ HCO₃ (pH 8.5) (62.5:25:12.5, v/v/v)</p> <p>Samples were mixed with the extraction solution and extracted by shaking on a shaker for 30 min and centrifuged. A separation phase was induced by adding (NH₄)₂SO₄.</p>	MIP-SPE	<p>Lc-MS/MS</p> <p><u>Analytical Column:</u> X-Bridge, C18 (2.1 x 150 mm, 3.5 µm)</p> <p><u>Analytical Conditions:</u></p> <p>Mobile Phase A: H₂O/NH₄HCO₃/MeOH (85:5:10, v/v)</p> <p>Mobile Phase B: H₂O/NH₄HCO₃/MeOH (5:5:90, v/v/v)</p>	<p>LOD: <1</p> <p>LOQ: 0.1-10.0 v/v/v</p>	<p>65-79</p> <p>6.0-15.0</p>	<p>2012</p> <p>21</p>	<p>It was successful in comparison with traditional clean-up, having good recoveries, reduced matrix effect for most compounds and low detection limits solvents, and reusability.</p>
	Etrn							
	Eco							
	Econ							
	Ekrr							
	Ekrrn							
	Ecr							
	Ecrn							
Es								

		Esn																
		Em																
		Emn																
Corn (18)	Eco																	
	Ecr																	
	Ekr																	
Rice (6)	Ecr																	
	Ekr																	
Wheat (16)	Ecr																	
	Ekr																	
Almond (9)	Em																	
	Es																	
Peanut (11)	Em																	
	Es																	
Pistachio (10)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	
	Es																	
Rye Grain (46)	Em																	

Rye Flour (9)	Esn	<p>Extraction Solution: ACN/H₂O (84:16, v/v)</p> <p>EAs were extracted at room temperature by adding the extraction solution to the sample and shaken for 1 h using a horizontal shaker and then centrifuged at 2605 xg for 10 min at 20 °C, after the clean-up step.</p>	SPE: Na+-SCX	<p>HPLC-FLD</p> <p><u>Analytical Column:</u> Phenomenex Luna phenyl-hexyl (250 x 4.6 mm, 5 µm)</p> <p><u>Analytical Conditions:</u> Column Temperature: 30 °C Injection Volume: 20 µL Flow Rate: 0.3 mL/min Mobile Phase A: H₂O/(NH₄)₂CO₃ Mobile Phase B: ACN λ Excitation: 330 nm λ Emission: 415 nm</p>	<p>Injection Volume: 5 µL Flow Rate: 0.3 mL/min Column Temperature: 30 °C ESI (+) Source Temperature: 120 °C Desolvation Temperature: 300 °C Capillary Voltage: 3.5 kV Gas: Nitrogen Cone Gas Flow: 20 L/h Desolvation Gas Flow: 500 L/h</p>	<p>LOD: 0.3-0.8 LOQ: 0.7-2.0</p>	<p>80-120</p>	<p>5.1-10.5</p>	<p>EAS in Wheat germ oil samples indicate lower contents compared to rye flour samples. Ergocornine and Ergocristine were the most frequent EAs, being α-Ergokryptinine and Ergocristinine the ones with higher content levels (2.2-39.0 µg/Kg and 2.5-24.8 µg/Kg respectively)</p>	<p>2013</p>	<p>45</p>
	Etrn										
	Econ										
	Ekrn										
	Ecrn										
Wheat Germ Oil (7)	Eco	<p>Extraction Solution: (CH₃)₂CO</p> <p>Samples were mixed at room temperature with the extraction solution for 20 s by vortex after the clean-up step.</p>				<p>LOD: 0.2-0.8 LOQ: 0.7-2.0</p>	<p>71-96</p>	<p>1.5-5.0</p>			
	Econ										
	Em										
	Emn										
	Ecr										
	Ecrn										
	α-Ekr										
α-Ekrn											
Es											
Esn											
Et											
Etrn											

Rye Feed	Es	<p>Extraction Solution: HCL</p> <p>Samples were extracted with HCl and gently stirred for 1h at room temperature. Then the mixture were centrifuged at 13000 rpm for 2 min at room temperature.</p>	<p>LC-QTOF-MS</p> <p><u>Analytical Column:</u> Zorbax Eclipse Plus C18 column (2.1 x 100 mm, 1.8 μm)</p> <p><u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase A: water/0.1 % CH₂O₂ Mobile Phase B: ACN/0.1 % CH₂O₂ Flow Rate: 0.3 mL/min Column Temperature: 45 °C Injection Volume: 5 μL ESI (+) Gas Temperature: 275 °C Gas Flow: 8 L/min Nebulizer Pressure: 40 psi Sheath Gas Temperature: 325 °C Sheath Gas Flow: 1 L/min Capillary Voltage: 3500 V Fragmentor Voltage: 110 V Skimer Voltage: 65 V</p>					<p>The aptamer-functionalized silica gels could successfully be used to extract Ergosine, Ergokryptine and Ergocormine from samples. Although aptamers were mainly developed for sensing purposes, this study shows that it is also possible to use aptamers for the specific extraction of compounds.</p>	2014	46
	Ekr									
	Eco									
Rye Flour (34)	Ern	<p>Extraction Solution: ACN: 2 mM (NH₄)₂ CO₃ (84:16, v/v)</p> <p>Samples were homogenized with the extraction solution for 2 min and then centrifuged for 10 min at 10730 xg. Supernatant was transferred into a separatory funnel and extracted with n-</p>	<p>LC-IT-MS/MS</p> <p><u>Analytical Column:</u> 150/2 Nucleodur® Sphinx RP 1.8 μm</p> <p><u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase A: (NH₄)₂CO₃ Mobile Phase B: ACN Column Temperature: 50 °C ESI (+)</p>	<p>LOD: 0.2-0.5 LOQ: 1.0-3.0</p>	63.0-104.6	18	<p>EAs were found in 83 % of the tested rye grain, 94 % of rye flour and 100 % rye bran and flake samples. Ergotamine (level of contamination: 0.6-17.2 μg/Kg) was the most abundant EA,</p>	2014	23	
Rye Bran (12)	Emn									
	Eco									
	Econ									
	Et									
	Etn									
	Es									
	Esn									
	Ecr									
	Ecrn									

Rye Flakes (1)	Ekr	hexene to eliminate fats. Then the extract proceed to the clean-up step.	Nebulising Gas: Nitrogen Nebulising Gas Flow: 25 AU Make-up Gas: Nitrogen Make-up Gas Flow: 10 AU Capillary Bias: 34 V Nebuliser Bias: 5 kV Capillary Temperature: 260 °C Ion Source: 80 µA				and Ergocorminine (level of contamination: 0.5-42.7 µg/Kg) was the least abundant EA		
	Ekrn								
Rye Flour (9)	Acl	<p>UPLC-MS/MS</p> <p><u>Analytical Column:</u> BEH C18 (100 mm x 2.1 mm, 1.7 µm)</p> <p><u>Analytical Conditions:</u> Column Temperature: 30 °C Flow Rate: 0.2 mL/min Injection Volume: 5 µL Mobile Phase A: ACN Mobile Phase B: aq. (NH₄)₂CO₃ ESI (+) Source Temperature: 150 °C Desolvation Gas Temperature: 500 °C Desolvation Gas Flow: 700 L/h Collision Pressure: 3.1 x 10⁻³ mbar Capillary Voltage: 2.5 kV Cone Voltage: 30 V</p>	<p>UPLC-MS/MS</p> <p><u>Analytical Column:</u> BEH C18 (100 mm x 2.1 mm, 1.7 µm)</p> <p><u>Analytical Conditions:</u> Column Temperature: 30 °C Flow Rate: 0.2 mL/min Injection Volume: 5 µL Mobile Phase A: ACN Mobile Phase B: aq. (NH₄)₂CO₃ ESI (+) Source Temperature: 150 °C Desolvation Gas Temperature: 500 °C Desolvation Gas Flow: 700 L/h Collision Pressure: 3.1 x 10⁻³ mbar Capillary Voltage: 2.5 kV Cone Voltage: 30 V</p>	<p>LOD: 0.05-0.2 LOQ: 0.2-0.5</p>	<p>76.5-120.0</p>	<p><15</p>	<p>13 -ine and -inine EAs were found in 2 rye and 3 whole wheat flour samples purchased on the internet. Ergosine (contamination level: 2.4-30.4 µg/Kg), Ergotamine (contamination level: 3.3-15.1 µg/Kg) and Ergocristine (contamination level: 2.0-593.0 µg/Kg) were the most frequent EAs, being Ergocristine the one that presents higher content levels.</p>	<p>2016</p>	<p>17</p>
	Fcl								
	Ecl								
	Chcl-I								
	Erg								
	Ls								
	DLs								
	DErg								
	DEcon								
	DEtn								
DEcrn									
DEkrrn									
Wheat Flour Noodles (52)	Emn	<p>Extraction Solution: ACN/(NH₄)₂CO₃ (85:15, v/v)</p> <p>Samples were mixed with the extraction solution and shaken for 30 s, vortexed for 30 s and centrifuged for 5 min. Then the supernatant was vortexed for 5 min with C18 sorbent for purification.</p>	<p>SPE Sorbent: C18</p>	<p>LOD: 0.05-0.2 LOQ: 0.2-0.5</p>	<p>76.5-120.0</p>	<p><15</p>	<p>13 -ine and -inine EAs were found in 2 rye and 3 whole wheat flour samples purchased on the internet. Ergosine (contamination level: 2.4-30.4 µg/Kg), Ergotamine (contamination level: 3.3-15.1 µg/Kg) and Ergocristine (contamination level: 2.0-593.0 µg/Kg) were the most frequent EAs, being Ergocristine the one that presents higher content levels.</p>	<p>2016</p>	<p>17</p>
	Esn								
	Econ								
	Etn								
	Es								
	Eco								
	α-Ekr								
	α-Ekrrn								
	β-Ekr								
	Etn								
Et									
Ecrn									
Ecr									
Breads (19)		<p>Extraction Solution: ACN/(NH₄)₂CO₃ (85:15, v/v)</p> <p>Samples were mixed with the extraction solution and shaken for 30 s, vortexed for 30 s and centrifuged for 5 min. Then the supernatant was vortexed for 5 min with C18 sorbent for purification.</p>	<p>SPE Sorbent: C18</p>	<p>LOD: 0.05-0.2 LOQ: 0.2-0.5</p>	<p>76.5-120.0</p>	<p><15</p>	<p>13 -ine and -inine EAs were found in 2 rye and 3 whole wheat flour samples purchased on the internet. Ergosine (contamination level: 2.4-30.4 µg/Kg), Ergotamine (contamination level: 3.3-15.1 µg/Kg) and Ergocristine (contamination level: 2.0-593.0 µg/Kg) were the most frequent EAs, being Ergocristine the one that presents higher content levels.</p>	<p>2016</p>	<p>17</p>

Wheat (13)	Et	SO-LLE Sample was mixed with water and shaken by vortex for 10 s. 10 mL 5 % formic acid was added to the mixture and shaken by vortex for 2 min. Salts were added to the mixture and vigorously shaken by hand for 1 min and vortexed for 2 min. Then occur a centrifugation step, and the supernatant was transferred to a tube for posterior UPLC analysis. Salts: MgSO ₄ and NaCl	<p style="text-align: center;">UHPLC-MS/MS</p> <p><u>Analytical Column:</u> ACQUITY HSS UPLC T3 (150 mm x 2.1 mm, 1.8 µm)</p> <p><u>Analytical Conditions:</u> Mobile Phase A: CH₂O₂/HCO₂NH₄ Mobile Phase B: MeOH/CH₂O₂/HCO₂NH₄ Flow Rate: 0.3 mL/min Column Temperature: 30 °C Injection Volume: 10 µL ESI (+) Source Temperature: 150 °C Nebulizer Gas: Nitrogen Source Voltage: 50 V Cone Gas Flow: 150 L/h Desolvation Gas Temperature: 400 °C Desolvation Gas Flow Rate: 1000 L/h</p>	LOD: 1.57-2.97 LOQ: 5.19-9.79	61.5-79.8	1.8-9.0	This method provided a successful quantification of 23 mycotoxins. In what concerns to EAs, wheat samples presented highest levels of contamination. EAs were found in 10 of 13 analyzed wheat samples being the some of the EAs content of 200 µg/Kg	2018	11
	Em								
	Ecr								
	Ekr								
	Eco								
	Es								
	Etn								
	Emn								
	Ecrn								
	Ekrn								
	Econ								
	Esn								
	Wheat Bread (19)			Em	Extraction Solution: H ₂ O /MeOH/ CH ₂ O ₂ (60:40:0.4, v/v/v) Samples were extracted for 30 min on a rotary tumbler and centrifuged for 15 min at	<p style="text-align: center;">LC-MS/MS</p> <p><u>Analytical Column:</u> Waters Acquity BEH C18 (2.1 x 150 mm, 1.7 µm)</p> <p><u>Analytical Conditions:</u> Column Temperature: 50 °C</p>			
Emn									
Es									
Et									
Eco									
Rye Bread (5)	α-Ekr	Ultrafiltration over a 30 kD ultrafilter							
	Ekr								

Wheat-Rye Bread (12)	Ecr	3000 xg after the clean-up step.	<p>Flow Rate: 0.4 mL/min Mobile Phase A: (NH₄)₂CO₃ Mobile Phase B: ACN ESI (+) Capillary Voltage: 3 kV Cone Voltage: 30 V Source Temperature: 150 °C Desolvation Temperature: 600 °C Cone Gas Flow: 150 L/h Desolvation Gas Flow: 800 L/h Gas: Argon</p>	<p>was between 15.0-95.3 µg/Kg. The 6 major alkaloids and their epimers were present in 98% of the samples. Ergotamine and Ergosine were the predominant EAs, present in almost all samples and on the highest levels.</p>								
	Es											
Etn												
Econ												
α-Ekrn												
Ecrm												
Chcl												
Erg												
Ecl												
Ls												
Ergn												
Fcl												
Acl												
Multigrain Bread (4)	Em	<p>3000 xg after the clean-up step.</p> <p>Extraction Solution: ACN/(NH₄)₂CO₃ (85:15, v/v)</p> <p>Sample was added to the extract solution and vortex for 1 min and centrifuged for 5 min (9000 rpm) at 4 °C. Then the supernatant was transferred to a falcon tube containing a mixture of sorbents for the clean-up step.</p>	<p>UHPLC-MS/MS Analytical Column: Agilent Zorbax Eclipse Plus RRHD C18 (50 x 2.1 mm, 1.8 µm) Analytical Conditions: Mobile Phase A: H₂O with 0.3 % of CH₂O₂ Mobile Phase B: MeOH with 0.3 % of CH₂O₂ Column Temperature: 35 °C Flow Rate: 0.3 mL/min Injection Volume: 5 µL ESI (+) Source Temperature: 500 °C Collision Gas: Nitrogen (5 psi) Ion Spray Voltage: 5 kV Curtain Gas: Nitrogen (30 psi) Nebulizing Gas: Nitrogen (50 psi) Drying Gas: Nitrogen (50 psi)</p>	<p>12 of the 60 samples were positive for EAs, being wheat the most contaminated matrix with an incidence of 26.7 %. On the other hand, in barley, the incidence was 13.3 %.</p>								
	Es											
Et												
Eco												
Ekr												
Ecr												
Emn												
Esn												
Etn												
Econ												
Ekrn												
Wheat (30)	Em										<p>3000 xg after the clean-up step.</p> <p>Extraction Solution: ACN/(NH₄)₂CO₃ (85:15, v/v)</p> <p>Sample was added to the extract solution and vortex for 1 min and centrifuged for 5 min (9000 rpm) at 4 °C. Then the supernatant was transferred to a falcon tube containing a mixture of sorbents for the clean-up step.</p>	<p>UHPLC-MS/MS Analytical Column: Agilent Zorbax Eclipse Plus RRHD C18 (50 x 2.1 mm, 1.8 µm) Analytical Conditions: Mobile Phase A: H₂O with 0.3 % of CH₂O₂ Mobile Phase B: MeOH with 0.3 % of CH₂O₂ Column Temperature: 35 °C Flow Rate: 0.3 mL/min Injection Volume: 5 µL ESI (+) Source Temperature: 500 °C Collision Gas: Nitrogen (5 psi) Ion Spray Voltage: 5 kV Curtain Gas: Nitrogen (30 psi) Nebulizing Gas: Nitrogen (50 psi) Drying Gas: Nitrogen (50 psi)</p>
	Es											
Et												
Eco												
Ekr												
Ecr												
Emn												
Esn												
Etn												
Econ												
Ekrn												
Barley (30)	Em	<p>3000 xg after the clean-up step.</p> <p>Extraction Solution: ACN/(NH₄)₂CO₃ (85:15, v/v)</p> <p>Sample was added to the extract solution and vortex for 1 min and centrifuged for 5 min (9000 rpm) at 4 °C. Then the supernatant was transferred to a falcon tube containing a mixture of sorbents for the clean-up step.</p>	<p>UHPLC-MS/MS Analytical Column: Agilent Zorbax Eclipse Plus RRHD C18 (50 x 2.1 mm, 1.8 µm) Analytical Conditions: Mobile Phase A: H₂O with 0.3 % of CH₂O₂ Mobile Phase B: MeOH with 0.3 % of CH₂O₂ Column Temperature: 35 °C Flow Rate: 0.3 mL/min Injection Volume: 5 µL ESI (+) Source Temperature: 500 °C Collision Gas: Nitrogen (5 psi) Ion Spray Voltage: 5 kV Curtain Gas: Nitrogen (30 psi) Nebulizing Gas: Nitrogen (50 psi) Drying Gas: Nitrogen (50 psi)</p>	<p>12 of the 60 samples were positive for EAs, being wheat the most contaminated matrix with an incidence of 26.7 %. On the other hand, in barley, the incidence was 13.3 %.</p>								
	Es											
Et												
Eco												
Ekr												
Ecr												
Emn												
Esn												
Etn												
Econ												
Ekrn												

According to Table 2 C18 columns, especially BEH C18 (2.1 × 100 mm, 1.7 µm), have been the most frequently used for EAs determination. The lowest LODs were achieved when LC-MS/MS was used employing a RP-C18 (2 × 150 mm, 5µm) analytical column being the values between 0.02-1.20 µg/Kg.

From analysis of Table 2 we can also conclude that the most prevalent EAs vary according to the type of sample under analysis, but prevalence of Ergotamine, Ergocristine and Ergosine is notorious in almost all types of samples.

In what concerns to individual alkaloid content, Ergocristine and Ergosine appear as the ones with higher levels. Relatively to the analyzed samples, some of them presented values above the limits established in European Union, being rye products those samples surpassing the limits more often.^{17, 19, 25, 44}

8. Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) notifications

In European Union, a safety tool named Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) was established in order to facilitate the rapid notification and response in case of risk for human health related to Food and Feed.⁴⁷ This is an important tool once shares rapid information about direct or indirect risk to human between the Member States, the Commission and the Authority.⁴⁸

When a member state identifies a risk and report to RASFF, this first notification is received by the European Commission, which verifies the notification and immediately transmit to the other members allowing them to take the necessary actions.⁴⁹

In Table 3 all RASFF generated notifications to date have been compiled.

Table 3. RASFF notifications due to Ergot Alkaloids contamination

Date	Product	Origin Country	Notifying Country	Level (µg/Kg)	Risk
17/09/2021	Whole Grain Spelt Spaghetti	Germany	Germany	811-842	Undecided
08/04/2022	Rye Flour	Belgium	Belgium	766	Serious
20/04/2022	Rye Flour	France	Belgium	1670	Undecided
02/05/2022	Rye Flour	France	France	ND*	Serious
12/07/2022	Rye Flour	France	Belgium	1680	Serious
25/10/2022	Barley Flour	Netherlands	Belgium	217	Serious
17/11/2022	Rye Flour	Belgium Germany	Belgium	1090-780000	Serious
26/12/2022	Non-Compliant enzymes	Ireland	Ireland	217	Not Serious
31/03/2023	Wholemeal Rye Flour	Spain	Spain	>1000	Serious

Legend: Notification of Ergot Alkaloids contamination; adapted from RASFF portal⁵⁰ *ND- levels not described

To date, only 9 RASFF notifications for Ergot Alkaloids contaminations have been generated, all of them in very recent years (between September 2021 and March 2023). Looking at the results we can conclude that from all the cereal and cereal-based products there is a higher incidence of notifications in rye flour products. A notification from a product from Ireland was the only one whose notification was not related to cereal or cereal-based products but to Dietetic foods, food supplements and fortified foods. Additionally, all the samples were original from EU countries, being France the one with most notifications. The highest values were found in Belgium and Germany Rye flours and, in addition to this, 6 of the 9 notifications were classified as serious risk, however 2 of the notifications are still undecided.

9. Decontamination of Mycotoxins

Once Mycotoxins contamination leads to economic losses and health concerns, a search for effective decontamination and detoxification has been of great interest.⁵¹ Decontamination and detoxification methods for mycotoxins should be effective, simple, inexpensive, use existing technology, and not alter the nutritional value.⁵² Search for an efficient and effective process for decontamination of mycotoxins from food and feed still remains a practical and scientific global challenge.⁵³ When we talk about controlling the levels of EAs in cereals, we need to take into account two main stages. The first stage is pre-harvest practices that focus on prevention of mycotoxin production or contamination, and are mainly based on Good Agricultural Practices (GAP), Good Manufacturing Practices (GMP), and favorable storage practices.^{49, 50, 51} Pre-harvest strategies are the best way to prevent mycotoxin production at the field, but, once mycotoxin contamination occurs, this strategies might not eliminate them, so post-harvest strategies must be applied.⁵¹ Therefore, post-harvest strategies are the second stage, based on processing, chemical, physical, and biological techniques, application of these strategies aims to decontaminate contaminated products.^{49, 50} At both stages Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) plays an important role, which involve strategies for mycotoxin prevention, control, and GMPs to all stages of product management, storage strategies, sorting, segregation and cleaning procedures.⁵⁶

A compilation of the Pre- and Post-harvest strategies applied to mycotoxins decontamination is shown at Figure 1.

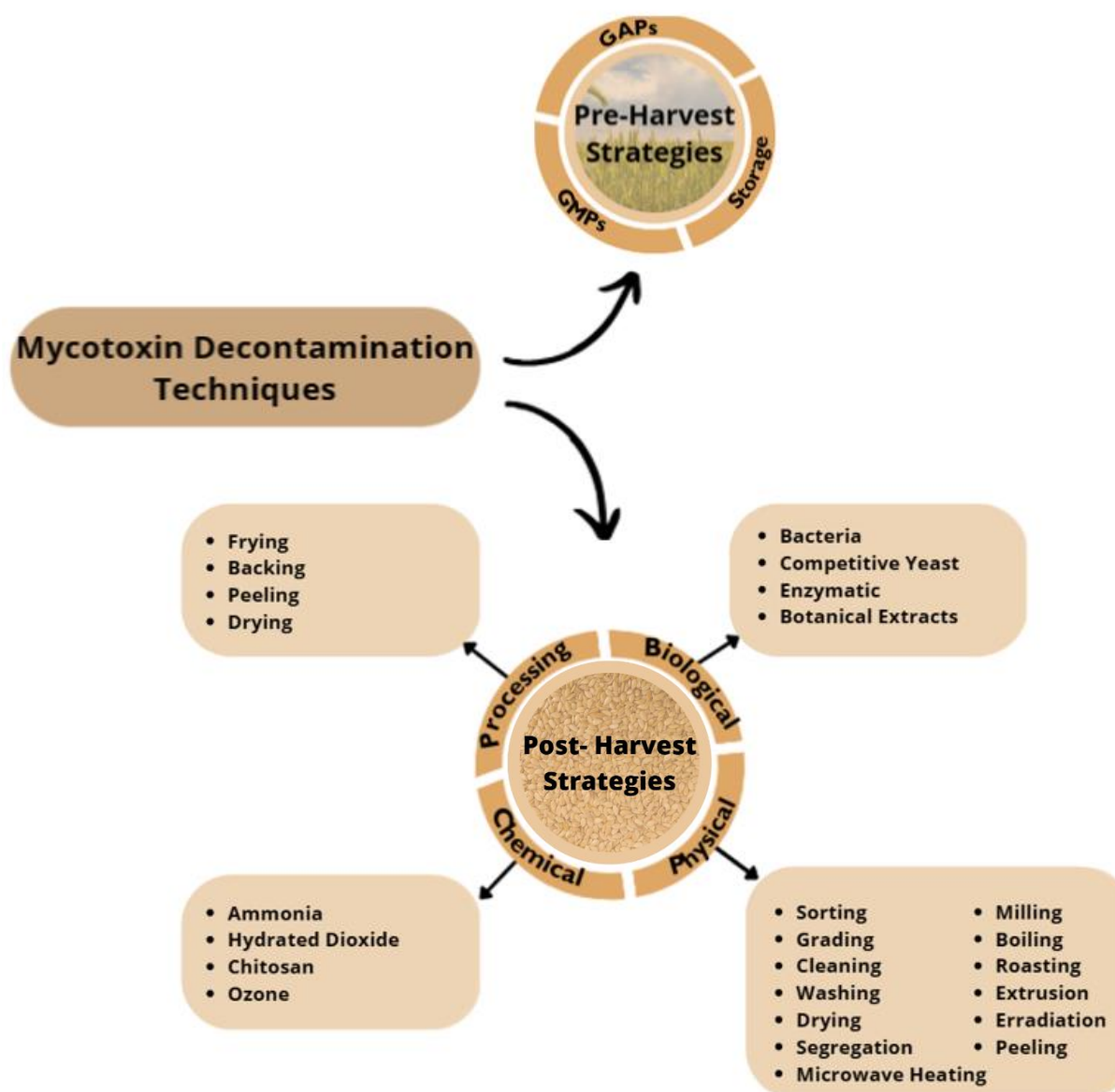


Figure 1. Pre- and Post- Harvest Mycotoxin Decontamination Techniques; GAPs: Good Agricultural Practices; GMPs: Good Manufacturing Practices

In what concerns specifically to Ergot Alkaloid decontamination, pre-harvest strategies remains the most important stage, being based on GMPs, GAPs, and favorable storage practices. Relatively to the post-harvest strategies, only a few have been applied to Ergot Alkaloid decontamination, namely sorting and cleaning as physical strategy, frying, baking and peeling as processing techniques and ammonization as chemical strategy.^{55, 57, 58, 59, 60}

9.1. Pre-Harvest Strategies

Good Agricultural Practices (GAP) include crop rotation programs, analyzing the soils to determine the need of fertilizer addition, use of approved herbicides (for weed control), fungicides (to control infection by fungi), and insecticides (to control insect damage),

maintaining adequate humidity, use of healthy and resistant varieties of crops, and gene modification to suppress mycotoxin production.⁵⁷

In addition to all that, and because of the concerns regarding the use of fungicides, the use of biological control agents, such as antagonistic fungi, is a significant pre-harvest strategy to prevent mycotoxin contamination in cereals.^{49,50,51}

9.2. Post-Harvest Strategies

Physical strategies for mycotoxin decontamination include sorting, grading, cleaning, washing drying, segregation, milling, boiling, roasting, extrusion, irradiation, microwave heating, and peeling.^{49,50}

Sorting and cleaning processes constitute the first steps of the natural disinfection, they should be the first ones to be applied if they do not have risk to produce degradable products.⁴⁹
⁵⁰ Effective cleaning techniques are capable to remove a large portion of Ergot Alkaloids from grains.²⁵ Due to the characteristic dark color of Ergot Alkaloids, they can be effectively removed by color sorting machines, however the absence of color does not necessary guarantee the absence of Ergot Alkaloids, so specific methods are needed.⁴²

Due to the density of contaminated grains, washing process by immersing grains in water and discarding the floating fractions can remove some mycotoxins.⁵¹

Processing techniques, such as frying, baking, peeling, drying, among others, can reduce mycotoxins content but cannot destroy them. Factors such as temperature and time can affect the efficiency of the process, but mycotoxins are thermally stable, what makes processes with high level temperatures (above 100 °C) are capable to reduce some mycotoxins.^{49,50} Effects of processing techniques on Ergot Alkaloids decontamination have been studied, and the results reveal that in what concern to heating processes the increase of temperature leads to degradation and promote de epimerization process toward de less active form.^{26, 48, 49, 50} An amplification of the degradation and the epimeric shift can be achieved by increasing the time of exposure to the heat.⁵⁸

Control of the storage conditions may prevent fungi growth, so adequate temperature, moisture, humidity, levels of oxygen and carbon dioxide, and packaging practices must be appropriate to reduce mycotoxins production.^{47, 49} Long-term storages and mixing grain also should be avoided, because may increase the risk of mycotoxins infection.⁵¹

For many stored cereals, radiation is used as natural detoxifying agent, once is effective on fungal growth inhibition and decontamination of mycotoxin contaminated products.⁵¹ It is

a technique based on delivery of energy that changes the molecular structure of the food ingredients.⁵³ Although it appears as a promising strategy that can partially remove mycotoxins from contaminated products and can be applied at industrial scale.^{49, 50} However, the use on food matrices is not yet totally recommended because the molecular reactions provoked during the use of the technique can have physical, chemical, and biological effects.^{47, 49}

Cold plasma mainly consists in photons, ions, and free radicals with unique physical and chemical properties, and have a potent antimicrobial effect and have been used in food processing in order to eliminate pathogens.⁵³ It can be considered a non-thermal technology that is produced by electrical discharges in gases or reduced pressures.⁵⁴ Cold atmospheric pressure plasma (CAPP) is a promising technique with some advantages, such as the fact of being cost-effective and environmentally friendly, that can be applied into decontamination of mycotoxins.⁵³

Mycotoxin Binders like cholesterol, aluminosilicates, complex indigestible carbohydrates, and activated carbon are capable to inhibit mycotoxin absorption, reducing intoxications occurrence. This capability occurs because the binder binds the mycotoxins preventing their entrance from the gut into the blood.^{49, 50} Binding capacity varies with the characteristics of the mycotoxin (polarity, shape, solubility, and charge distribution) and with the physical and chemical nature of the absorbent (pore size, total charge, charge distribution).⁶¹

Chemical control of mycotoxins can be done recurring to bases like ammonia or hydrated dioxide, chitosan, and ozone. Treatment of seeds with bases significantly reduces mycotoxins content, while fungi growth is inhibited. However, this treatment is forbidden in the European Union for products for human consumption.^{47, 49} Detoxification power of ammonia was tested in wheat contaminated with Ergot Alkaloids, and a decrease of 8-29 % of the total EA content was shown.⁶²

Preservation of foods with chitosan is very interesting due to its biocompatibility and antimicrobial properties.^{49, 50} It acts controlling fungi growth, and consequently controlling mycotoxin production, and decrease the fungal spread and mycotoxin accumulation.⁵⁴

Ozonation is a common technique used at industrial level to vegetables, fruits, and cereals disinfection as well as mycotoxin detoxification.⁵³ This technique does not leave any residue, acting through the interaction of oxidizing agents with the functional groups within the mycotoxin molecules, resulting in a change of the molecular structure of the mycotoxin to a less toxicity product.⁵⁴ Application of Ozone has also antifungal properties by damaging the

fungal membrane, however, due to the differences over the fungi species, it acts differently from specie to species.⁵⁴

Strategies using biological agents provides an alternative approach for mycotoxin control. The use of fungi, bacteria or yeast for mycotoxin control has shown some great results.⁵³

Some bacteria (like *Bacillus* and *Brevibacterium* species for example)⁵¹ have binder properties due to their peptidoglycans and polysaccharides presents on bacteria cell walls.⁵³

Use of competitive yeast, like *Saccharomyces cerevisiae* or *Pichia ano*, has been useful for inhibiting some mycotoxigenic fungal growth and to prevent mycotoxin biosynthesis.⁵¹ Their use has been of great interest once they product antimicrobial compounds with beneficial impact on humans, can be rapidly developed in bioreactors, and do not produce allergens or other secondary metabolites.^{49,50}

Fermentation is a cost-effective technique for mycotoxin decontamination that can also improve the ingredients in food, however this strategy produces some metabolites that can be toxic, so products formed after fermentation should be carefully documented in order to guarantee food safety.^{49,50}

Enzymatic detoxification of mycotoxins combines biological and chemical processing characteristics. It has high specialization and performance, that does not cause toxicity to organisms. However, due to their favorable toxicology and specialization, enzymes have an unexplored profile in what concerns to detoxifying food contaminants. Because of that, no enzyme was approved for mycotoxin removal from foodstuffs in EU.⁵³

New approaches like the use of botanical extracts have been preferred for removal of toxicogenic fungi and mycotoxins once they are environmentally friendly, safe, efficient, and low-drug-resistance when compared to chemical methods.^{47,49,50} Some oils, namely turmeric essential, *Mentha spicata*, *Curcuma longa L.*, lemon, grapefruit, eucalyptus and palmarosa oils, and their active compounds shown to be antifungal and anti-mycotoxigenic and have been shown to inhibit some mycotoxins.⁵¹ The antifungal mechanisms seems to be related to the disruption of membrane and fungal cell organization.⁵¹

10. Conclusion and Future Perspectives

Cereals and seeds have a high risk of being contaminated by mycotoxins, namely by Ergot Alkaloids. Due to climate change and the increase of cereal and cereal-based product

consumption, it is one of today's worldwide food safety concerns. For that reason, monitoring prevention and control is imperative to minimizing their occurrence.

Good agricultural and manufacturing practices and controlled storage and transport conditions can prevent Ergot Alkaloid contamination. These preventive strategies together with control analysis of critical points are fundamental. However, when products are already contaminated, physical, chemical, and biological processes are needed for mycotoxins decontamination. Although decontamination processes can be used, many of them only act reducing the toxicity of the Ergot Alkaloids by promoting the epimerization process. Therefore, the quantification of both epimers must be taken into account.

Many methods have been developed for the determination and quantification of Ergot Alkaloids, searching for an efficient, effective and cost-effective method for the quantification of both epimers. QuEChERS has been the preferred method for extraction and purification steps, along with chromatographic methods for quantification, like HPLC and UPLC. A preference for tandem mass spectrometry (MS/MS) detector is notorious over the years due to its unequivocal advantages.

Recent studies are focused on multi-mycotoxin quantification, however further investigations are still required in this field. Moreover, climate changes are problematic, once higher temperatures and humidity are favorable for mycotoxin production, so the search for a rapid, efficient, and effective is required. The restrictive EU legislation levels are another reason that proves that sensitive methods are required to guarantee food control, and new developments in decontamination processes are needed.

References

1. MALIR, Frantisek *et al.* - Hazard characterisation for significant mycotoxins in food. **Mycotoxin Research** **2023** **39:2**. ISSN 1867-1632. 39:2 (2023) 81–93. doi: 10.1007/S12550-023-00478-2.
2. LIAO, Chia Ding *et al.* - Multi-mycotoxin analysis of finished grain and nut products using high-performance liquid chromatography-triple-quadrupole mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. ISSN 00218561. 61:20 (2013) 4771–4782. doi: 10.1021/jf4000677.
3. GENEVA - JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES Ninetieth meeting Food Contaminants LIST OF SUBSTANCES SCHEDULED FOR EVALUATION AND REQUEST FOR DATA. 2019).
4. Scientific Opinion on Ergot alkaloids in food and feed - **EFSA Journal**. ISSN 18314732. 10:7 (2012). doi: 10.2903/J.EFSA.2012.2798.
5. ÜLGER, Taha Gökmen *et al.* - Genotoxic effects of mycotoxins. **Toxicon**. ISSN 0041-0101. 185:2020) 104–113. doi: 10.1016/J.TOXICON.2020.07.004.
6. ZHANG, Kai; BANERJEE, Kaushik - A Review: Sample Preparation and Chromatographic Technologies for Detection of Aflatoxins in Foods. **Toxins**. ISSN 2072-6651. 12:9 (2020) 539. doi: 10.3390/toxins12090539.
7. XIE, Lijuan; CHEN, Min; YING, Yibin - Development of Methods for Determination of Aflatoxins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. ISSN 1040-8398. 56:16 (2016) 2642–2664. doi: 10.1080/10408398.2014.907234.
8. WANG, Lan *et al.* - Ochratoxin A: Occurrence and recent advances in detoxification. **Toxicon**. ISSN 00410101. 210:2022) 11–18. doi: 10.1016/j.toxicon.2022.02.010.
9. BACHA, Syed Asim Shah *et al.* - Comprehensive review on patulin and Alternaria toxins in fruit and derived products. **Frontiers in Plant Science**. ISSN 1664-462X. 14:2023). doi: 10.3389/fpls.2023.1139757.
10. SUN, Yu *et al.* - Toxicokinetics and metabolism of deoxynivalenol in animals and humans. **Archives of Toxicology**. ISSN 0340-5761. 96:10 (2022) 2639–2654. doi: 10.1007/s00204-022-03337-8.

11. RAI, Ankita; DAS, Mukul; TRIPATHI, Anurag - Occurrence and toxicity of a fusarium mycotoxin, zearalenone. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. ISSN 1040-8398. 60:16 (2020) 2710–2729. doi: 10.1080/10408398.2019.1655388.
12. SHI, Haitao; YU, Peiqiang - Correlation patterns prevalence, and co-occurrence of ergot alkaloids in cool-season adapted cereal grains revealed with molecular spectroscopy and LC-MS/MS equipped HPLC system. **Food Chemistry**. ISSN 18737072. 393:2022). doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133322.
13. ARROYO-MANZANARES, Natalia *et al.* - In-house validation of a rapid and efficient procedure for simultaneous determination of ergot alkaloids and other mycotoxins in wheat and maize. [s.d.]. doi: 10.1007/s00216-018-1018-6.
14. GÜRBÜZEL, Mehmet; UYSAL, Handan; KIZILET, Halit - Assessment of genotoxic potential of two mycotoxins in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. **Toxicology and Industrial Health**. ISSN 14770393. 31:3 (2015) 261–267. doi: 10.1177/0748233712472528.
15. SÁ, Soraia V. M. De *et al.* - Emerging mycotoxins in infant and children foods: A review. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1967282>. ISSN 15497852. 63:12 (2021) 1707–1721. doi: 10.1080/10408398.2021.1967282.
16. CARBONELL-ROZAS, Laura *et al.* - Occurrence of ergot alkaloids in barley and wheat from Algeria. **Toxins**. ISSN 20726651. 13:5 (2021). doi: 10.3390/TOXINS13050316/S1.
17. GUO, Qiaozhen *et al.* - Simultaneous Determination of 25 Ergot Alkaloids in Cereal Samples by Ultraperformance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. 2016). doi: 10.1021/acs.jafc.6b02484.
18. DIANA, José *et al.* - Analytical Methods Development and validation of a new LC-MS/MS method for the simultaneous determination of six major ergot alkaloids and their corresponding epimers. Application to some food and feed commodities. 2012). doi: 10.1016/j.foodchem.2012.04.098.
19. MÜLLER, Carola *et al.* - A basic tool for risk assessment: A new method for the analysis of ergot alkaloids in rye and selected rye products. **Molecular Nutrition and Food Research**. ISSN 16134125. 53:4 (2009) 500–507. doi: 10.1002/MNFR.200800091.
20. CHUNG, Stephen W. C. - A critical review of analytical methods for ergot alkaloids in cereals and feed and in particular suitability of method performance for regulatory monitoring

and epimer-specific quantification. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**. ISSN 19440057. 38:6 (2021) 997–1012. doi: 10.1080/19440049.2021.1898679.

21. LENAIN, Pieterjan *et al.* - Development of suspension polymerized molecularly imprinted beads with metergoline as template and application in a solid-phase extraction procedure toward ergot alkaloids. **Analytical Chemistry**. ISSN 00032700. 84:23 (2012) 10411–10418. doi: 10.1021/AC302671H/ASSET/IMAGES/LARGE/AC-2012-02671H_0007.JPEG.

22. CREWS, Colin - Analysis of Ergot Alkaloids. **Toxins**. ISSN 20726651. 7:6 (2015) 2024. doi: 10.3390/TOXINS7062024.

23. BRYŁA, Marcin *et al.* - Application of Liquid Chromatography/Ion Trap Mass Spectrometry Technique to Determine Ergot Alkaloids in Grain Products. **Food Technology and Biotechnology**. ISSN 13309862. 53:1 (2015) 18–28. doi: 10.17113/ftb.53.01.15.3770.

24. KÖPPEN, Robert *et al.* - Novel solid-phase extraction for epimer-specific quantitation of ergot alkaloids in rye flour and wheat germ oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. ISSN 00218561. 61:45 (2013) 10699–10707. doi: 10.1021/JF403628Q/ASSET/IMAGES/LARGE/JF-2013-03628Q_0005.JPEG.

25. STORM, I. D. *et al.* - Ergot alkaloids in rye flour determined by solid-phase cation-exchange and high-pressure liquid chromatography with fluorescence detection. <https://doi.org/10.1080/02652030701551792>. ISSN 14645122. 25:3 (2008) 338–346. doi: 10.1080/02652030701551792.

26. KOKKONEN, Meri; JESTOI, Marika - Determination of ergot alkaloids from grains with UPLC-MS/MS. **Journal of Separation Science**. ISSN 16159306. 33:15 (2010) 2322–2327. doi: 10.1002/jssc.201000114.

27. STANFORD, Kim *et al.* - Effects of Heating, Pelleting, and Feed Matrix on Apparent Concentrations of Cereal Ergot Alkaloids in Relation to Growth Performance and Welfare Parameters of Backgrounding Beef Steers. **Toxins**. ISSN 20726651. 14:9 (2022) 580. doi: 10.3390/TOXINS14090580.

28. **Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006 (Text with EEA relevance)** - [Consult. 26 jun. 2023]. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2023/915/oj>

29. **Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003** - [Consult. 26 jun. 2023]. Disponível em: <https://www.fao.org/3/y5499e/y5499e02.htm>
30. THIS REPORT CONTAINS ASSESSMENTS OF COMMODITY AND TRADE ISSUES MADE BY USDA STAFF AND NOT NECESSARILY STATEMENTS OF OFFICIAL U.S. GOVERNMENT POLICY-Date: GAIN Report Number - [s.d.].
31. CARBONELL-ROZAS, Laura *et al.* - Ion mobility-mass spectrometry to extend analytical performance in the determination of ergot alkaloids in cereal samples. **Journal of Chromatography A**. ISSN 0021-9673. 1682:2022) 463502. doi: 10.1016/J.CHROMA.2022.463502.
32. CIGIĆ, Irena Kralj; PROSEN, Helena - An Overview of Conventional and Emerging Analytical Methods for the Determination of Mycotoxins. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 10:1 (2009) 62. doi: 10.3390/IJMS10010062.
33. **Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs (Text with EEA relevance)** - [Consult. 26 jun. 2023]. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32006R0401>
34. RUBERT, Josep *et al.* - Analysis of mycotoxins in barley using ultra high liquid chromatography high resolution mass spectrometry: Comparison of efficiency and efficacy of different extraction procedures. **Talanta**. ISSN 0039-9140. 99:2012) 712–719. doi: 10.1016/J.TALANTA.2012.07.010.
35. SINGH, Jyoti; MEHTA, Alka - Rapid and sensitive detection of mycotoxins by advanced and emerging analytical methods: A review. **Food Science & Nutrition**. ISSN 20487177. 8:5 (2020) 2183. doi: 10.1002/FSN3.1474.
36. VERŠILOVSKIS, Aleksandrs *et al.* - Simultaneous quantification of ergot and tropane alkaloids in bread in the Netherlands by LC-MS/MS. <https://doi.org/10.1080/19393210.2020.17717>. ISSN 19393229. 13:3 (2020) 215–223.
37. PERESTRELO, Rosa *et al.* - QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. **Analytica Chimica Acta**. ISSN 0003-2670. 1070:2019) 1–28. doi: 10.1016/J.ACA.2019.02.036.
38. ALSHANNAQ, Ahmad; YU, Jae Hyuk - Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. **International Journal of Environmental Research and Public Health** 2017, Vol. 14, Page 632. ISSN 1660-4601. 14:6 (2017) 632. doi: 10.3390/IJERP14060632.

39. MOHAMED, Rayane *et al.* - Quantitative determination of five ergot alkaloids in rye flour by liquid chromatography–electrospray ionisation tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. ISSN 0021-9673. 1114:1 (2006) 62–72. doi: 10.1016/J.CHROMA.2006.02.035.
40. KOKKONEN, Meri; JESTOI, Marika - Determination of ergot alkaloids from grains with UPLC-MS/MS. **Journal of Separation Science**. ISSN 1615-9314. 33:15 (2010) 2322–2327. doi: 10.1002/JSSC.201000114.
41. KIM, Hyoyoung *et al.* - In-house Validation of an Efficient and Rapid Procedure for the Simultaneous Determination and Monitoring of 23 Mycotoxins in Grains in Korea. **Toxins**. ISSN 20726651. 14:7 (2022). doi: 10.3390/TOXINS14070457/S1.
42. HÖFS, Soraya; JAUT, Valerie; SCHNEIDER, Rudolf J. - Ergometrine sensing in rye flour by a magnetic bead-based immunoassay followed by flow injection analysis with amperometric detection. **Talanta**. ISSN 00399140. 254:2023) 124172. doi: 10.1016/j.talanta.2022.124172.
43. KRŠKA, Rudolf; STUBBINGS, George; MACARTHUR, Roy - Simultaneous determination of six major ergot alkaloids and their epimers in cereals and foodstuffs by LC-MS-MS. [s.d.]. doi: 10.1007/s00216-008-2036-6.
44. MALYSHEVA, Svetlana V. *et al.* - A systematic assessment of the variability of matrix effects in LC-MS/MS analysis of ergot alkaloids in cereals and evaluation of method robustness. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. ISSN 1618-2642. 405:16 (2013) 5595–5604. doi: 10.1007/s00216-013-6948-4.
45. KÖPPEN, Robert *et al.* - Novel Solid-Phase Extraction for Epimer-Specific Quantitation of Ergot Alkaloids in Rye Flour and Wheat Germ Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. ISSN 0021-8561. 61:45 (2013) 10699–10707. doi: 10.1021/jf403628q.
46. ROUAH, Elsa *et al.* - Aptamer-Based Extraction of Ergot Alkaloids from Ergot Contaminated Rye Feed. **Advances in Bioscience and Biotechnology**. ISSN 2156-8456. 05:08 (2014) 692–698. doi: 10.4236/abb.2014.58082.
47. **RASFF** - [Consult. 27 jun. 2023]. Disponível em: https://food.ec.europa.eu/safety/rasff_en#Learn
48. **Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures**

in matters of food safety. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32002R0178>

49. **Questions and Answers: Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)** - [Consult. 5 jul. 2023]. Disponível em: https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/MEMO_17_2461

50. **RASFF Window - Results** - [Consult. 7 jul. 2023]. Disponível em: <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/search?searchQueries=eyJkYXRlljp7InN0YXJ0UmFuZ2Ui-OiliLCJlbnRSYXW5nZSI6Ij9LCJub3RpZmljYXRpb25TdGF0dXMiOmsibm90aWZpY2F0aW9uU3RhZHVzIjpbWzFdXX0sInNIYmplY3QiOiJlcmdvdCBhbGthbG9pZHMifQ%3D%3D>

51. LUO, Ying; LIU, Xiaojiao; LI, Jianke - Updating techniques on controlling mycotoxins - A review. **Food Control**. ISSN 0956-7135. 89:2018) 123–132. doi: 10.1016/j.FOOD-CONT.2018.01.016.

52. YOUNG, J. Christopher; CHEN, Zhen Jian; MARQUARDT, Ron R. - Reduction in Alkaloid Content of Ergot Sclerotia by Chemical and Physical Treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. ISSN 15205118. 31:2 (1983) 413–415. doi: 10.1021/JF00116A057/ASSET/JF00116A057.FP.PNG_V03.

53. AGRIOPOULOU, Sofia; STAMATELOPOULOU, Eygenia; VARZAKAS, Theodoros - Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods. **Foods**. ISSN 23048158. 9:2 (2020). doi: 10.3390/FOODS9020137.

54. AWUCHI, Chinaza Godswill *et al.* - Mycotoxins Affecting Animals, Foods, Humans, and Plants: Types, Occurrence, Toxicities, Action Mechanisms, Prevention, and Detoxification Strategies—A Revisit. **Foods**. ISSN 23048158. 10:6 (2021). doi: 10.3390/FOODS10061279.

55. AGRIOPOULOU, Sofia; TUNDO, Silvio; KUZMANOVIĆ, Ljiljana Kuzmanović - Ergot Alkaloids Mycotoxins in Cereals and Cereal-Derived Food Products: Characteristics, Toxicity, Prevalence, and Control Strategies. **Agronomy** 2021, Vol. 11, Page 931. ISSN 2073-4395. 11:5 (2021) 931. doi: 10.3390/AGRONOMY11050931.

56. **JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION** - [Consult. 6 jul. 2023]. Disponível em: https://www.fao.org/UN-FAO/Bodies/Codex/28/index_en.htm

57. CHEREWYK, Jensen E. *et al.* - Ammonization of the R- and S-Epipimers of Ergot Alkaloids to Assess Detoxification Potential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. ISSN

15205118. 70:29 (2022) 8931–8941. doi: 10.1021/ACS.JAFC.2C01583/SUPPL_FILE/JF2C01583_SI_001.PDF.

58. TITTEMIER, Sheryl A. *et al.* - Fate of Ergot Alkaloids during Laboratory Scale Durum Processing and Pasta Production. **Toxins** **2019**, **Vol. 11**, **Page 195**. ISSN 2072-6651. 11:4 (2019) 195. doi: 10.3390/TOXINS11040195.

59. BRYŁA, Marcin *et al.* - Stability of ergot alkaloids during the process of baking rye bread. **LWT**. ISSN 0023-6438. 110:2019) 269–274. doi: 10.1016/J.LWT.2019.04.065.

60. MERKEL, Stefan *et al.* - Degradation and epimerization of ergot alkaloids after baking and in vitro digestion. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. ISSN 16182642. 404:8 (2012) 2489–2497. doi: 10.1007/S00216-012-6386-8/FIGURES/6.

61. COMMITTEE ON HERBAL MEDICINAL PRODUCTS (HMPC) GUIDELINE ON GOOD AGRICULTURAL AND COLLECTION PRACTICE (GACP) FOR STARTING MATERIALS OF HERBAL ORIGIN ADOPTION BY HMPC FOR RELEASE FOR CONSULTATION END OF CONSULTATION (DEADLINE FOR COMMENTS) - 2005).

62. STANFORD, Kim *et al.* - Effects of Feeding a Mycotoxin Binder on Nutrient Digestibility, Alkaloid Recovery in Feces, and Performance of Lambs Fed Diets Contaminated with Cereal Ergot. **Toxins**. ISSN 20726651. 10:8 (2018) 312. doi: 10.3390/TOXINS10080312.