

1 INTRODUÇÃO

No Brasil 49% da população maior de 19 anos está acima do peso e 15% são obesos. Estes dados foram constatados em pesquisa realizada sobre orçamento familiar 2008 a 2009 (IBGE, 2010). Esta é uma tendência mundial e reflete a cultura do *fast-food*, vivenciada e incentivada no século passado. Assim, a escolha de alimentos saudáveis é uma das principais formas para a busca de melhoria da qualidade de vida. Deste modo, o aumento no consumo de produtos naturais como grãos integrais, frutas frescas, frutas secas, legumes, verduras, leite, queijos magros e iogurtes desnatados, contribui para a manutenção e promoção da saúde (PHILIPPI, 2008).

Essa motivação por alimentos saudáveis teve início na década de 60 com a tendência naturalista que marcou os Estados Unidos, onde se questionava a qualidade dos alimentos industrializados. A preocupação permanece, pois as doenças crônicas não transmissíveis- DCNT (doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, câncer e doenças respiratórias) figuram como principal causa de mortalidade da população mundial (OPAS, 2003). Estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) apontam que as DCNT já são responsáveis por 58,5% de todas as mortes ocorridas no mundo e por 45,9% da carga global de doença, constituindo um sério problema de saúde pública, nos países ricos como nos de média e baixa renda (BRASIL, 2012).

O mercado de alimentos no Brasil é considerado um dos mais promissores, visto que não se vive sem eles. Nesse sentido, a população brasileira é considerada uma potencial cliente de produtos naturais, ou seja, um total de mais de 190 milhões de pessoas (IBGE, 2010). Todavia, os clientes desses produtos são os que priorizam uma vida saudável e aqueles apresentam restrições alimentares.

Diversas empresas e agroindústrias têm buscado produzir alimentos orgânicos, objetivando uma produção de alimentos mais saudáveis e lucros maiores em torno de 30% superiores aos produtos convencionais. Alimentos naturais e com propriedades funcionais como a granola, aveia, linhaça e uma porção de mistura de grãos vem a cada dia, ganhando espaços nos supermercados (SOUZA; ALCÂNTARA, 2000; SOUSA, 2006).

A granola é um composto alimentar rico em fibras, formado pela mistura de grãos de cereais, frutas secas, linhaça, trigo, flocos de milho e de arroz, sementes oleaginosas como o amendoim e a castanha-do-Brasil. Além das propriedades nutricionais e funcionais, a granola é um alimento saboroso com alto valor energético que vem apresentando crescente consumo. Dietas ricas em fibras protegem contra obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes, dislipidemias e alguns tipos de câncer (NEUTZLING et al., 2007). Entre os alimentos indicados para auxiliar o tratamento destas patologias, destaca-se a granola (GRANADA et al., 2003; VECCHIA; CASTILHOS, 2007).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1999), alimentos funcionais são aqueles que produzem efeitos metabólicos ou fisiológicos através da atuação de um nutriente ou não no crescimento, desenvolvimento, manutenção e em outras funções normais do organismo humano.

Em Teresina,PI, também ocorre esta tendência, pois ano de 2011 foram comercializados no Piauí 65.580 unidades de granola, representando 5.465 unidades por mês (PIAUI, 2011), considerando-se que as unidades comerciais possuem aproximadamente 300g, estima-se que a comercialização mensal em Teresina seja 1.640 kg. Se em uma refeição fossem consumidas 66 g de granola, equivaleriam a três colheres de sopa, portanto, esta comercialização representaria 24.841 refeições por mês ou 298.091 refeições por ano. Esses dados chamam atenção sobre a necessidade do controle de qualidade desse produto, tendo em vista que a granola é consumida principalmente ao natural, sem tratamento térmico, por pessoas de todas as faixas etárias.

Apesar dos muitos benefícios que esse alimento pode proporcionar, há de se ter atenção para sua composição, pois segundo Gimeno (2000) e Dantigny et al. (2005) a composição de produtos à base de cereais pode ser considerado um substrato ideal para o crescimento de fungos e produção de micotoxinas. Os fungos podem contaminar os cereais nas indústrias pela utilização de matéria-prima contaminada, pelo transporte inadequado, armazenamento inadequado, permanência de resíduos de matéria-prima aderidos nas máquinas e equipamentos de processamento, devido a falhas no processo de higienização.

Durante o armazenamento de grãos o desenvolvimento dos fungos pode ser favorecido pela umidade, temperatura, período de armazenamento, nível inicial de contaminação, impurezas, insetos, concentração de dióxido de carbono intergranular, condições físicas e sanitárias dos grãos (LAZZARI, 1997; FRANCO; LANDGRAF, 2008). Os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicilium* são os fungos mais importantes e os mais frequentemente encontrados em alimentos, além de serem os maiores produtores de micotoxinas (BATISTA; FREITAS, 2000).

Os alimentos contaminados com fungos e micotoxinas representam perdas econômicas bastante significativas, além de representar riscos à saúde (PEREIRA et al., 2005; TRISTAN, 2002), a mistura de todas as aflatoxinas produzidas naturalmente (AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂) é carcinogênica no homem (IARC, 2006).

Diante do exposto e considerando que são raras as pesquisas relacionando fungos e micotoxinas em granolas, propõe-se neste estudo identificar a presença de fungos micotoxigênicos, como também pesquisar a presença de aflatoxinas na granola comercializada em Teresina, Piauí.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Identificar a microbiota potencialmente toxígena em granola comercializada em Teresina, PI.

2.2 Específicos

- Avaliar a atividade de água da granola.
- Isolar e Identificar os fungos presentes no alimento em estudo.
- Verificar a capacidade toxigênica das espécies fúngicas isoladas quanto à produção de ocratoxinas e aflatoxinas.
- Identificar e quantificar a presença de aflatoxinas na granola.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Granola

Relatos sobre a granola tiveram início por volta de 1830, quando o americano Willian Sylvester Graham, um grande defensor do vegetarianismo, formulou uma farinha integral. Três décadas mais tarde, o médico sanitariano James Caleb Jackson, proprietário de uma das maiores e renomada clínica do mundo, na época, planejou um cardápio nutritivo como uma alternativa para seus pacientes que não consumiam determinados alimentos como carnes, e necessitavam complemento nutricional. No desjejum, ele oferecia uma farinha à base de trigo torrada batizada de granula. Alguns anos depois, outro médico, John Harvey Kellogg, que viria a ser o fundador da marca Kellogg's, adicionou aveia e milho à mistura e criou a sua própria versão da granula. Sendo que Jackson não gostou do "plágio" e a briga pelo nome foi parar nos tribunais, assim, o nome da invenção precisou ser alterado, Kellogg mudou apenas uma letra e dessa forma, nasceu o nome conhecido até hoje, granola, o qual foi patenteado (FLADRIN; MONTANARI, 1998).

O produto atingiu seu apogeu somente nos anos sessenta, quando passou a ser exaltado por suas propriedades nutricionais, tendo como principal grupo consumidor os hippies. Nas seguintes décadas, a granola ganhou destaque muito além do cardápio das "sociedades alternativas" e conquistou o paladar do mundo (FLADRIN; MONTANARI, 1998).

Este alimento matinal é composto pela mistura de ingredientes como frutas secas (uva-passa e coco), grãos (aveia, fibra de trigo e flocos de arroz e milho), sementes (amendoim, linhaça, castanha de caju e castanha-do-Brasil), açúcar (mascavo ou orgânico), mel, óleo entre outros, que podem variar de acordo com os fabricantes (VENDRAMINI, 2008).

A composição nutricional da granola por ser rica em grãos, se caracteriza como importante fonte de muitos nutrientes, incluindo fibras alimentares (solúveis e insolúveis), vitaminas A, C, E e do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina e folato) e os minerais (ferro, magnésio e selênio). Uma das principais características da granola é possuir baixo teor de gordura. Em cada 40g apresenta em média 138 calorias, 4% de proteína, 28 g de carboidratos, 16 g de amido, 3,0 g de fibra

alimentar total e 120mg de sódio 25% de vitaminas A, C, B₁, B₂, B₆, B₁₂ e também niacina, ácido fólico, ferro e zinco (USDA, 2012).

3.1.1 Benefícios à saúde

A fibra dietética dos grãos integrais auxiliam na redução dos níveis de colesterol no sangue e podem diminuir o risco de doenças cardíacas, obesidade e diabetes tipo 2. São importantes para o bom funcionamento intestinal, contribuindo para a diminuição da constipação e diverticulose, contém vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina) que desempenham papel chave no metabolismo - eles ajudam o corpo a liberar energia a partir de proteínas, gorduras e carboidratos. As vitaminas do complexo B também são essenciais para um sistema nervoso saudável. O folato (ácido fólico), uma outra vitamina B, ajuda o corpo formar os glóbulos vermelhos. Ferro é utilizado para transportar oxigênio no sangue. O ferro não-heme (carnes) deve ser consumido juntamente com outros alimentos ricos em vitamina C, pois potencializa a absorção. Os cereais integrais também são fontes de magnésio e selênio. O magnésio é um mineral usado na construção de ossos e liberação de energia dos músculos. Selênio protege as células da oxidação. É muito importante para manter sistema imune saudável (USDA, 2012).

Nos últimos sete anos vem se evidenciando que os consumidores americanos, aumentaram as compras de alimentos ricos em grãos, especialmente prontos para consumir. Os principais foram os cereais matinais, pães e massas, o que pode em parte, ser devido à maior oferta de produtos a base de grãos integrais disponíveis nas prateleiras dos supermercados (MANCINO et al, 2008).

Em estudo com enfermeiros dos EUA, do sexo feminino, foi constatado que o ganho de peso foi inversamente associado com a ingestão de alto teor de fibras, alimentos de grãos integrais, mas positivamente relacionada à ingestão de alimentos de grãos refinados, o que indica a importância de distinguir produtos de grãos integrais de cereais refinados, produtos para ajudar no controle de peso (SIMIN et al, 2003).

Os cereais integrais são comumente alimentos ricos em vitaminas, minerais, fibras alimentares, β -glucanas, fitoquímicos, dentre outras diversas substâncias benéficas ao organismo (LIU, 2004; KARTER et al., 2010).

Fitoquímicos são definidos como compostos bioativos, que estão associados com risco reduzido de doenças crônicas (LIU, 2004). Adom et al (2002), informaram que a maioria dos fitoquímicos benéficos estão presentes nas frações farelo e germe de grãos integrais. Os fitoquímicos bioativos encontrados em cereais integrais com efeitos aditivos e sinérgicos, podem ser responsáveis pelos benefícios à saúde, associados com grãos integrais, além disso, os fitoquímicos dos grãos complementam os de frutas e vegetais quando consumidos juntos (LIU, 2004; ADOM et al., 2005; OKARTER et al., 2010).

Estudos consistentes sugerem que, quando consumido em alimentos integrais, esses fitoquímicos podem contribuir para importante proteção contra doenças crônicas, como doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer (OKARTER et al., 2010).

Os compostos fenólicos em grãos inteiros, agem no corpo como antioxidantes pela doação de átomos de hidrogênio aos radicais livres (ADOM, 2002; OKARTER et al., 2010). Dentre os componentes da granola o milho é o que apresenta maior conteúdo de compostos fenólicos, seguido pelo trigo, aveia e arroz, com respectivamente 265; 136; 111 e 95 mg em equivalente de ácido gálico por 100 g (MILLER et al., 2000; ADOM, 2002).

Os carotenóides são compostos encontrados comumente também em cereais integrais (ADOM et al., 2005; OKARTER et al., 2010). Luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, β -caroteno e α -caroteno são os carotenóides mais comuns e geralmente os mais concentrados no farelo ou germe de grãos integrais. Além de fornecerem a pigmentação, eles desempenham um papel importante na reprodução e proteção dos grãos integrais, ao mesmo tempo, agindo como antioxidantes e com atividade pró-vitamina A no corpo (ADOM et al., 2005).

Vitamina E, como tocoferóis e tocotrienóis, são encontrados em cereais integrais em quantidades variáveis e estão concentrados na fração germe do grão normalmente, β -Tocotrienóis é a forma predominante de vitamina E em grão de trigo integral. A principal função da vitamina E no organismo é a atividade antioxidante e manutenção da integridade da membrana celular. Cereais integrais também contêm ácidos graxos insaturados, principalmente oléicos e linoléicos, sendo que ambos têm

sido indicados para baixar os níveis de colesterol no sangue (OKARTER et al., 2010).

Cereais integrais também contêm fibras, oligossacarídeos e ligninas, que têm importantes atividades biológicas e funcionais (SLAVIN et al., 2004; OKARTER et al., 2010). Por exemplo, a fibra dietética e os oligossacarídeos em grãos integrais, podem contribuir para redução do colesterol, controle da glicose sanguínea, melhorar a saúde digestiva e diminuir os riscos de certos tipos de câncer gastrointestinais (SLAVIN et al., 2004). Ligninas encontradas em cereais integrais têm forte ação antioxidante. A microbiota intestinal desempenha um papel na conversão dessas ligninas, o que pode fornecer proteção contra doenças crônicas, relacionadas com o câncer, diabetes e doenças cardíacas (SLAVIN et al., 2004; OKARTER et al., 2010).

A ingestão de grãos integrais também contribui para o controle de peso, pois de acordo com alguns estudos, o ganho de peso e aumento da adiposidade abdominal ao longo do tempo são mais baixos em pessoas que consomem mais grãos integrais. Análises de Estudo da Saúde dos Médicos (KOH-BANERJEE et al., 2004) e do Estudo da Saúde dos Enfermeiros (LIU et al., 2003) mostraram que aqueles indivíduos que consumiam uma maior quantidade de grãos integrais pesavam menos do que aqueles que consumiam menos, no período de acompanhamento do estudo de Koh-Banerjee et al. (2004).

Relacionando o consumo de grãos integrais às doenças cardiovasculares, foi possível verificar através de estudos epidemiológicos com norte-americanos e europeus, que o consumo de grãos integrais está associado à redução do risco de doenças cardiovasculares (SEAL; BROWNLEE, 2010).

3.1.2 Principais cereais que compõem a granola

3.1.2.1 Linhaça

A linhaça (*Linum usitatissimum* L.) é a semente do linho, planta pertencente à família das *Lináceas*, que tem sido cultivada há bastante tempo, é uma semente com várias aplicações, como matéria-prima para produção de óleo e farelo. O óleo tem utilização industrial na fabricação de tintas, vernizes e resinas. O farelo é usado em rações animais. As sementes também são utilizadas como complemento

alimentar, sendo adicionadas a pães, bolos e biscoitos ou ainda misturadas cruas aos alimentos (GALVÃO et al., 2008).

A linhaça é considerada alimento funcional, por ser uma fonte natural de fitoquímicos. O aumento do seu consumo destaca-se, principalmente, pelo efeito anticarcinogênico e antiaterogênico (diminui valores de lipoproteína de baixa densidade - LDL e aumenta valores de lipoproteína de alta densidade - HDL), vinculado ao conteúdo de compostos bioativos (ALMEIDA et al., 2009).

O consumo da linhaça está em crescimento, devido à descoberta de suas propriedades benéficas. É considerado um alimento funcional, pois, além de suas funções nutricionais básicas, produz efeitos metabólicos e fisiológicos benéficos à saúde. A linhaça é uma rica fonte de ácidos graxos α -linolênicos e linoléicos, precursores do ω -3 e ω -6, respectivamente. Esses são importantes para o desenvolvimento do sistema nervoso central, auxiliam na prevenção de doenças cardiovasculares, diabetes e determinados tipos de câncer, atuam ainda na redução de processos inflamatórios e doença autoimune (SOARES et al., 2009).

3.1.2.2 Aveia

A aveia (*Avena sativa* L.) é um cereal que contém aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e sais minerais indispensáveis ao organismo humano e também fornece aporte energético e nutricional equilibrado, mas principalmente, pela composição por fibras alimentares. (GUTKOSKI et al., 2009).

Este cereal participa na redução do colesterol sanguíneo, prevenindo doenças do coração e por isso é considerado um alimento funcional. A composição química e a qualidade nutricional da aveia são relativamente altas e superiores a dos demais cereais. Estes indicadores, no entanto, variam com o local de cultivo, clima e genótipo. Em função dos maiores teores de proteínas e lipídios, a aveia tem, comparativamente, menor concentração de carboidratos (GUTKOSKI et al., 2007).

A aveia apresenta elevados teores em β -glucanas e boa qualidade protéica, sobressaindo-se aos demais cereais. Buscando aumentar sua utilização e seu valor econômico, alguns estudos têm proposto o uso da aveia como matéria-prima para o preparo de concentrados destes nutrientes. As frações compostas de β -glucanas, e as frações ricas em proteínas podem ser indicadas como ingredientes substitutos da

gordura em sorvetes, espessantes de molhos e na formulação de almôndegas e embutidos cárneos e pães, alimentos infantis, dietas para esportistas e alimentos geriátricos respectivamente (DANIEL et al., 2006).

A forma mais empregada para comercialização da aveia é a utilização em flocos. Apresenta um teor mais elevado de lipídios, porque quase todo o germe é mantido. É menos oxidável devido ao seu alto teor de vitamina E (antioxidante). O grão de aveia apresenta em média 13,3% de proteína, 6,2% de lipídios e 66,4% de carboidratos. A proteína da aveia distingue-se pelo seu alto teor de arginina em relação aos outros cereais. Rica em fibras, vitaminas do complexo B, vitamina E, cálcio, fósforo e ferro. Pode ser ingerida sob forma de flocos grossos, flocos finos e farinha. Cada 100 g desse alimento fornece 350 g calorias, 15 g proteínas, 57 g carboidratos e 7,5g de gorduras (GRAY, 2006 ;FRANCO, 2010).

A farinha e os flocos de aveia são usados principalmente em cereais matinais e em produtos como a granola. Ela é considerada a mais completa, em termos nutricionais, entre todas as farinhas (GRAY, 2006).

Alguns trabalhos (RUPOLLO et al., 2006) vêm sendo realizados com o intuito de se determinar a micobiota e as micotoxinas em aveias, em tratamentos com umidades inferiores a 15%. Verificou-se a predominância de fungos dos gêneros *Colletotrichum*, *Chaetomium*, *Phoma*, *Bipolaris*, *Alternaria* e *Neurospora*. Quando essas aveias foram submetidas a umidades mais elevadas, favoreceram o crescimento dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. A incidência fúngica no início do armazenamento refere-se basicamente à contaminação oriunda da lavoura, ou seja, fungos de campo, pois esses fungos desenvolvem-se melhor em umidades relativas mais elevadas (TANAKA et al., 2001).

Rupollo et al. (2006) não detectaram nas amostras de aveias as micotoxinas: aflatoxinas, zearalenona e ocratoxina A. Já Scudamore et al. (1999), examinando grãos de aveia, trigo e cevada detectaram em 21% das amostras a presença de Ocratoxina A, com maior frequência em cevada do que em trigo e aveia.

3.1.2.3 Trigo e derivados

O trigo, destaque em consumo entre os cereais, é composto principalmente de amido e glúten que é uma substância formada por duas proteínas insolúveis:

gliadina e glutenina. Estas quando misturadas a líquidos, propiciam a elasticidade necessária para a panificação. O glúten pode absorver água, aumentando seu peso inicial. A variação do percentual de proteínas na farinha varia de 8,0 a 14,0% de proteínas. A farinha de trigo branca é resultado da moagem dos grãos de amido, sem o farelo e o germe. A farinha de trigo integral é preparada através da moagem do grão de trigo completo. Cada 100 g desse alimento fornece em torno de 375 calorias, 12 g de proteínas, 75 g de carboidratos e 1,2 g de gorduras (FRANCO, 2010; ORNELLAS et al, 2006).

A qualidade do grão de trigo pode ser definida como resultado da interação que a cultura sofre no campo, do efeito das condições do solo, do manejo da cultura, da cultivar, bem como das operações de colheita, armazenamento e moagem (EDWARDS, 2004). Em condições inadequadas de colheita, secagem e armazenamento, o trigo pode sofrer alterações em suas propriedades físicas, químicas e biológicas, reduzindo o valor comercial e a funcionalidade da farinha (FLEURAT-LESSARD, 2002).

Roigé et al. (2009) identificaram como sendo o gênero *Penicillium* o de maior prevalência em trigo, seguido de *Fusarium* e *Alternaria*. Já na pesquisa por micotoxinas os mesmo autores detectaram desoxinivalenol em 38 % das amostras de trigo, em 49% das amostras detectou zearalenona, sendo que não foi detectado aflatoxinas em nenhuma das amostras de trigo pesquisadas.

3.1.2.4 Milho e derivados

O milho (*Zea mays* L.) é um cereal consumido “in natura” ou na forma de produtos industrializados, tem grande contribuição na alimentação humana e animal, devido principalmente às suas características nutricionais como excelente fonte energética, em função do alto teor de amido, lipídios, proteínas e vitaminas encontradas nos grãos (PATERNIANI, 1978). É o segundo grão mais produzido no Brasil (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2010). Entretanto, aproximadamente 30% da produção, destina-se diretamente ao consumo humano, originando mais de 500 produtos derivados (LAFIS, 2003).

Os produtos derivados do milho como farinha de milho, fubá, flocos de milho, canjiquinha, xerém, dentre outros, são bastante apreciados na culinária brasileira, tendo participação efetiva como componente básico na dieta alimentar das camadas mais pobres da população (MELO-FILHO; RICHETTI, 1997).

É utilizado na indústria alimentícia na produção de amido de milho, glicose e alguns uísques, além de ingredientes de produtos industrializados. É rico em amido fibras e também vitaminas B1 e B2, E, fósforo e potássio. Na panificação é utilizado associado ao trigo. Quanto aos componentes nutritivos do milho e seus derivados se apresentam da seguinte forma, na Tabela 1.

Tabela 1- Composição do milho e seus derivados.

Alimento	Calorias (100g)	Proteínas(g)	Carboidratos(g)	Gorduras(g)
Milho Verde	325	3,3	63,5	5,2
Milho em Lata	101	2,7	20	0,7
Farinha de Milho	365	8,3	78	1,3

Fonte: Franco (2010)

O milho é um dos cultivos mais predispostos à contaminação por fungos durante a formação dos grãos, na colheita, no transporte e no armazenamento, com redução da qualidade sanitária, física e nutricional dos grãos e seus derivados e perdas do produto. Várias espécies de fungos, em condições favoráveis, podem produzir metabólitos tóxicos, as micotoxinas, ocasionando problemas de saúde pública e animal (LÁZZARI, 1997). Quando ocorre a disseminação de fungos nos grãos de milho, ainda no campo ou no armazenamento, os seus derivados, tais como, farinha, fubá, flocos e quirera, entre outros, carregarão os esporos e/ou os metabólitos fúngicos, como as micotoxinas (ASEVEDO et al., 1994; ALMEIDA et al., 2000).

A qualidade dos grãos de milho é alterada direta ou indiretamente quando estes são infectados por fungos, pela produção de micotoxinas, que ocasionam danos à saúde tanto humana quanto animal em razão da atividade tóxica que podem exercer sobre o organismo (FARIAS et al., 2000; KUMAR et al., 2008).

De acordo com Rodríguez-Amaya; Sabino (2002) os fungos mais frequentemente isolados de milho e seus derivados em todo o Brasil são *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Neurospora* e

Paecilomyces. Cardoso Filho et al. (2011) encontraram maior prevalência dos gêneros *Aspergillus*, seguidos por *Penicillium* e *Fusarium*, mas não detectaram aflatoxinas trabalhando com o derivado de massa de milho, denominado também de CUSCUZ.

Roigé et al. (2009) trabalhando com o milho detectaram desoxinivalenol em 59 % das amostras, zearalenona em 36% das amostras, obtiveram também uma maior frequência respectivamente de *Penicillium*, *Fusarium* e *Aspergillus*, e assim como Cardoso Filho et al. (2011) não detectaram aflatoxinas em milhos.

3.1.2.5 Arroz e derivados

Em todo o mundo, a cultura do arroz (*Oryza sativa* L.) apresenta um grande destaque pela sua importância econômica, sendo também este cereal, um alimento básico em diversos países. No Brasil, na terceira avaliação nacional para o ano de 2011, esse alimento teve uma produção 12,8 milhões de toneladas, sendo bem maior que no ano anterior, superior em 12,6%. Houve, frente à previsão de novembro, aumento de 4,2%, já que o Rio Grande do Sul, principal produtor, com 64,4% de participação na produção nacional, aumentou em 4,9% a produção esperada. A área plantada cresceu 1,1%, por conta da retomada de plantios que na safra 2010 (IBGE, 2011). O arroz é um cereal que faz parte do hábito alimentar do brasileiro, o que se confirma pelo alto consumo, considerando suas diferentes formas. O consumo médio interno é de aproximadamente 11,7 milhões de toneladas (WIKI, 2009).

No que diz respeito ao valor nutricional, o arroz contém grande quantidade de vitamina B1 e de sais minerais quando fervido com a casca. Pode ser utilizado para compor ingredientes de alimentos, na forma de farinhas para bolos, mingaus e doces, e também bebidas (aguardentes e saquê). Existem vários tipos de arroz, empregados em diversas preparações (ORNELLAS, 2006).

O flocó de arroz é também um dos principais derivados do arroz, que se apresenta como um produto crocante, fabricado à base de farinha de arroz, açúcar, malte e sal, utilizando-se o processo de extrusão. Este processo consiste em submeter os ingredientes à influência de calor, umidade, pressão e cisalhamento,

transformando-os em uma massa visco elástica, que emerge do extrusor. A queda súbita de pressão permite a vaporização de água e conseqüentemente a expansão da massa de cereal. O produto intumescido tem uma estrutura celular formada por bolsões de ar envoltos por paredes de amido gelatinizado, o que contribui para sua textura quebradiça (TAKEUCHI et al., 2005).

Muitos patógenos podem estar associados aos grãos e sementes do arroz, prejudicando a qualidade sanitária das sementes que serão utilizadas para o plantio e influenciando a qualidade nutricional dos grãos utilizados na alimentação (NUNES et al., 2003). Os gêneros fúngicos *Aspergillus* e *Penicillium* são considerados fungos de armazenamento. Contaminam cereais como: arroz, milho, trigo, sorgo, nozes, sementes de algodão e trigo usados na formulação de alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA; SABINO, 2002). Sua capacidade de crescer em altas temperaturas e baixa atividade de água os faz colonizadores de vários cultivos (MOSS, 1991).

De acordo com APHA (2001), os gêneros *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp., são os mais frequentemente associados com micotoxinas que ocorrem naturalmente em cereais como o arroz, podendo torná-lo impróprio para o consumo.

Todos os cereais, sem exceção, devem ser alvos de controle, pois podem estar contaminados por toxinas. Estudos demonstraram que o arroz não é um dos alimentos mais suscetíveis a aflatoxinas, mas pode contê-las (NUNES et al, 2003).

3.1.2.6 Mel

De acordo com a legislação brasileira entende-se por mel o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colméia (BRASIL, 2000).

A apicultura vem ganhando espaço no Brasil como uma atividade que gera lucros aos produtores, pois apresenta retorno rápido do capital investido. Além disso, as condições climáticas são bastante favoráveis ao desenvolvimento das abelhas do gênero *Apis* (APICULTURA, 2004).

Este alimento é uma solução concentrada de açúcares com predominância de glicose e frutose, que juntos perfazem cerca de 70% do total de carboidratos; dissacarídeos, incluindo sacarose, somam 10% e a água na qual os açúcares estão dissolvidos (SILVA et al., 2008).

Quando comparado com outros produtos de origem animal, o mel apresenta baixa quantidade de micro-organismos, porém não é um alimento estéril e está susceptível a contaminações pela manipulação inadequada (GOMES et al., 2005; AL-HIND, 2005).

As características microbiológicas do mel estão relacionadas com a qualidade e a segurança deste alimento. Os micro-organismos de importância são primariamente leveduras, fungos filamentosos (MOURA, 2010; CARNEIRO-PIRES, 2011) e bactérias formadoras de esporos. Estes micro-organismos podem estar envolvidos em atividades de deterioração do produto, produção de enzimas, toxinas, conversão metabólica do alimento, produção de fatores do crescimento (vitaminas e aminoácidos) e fatores de inibição de micro-organismos competidores (SILVA et al., 2008).

Hoje a legislação brasileira para mel (BRASIL, 2000) não contempla limites para as características microbiológicas, porém esse produto é consumido por indivíduos mais susceptíveis como crianças, idosos, gestantes e doentes (TCHOUMBOUE et al., 2007), sendo os únicos valores de referência estabelecidos pela RDC nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001) e constituindo na contagem de bolores e leveduras, e verificação da presença de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C.

É sabido que a microbiota do mel pode interferir na sua qualidade e/ou sanidade, encontram-se micro-organismos que em condições normais de umidade, não interferem na qualidade do mel e nem são patogênicos para o consumidor, inerentes ao pólen, ao trato digestivo das abelhas, sujidades, poeira, terra e ao néctar. Todos são de difícil controle (SNOWDON; CLIVER, 1996).

3.1.2.7 Castanha-do-Brasil

A castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H. B. K.), é um alimento pertencente ao grupo das nozes de árvores, também chamada na região por: castanha-do-

maranhão, castanha-do-Brasil, iniá, niá, nhá, eray, to Cary, tucá, turury, yá e yuvia, *almendras*, *noce del Brazile*, *paranuss*, *Brazil nuts*, *Para nuts*, *nigger to*, *noix du*, dentre outros. Foi descrita pela primeira vez em 1808, quando Humboldt e Bompland, e posteriormente Kunth, denominaram esta árvore presente na Floresta Amazônica (MENNINGER, 1977; NYBG, 2006).

Quanto à composição nutricional da castanha-do-Brasil, os componentes mais significativos são os lipídios, seguidos pelas proteínas, carboidratos e fibras, de forma que o valor energético é bastante elevado (MOODLEY et al., 2007). A amêndoa constitui um alimento bastante apreciado não só pelas suas qualidades nutritivas, mas também pelo seu sabor. Sua composição tem sido amplamente estudada e demonstra ser uma rica fonte nutricional, sendo popularmente chamada de carne vegetal, por ser um alimento de alto valor energético, rico em proteínas e valorizado pela presença de antioxidantes (GLÓRIA; REGITANO DARCE, 2000; COZZOLINO, 2001) e elevado teor de vitamina E, que pode estar relacionado com o teor de α -tocoferol (CHUNHIENG et al., 2004).

Alguns produtos incorporaram a castanha-do-Brasil na sua formulação, sendo possível obter cereais matinais, castanhas em barras de chocolate, barras energéticas bem como na confeitaria de pães, bolos, biscoitos e massas. (SOUZA; MENEZES, 2004).

As castanhas são provenientes de áreas tropicais e são expostas ao ambiente da floresta com elevado teor de umidade relativa, normalmente acima de 80 %, e de temperaturas maiores que 25°C. Tais condições podem permitir o crescimento de fungos, principalmente dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, que podem produzir diversas micotoxinas (PITT, 2006; PACHECO; SCUSSEL, 2006). A castanha-do-Brasil é um dos produtos que apresenta a maior incidência de aflatoxinas no Brasil, onde níveis da ordem de 2,25 ppm já foram detectados, comprovando a susceptibilidade desta cultura (BLANK et al., 2005; MELO; SCUSSEL, 2007).

3.1.2.8 Castanha de caju

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) pertence à família Anacardiaceae e é considerado uma das culturas de maior importância econômica do Nordeste, sendo cultivado principalmente nos estados do Ceará (68%), Rio Grande do Norte (11%) e

Piauí (8%). De uma forma simples, pode-se dizer que o caju é constituído da castanha (fruto verdadeiro) e do pedúnculo ou pseudofruto. As amêndoas de castanhas de caju são excelentes fontes de vitamina E, contendo, ainda, vitaminas do complexo B e minerais, estando associadas à prevenção de câncer. O pseudofruto de estrutura carnosa, suculenta é rico em vitamina C e minerais (LIMA, 2004).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de castanhas de caju, sendo que a safra para 2007 foi estimada em mais de 252 mil toneladas. (IBGE, 2007).

Estudos realizados pelo Centro Nacional de Pesquisa Agroindustrial Tropical (CNPAT) nos últimos anos confirmaram a presença de diversos fungos, associados à deterioração das amêndoas. Aproximadamente 10% das castanhas de caju que aportam nas indústrias de processamento não possuem amêndoas, por terem sido destruídas por fungos (PINHEIRO, 2004).

3.1.2.9 Uva passas e frutas secas

As uvas passas são obtidas através da secagem ao sol, sombra ou ar quente, essas são normalmente utilizadas em cereais matinais, lácteos, padarias e bares (RAMOS et al., 2004). Quase todas as frutas passas consumida no Brasil são importadas, mas a produção brasileira vem aumentando, e há um grande potencial para utilização excedente de frutas foras do padrão, para a produção de frutas passas, reduzindo as perdas de frutas frescas e agregando valor ao produto (GABAS et al., 1998).

Lamanaka et al. (2007) avaliaram a presença de aflatoxinas em 62 amostras de frutas secas comercializadas em São Paulo , importadas do Chile, Argentina, Turquia e Irã. Foram detectadas aflatoxinas em três de 19 (16%) das amostras de uvas passas brancas, com limite não superior a 2,0 ppb. Onze de 19 amostras (58%) de figo seco apresentaram aflatoxinas e, com exceção de uma amostra que apresentou 1500 ppb de aflatoxina B1, as demais não ultrapassaram 2,0 ppb. Nenhuma das 24 amostras de uvas passas pretas apresentaram aflatoxinas.

Pesquisas sobre a presença de micotoxinas realizadas em amostras de nozes (castanhas, nozes e amêndoas) e de frutas secas (uvas passas, damascos, ameixas secas e peras secas) comercializadas no Brasil, demonstraram que todas as amostras analisadas apresentaram contaminação por aflatoxinas. Sendo que as nozes apresentaram 21,7% de positividade, seguida das frutas secas com 7,1% (MALLMANN et al., 2003). No entanto, Freire et al. (1999) não detectaram aflatoxinas nas amostras de castanha de caju avaliadas no Ceará, apesar de identificarem 37 espécies de fungos nestas amostras.

3.1.2.10 Amendoim

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) tem como principal produtor no Brasil o Estado de São Paulo, com mais de 80% da produção nacional. A região Nordeste, por sua vez, detém aproximadamente 14% da produção. A área plantada, no conjunto dos estados informantes em dezembro de 2010, é de 66.055 ha (SANTOS et al., 2006).

Esta oleaginosa está sujeita à contaminação por fungos, devido à invasão destes micro-organismos ocorrerem no solo durante o processo de formação das sementes (ROSSETTO et al., 2003). Esta contaminação pode ocorrer também durante a colheita (PITT et al., 1991), nas fases de secagem, beneficiamento e armazenamento (ALMEIDA et al., 1998; BRUNO et al., 2000). As espécies mais encontradas são *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. e *Rhizopus* spp. (BRUNO et al., 2000; ROSSETTO et al., 2003).

No Brasil, a incidência de aflatoxinas tem sido observada com frequência, e em níveis elevados, em alimentos utilizados para consumo humano e animal, como milho, amendoim e derivados. A contaminação de derivados de amendoim, como paçocas e outros doces, assume destacada relevância em saúde pública, dado que as crianças constituem os principais consumidores desses produtos (OLIVEIRA; GERMANO, 1997).

Possuindo condições favoráveis, várias espécies fúngicas podem produzir micotoxinas, que são metabólitos secundários com potencial para causar toxicoses

ao homem e aos animais, quando as sementes contaminadas são destinadas à alimentação.

3.1.2.11 Outros ingredientes que também são observados na composição da granola

Existem muitos outros ingredientes que compõe a granola como: edulcorante natural ou artificial, gordura ou óleo vegetal, melado de cana, coco ralado, açúcar mascavo, açúcar, sementes oleaginosas, sal, estabilizantes, aromatizantes, chocolate, dentre outros, podem estar presentes ou não. Isso dependerá da formulação padrão de cada fabricante, marca e sabor da granola.

O objetivo de citar os componentes que compõem a granola e dentre eles identificar os mais propícios para o desenvolvimento de fungos se deve a necessidade de conhecer, pois são muitos e variáveis, conforme a marca e receita dos fabricantes; e estes por serem de origem vegetal, portanto, podem veicular fungos devido a sua origem e manipulação. Os ingredientes mais utilizados e mais propícios a contaminação fúngica são trigo, milho, frutas secas, sementes oleaginosas, por isso, as boas práticas de fabricação devem ser observadas principalmente na escolha da matéria prima que compõem a formulação desse produto, para assim, prevenir micotoxicoses nos consumidores.

3.2 Fungos

Os fungos são organismos eucarióticos cujos núcleos são dispersos em um micélio contínuo ou septado. Sua nutrição é obtida por absorção. São saprofitos, parasitas facultativos ou biotróficos. Crescem como célula única (leveduras) ou como colônias filamentosas multicelulares (fungos filamentosos). Encontram-se em abundância no solo, nos vegetais e nas águas e se reproduzem por meios de ciclos telemorfos e anamorfos (TRABULSI et al., 2008).

Os bolores podem formar colônias com aspectos diversos, que variam de seco e pulverulento a úmido e gelatinoso. O micélio é usualmente incolor e as diferentes tonalidades das colônias são decorrentes da maciça produção de esporos

assexuais, resultando em diversas colorações, como: verde, verde azulada, laranja, castanha, cinza ou preta. Particularmente nos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*, essas colorações são bastantes características e auxiliam na identificação de gêneros e espécies (LEITÃO, 1998; TRABULSI et al., 2008).

Os fungos constituem um grupo diversificado de organismos que apresentam grande importância ecológica e econômica. Cerca de 70.000 espécies de fungos já foram descritas, entretanto, estima-se que o número total seja de aproximadamente 1,5 milhão. Esses organismos são considerados de grande importância por várias razões: são os decompositores primários em todos os ecossistemas terrestres, constituem importantes associações simbióticas com plantas vasculares (micorrizas), constituem a grande maioria dos patógenos de plantas, oferecem sistemas genéticos para os biólogos moleculares, e são cruciais para a biotecnologia industrial (LI et al., 2000).

Todavia, são indesejáveis nos alimentos, porque são capazes de produzir uma grande variedade de enzimas que, agindo sobre os mesmos, provocam sua deterioração. Os fungos têm sido evidenciados como microrganismos de grande importância para os alimentos. Estes têm sido responsáveis por perdas econômicas de relevância, o que representa uma série de prejuízos em todo o mundo (DANTIGNY et al., 2005; PEREIRA, et al., 2005), devido capacidade de produzir micotoxinas, que são metabólitos secundários com potencial de toxicoses ao homem e aos animais, depois de ingeridos. Outro metabólito capaz de ser produzido por fungos é o etanol, que possui baixo peso molecular e é tóxico apenas em alta concentração (BENNETT; KLICH, 2003).

A contaminação e a deterioração dos alimentos pelos fungos são mais comuns que as originadas por qualquer outro grupo de microrganismos. A contaminação por fungos é importante não apenas sob o ponto de vista sensorial, mas também pelo perigo que a produção de micotoxinas representa para o consumidor (MUNINBAZI; BULLERMAN, 1996). Os efeitos do crescimento fúngico nos alimentos incluem diminuição do poder de germinação, emboloramento visível, descoloração, odor desagradável, perda de matéria seca, aquecimento, mudanças químicas e nutricionais, perda de qualidade e produção de micotoxinas (POMERANZ, 1982; LAZZARI, 1998; JUNIOR, 2009)

Amplamente distribuídos na natureza os fungos necessitam de substratos para seu desenvolvimento. Por isso são contaminantes comuns de alimentos, grãos e rações, os quais apresentam nutrientes como carboidratos, proteínas e lipídeos, constituintes adequados para o desenvolvimento desses micro-organismos (GOURAMA; BULLERMAN, 1995; MEIRELLES et al., 2006). Dentre os fungos micotoxigênicos envolvidos na cadeia alimentar humana destacam-se os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, os quais são responsáveis pela grande maioria das micotoxinas até hoje conhecidas e estudadas (SWEENEY; DOBSON, 1998; HERMANN et al., 2006).

3.2.1 *Aspergillus* spp.

Os fungos deste gênero habitam em uma ampla variedade de ambientes, sendo os mais frequentes em solo e alimentos. Algumas espécies, principalmente o *Aspergillus oryzae* têm importância econômica na manufatura da fermentação de alimentos, como na produção de *sake*, assim como a utilização de suas enzimas na alimentação de bovinos. Os *Aspergillus* também podem causar impacto negativo na economia tanto pela produção de toxinas potentes, quanto pela deterioração de alimentos (KLICH; PITT, 1988; RIBEIRO et al., 2003; SAMSON et al., 2004; PITT; HOCKING, 2009; EMBRAPA, 2010).

A presença de *Aspergillus flavus* em alimentos representa um perigo potencial, pois pode ocasionar enfermidades nos colaboradores que diretamente estão em contato com ele, como a aspergilose (AKAN et al., 2002), alergias e problemas respiratórios pelo contato e inalação de conídios.

Segundo Ribeiro et al. (2003), o gênero *Aspergillus* é considerado como o principal deteriorador de sementes e de grãos, causando danos, descoloração e alterações nutricionais. A presença de fungos nos alimentos, principalmente dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* é indesejável porque algumas espécies são capazes de produzir enzimas deterioradoras; bem como, a produção de micotoxinas, que são produtos tóxicos do metabolismo secundário, e representam um risco de contaminação ambiental, acarretando sérios prejuízos à saúde humana. Essas toxinas (aflatoxinas e ocratoxinas) liberadas por tais espécies podem estar presentes em diversos alimentos que constituem a principal fonte de exposição para o homem

(CORRÊA et al., 1997; HERMANNNS et al, 2006;BANDO et al., 2007; CHIOTTA et al., 2009).

3.2.2 *Penicillium* spp.

O gênero *Penicillium* possui a maior quantidade de espécies e pode ser encontrado em quase todos os substratos. São considerados ubíquos e saprófitos oportunistas. A maioria das espécies habita o solo e sua ocorrência em alimentos se dar de forma accidental. Algumas espécies causam patologias graves e destrutivas em frutos e cereais, crescendo com baixa presença de oxigênio, atividade de água mínima de 0.80. Vários são psicotróficos e capazes de causar deterioração alimentar em produtos mantidos sobre refrigeração (SAMSOM et al., 2004; PITT; HOCKING, 2009). Alguns fungos desse gênero são capazes de produzir micotoxinas, como a Ocratoxina produzida pelo *Penicillium verrucosum*, e a citrinina produzida pelo *P. citrinum*.

3.2.3 *Fusarium*

Os fungos pertencentes ao gênero *Fusarium* desenvolvem-se em colônias que apresentam crescimento rápido e são largamente distribuídas no solo, principalmente nos cultivados, estando presente na decomposição da celulose de algumas plantas. Eles são a maior causa de deterioração em frutos e vegetais e são comumente encontrados em cereais de uma forma geral (SAMSOM et al., 2004; PITT; HOCKING, 2009). Algumas espécies de *Fusarium* (*Fusarium sp*, *F. verticillioides* e *F. proliferatum*) são patógenas e destroem os cereais e outros produtos, através da produção de zearalenona, fumonisinas e tricotecenos (JAY, 2005), representando perigo à saúde da população e de animais, podendo causar câncer de esôfago em quem consome esses vegetais com fumonisina. Estas micotoxinas são produzidas antes ou logo após a colheita (HIROOKA et al., 2007).

3.3 Micotoxinas

A palavra micotoxina deriva do grego *mikes* (fungo) e do latim *toxicum* (veneno), ou seja, toxina produzida por fungos em condições específicas

(SCUSSEL, 1998) e que possuem caráter carcinogênico, mutagênico e teratogênico, com efeitos crônicos ou agudos em animais e humanos (IARC, 2006; BINDER et al., 2007).

As micotoxinas mais conhecidas são: as aflatoxinas, ocratoxinas, zearolenona, tricotecenas (Toxina T₂, deoxinivalenol, nivalenol), citrina, patulina, ácido penicílico, sterigmatocistina, toxinas de alternaria (alternariol, altenariol monometil éter, altenuéne), toxinas tremogênicas (penitrem A e B), rubratoxinas A e B, islanditoxina, rugolosina, citreoviridina e fumonisinas B₁ e B₂ (CAST, 2003; IARC, 2006; PITT; HOCKING, 2009).

Existem mais de 100 espécies fúngicas micotoxigênicas, que podem produzir mais de 400 diferentes tipos de micotoxinas, sendo que dessas mais de 250 já tiveram sua estrutura química definida. Os principais fungos produtores pertencem aos gêneros: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizoctonia* e *Stachybotrys*, dentre eles destacam-se os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, que são considerados os de maior importância para alimentos, por serem os mais encontrados e os maiores produtores de micotoxinas (PATERSON et al., 2004; PEREIRA et al., 2005; ROSA et al., 2006; SIMAS et al., 2007). No entanto, a maioria ainda não tem claramente definido seu impacto biológico sobre a saúde humana, animal e ao ambiente (KNASMULLER et al., 2004). Esses fungos podem ser encontrados em uma diversidade de alimentos (BATISTA; FREITAS, 2000; PEREIRA et al., 2005; HERMANNNS et al., 2006; CHIOTTA, et al., 2009; CARDOSO FILHO, 2011).

A presença de fungos em alimentos não significa necessariamente a presença de micotoxinas (PEREIRA et al., 2002), entretanto, elevadas contagens fúngicas são consideradas indicativo da presença de micotoxinas no alimento (FAO, 2004).

As micotoxinas quando presentes nos alimentos são potencialmente perigosas para a saúde, pois além de não estimular o sistema imune, possuem vários efeitos tóxicos e dificilmente são degradadas, pois possuem de modo geral grande estabilidade química que permite sua presença durante as etapas de processamento de alimentos (TRISTAN, 2002; GARDA; BADIALE-FURLONG, 2003; RICHARD, 2007). As principais micotoxinas, em quais alimentos elas podem ser

encontradas, os fungos que as produzem, como também os efeitos causados por elas estão contido na Tabela 2.

Tabela 2- Micotoxinas em grãos de primeira necessidade e semente.

Micotoxina	Produto	Fontes	Efeito da ingestão
Deoxivaleno/ nivalenol	Trigo, milho e cevada	<i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium crookwellense</i>	Toxicose humana relatada na Índia, Japão e Coréia. Tóxico para animais, especialmente porcos.
Zearalenona	Milho, trigo	<i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium crookwellense</i>	Identificado pela Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (AIPC) como possível cancerígeno humano. Afeta sistema reprodutivo em porcas
Ocratoxina A	Cevada, trigo e muitos outros produtos	<i>Aspergillus ochraceus</i> e <i>Aspergillus carbonarius</i> <i>Penicillium verrucosum</i>	Suspeita pela AIPC como cancerígeno humano. Cancerígeno em porcos e animais de laboratório
Fumonisina B ₁	Milho	<i>Fusarium moniliforme</i> e <i>Fusarium verticillioides</i>	Suspeita pela AIPC como cancerígeno humano. Tóxica para porcos e aves domésticas. Causa leucoencefalomalácia equina, doença fatal em cavalos
Aflatoxina B ₁ , B ₂	Milho, amendoim e muitos outros produtos	<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxina B ₁ e misturas que ocorrem naturalmente, indentificadas como cancerígenas pela AIPC. Efeitos em vários animais, especialmente galinhas
Aflatoxina B ₁ , B ₂ , G ₁ e G ₂	Milho e amendoim	<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxina B ₁ e misturas que ocorrem naturalmente, indentificadas como cancerígenas pela AIPC. Efeitos em vários animais, especialmente galinhas

Fonte: FAO (2011)

3.3.1 Aflatoxinas

Essas micotoxinas são principalmente produzidas por fungos da espécie *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, que são ubíquos no ambiente e potencialmente capazes de produzir contaminação direta em uma grande variedade de alimentos (HERMANNNS et al, 2006; REDDY et al., 2009; ROIGÉ et al., 2009; FERNÁNDEZ-CRUZ et al., 2010).

Foram relatados 18 tipos de aflatoxinas (MÍDIO; MARTINS, 2000; GIMENO, 2000), sendo que a aflatoxina B1 é a mais prevalente e biologicamente ativa dentre as aflatoxinas, e é considerado o mais potente hepatotóxico e carcinogênico, além de ser um imunossupressor natural conhecido por afetar humanos e animais (CREPPY, 2002; WILLIAMS et al., 2004). Seus efeitos variam com a espécie, idade, sexo e estado nutricional (CAST, 2003), ela possui características nefrotóxicas, mutagênicas, teratogênicas e também causam encefalopatias. Tem sido identificada como fator associado ao câncer hepático, após a ingestão de alimentos contaminados (GIMENO, 2000; FERREIRA et al., 2006).

Os sinais da intoxicação por aflatoxinas dependem principalmente de sua concentração no alimento, do tipo e do tempo de ingestão (OGIDO et al., 2004), são potencialmente cancerígenas e podem causar toxicidade aguda quando em concentrações elevadas (KABAK; DOBSON, 2006; KHANAFARI et al., 2007). Além disso, produzem efeitos mutagênicos, teratogênicos e imunossupressores (MURTHY et al., 2005). Por isso, são motivo de grande preocupação devido aos seus efeitos nocivos sobre a saúde dos seres humanos e animais, também caracterizada pela imunodepressão e por anomalias ósseas, hemorragias e despigmentação (MIAZZO et al., 2005).

Há no Brasil uma recomendação do Ministério da Saúde, de que para qualquer ingrediente a ser utilizado na formulação de rações, não deverá exceder os níveis de 50 µg/kg de aflatoxinas, esse limite também vale para o produto final, ou seja, a ração (BRASIL, 2002).

As aflatoxinas no Brasil, têm sido encontradas em amendoim e seus derivados (SANTOS et al., 2001; CALDAS et al., 2002), em alimentos destinados a bovinos, em leite líquido (TAVEIRA; MIDIO, 1999; PEREIRA et al., 2005) e amêndoas de castanha-do-Brasil e de cajueiro (FREIRE et al., 1999; CALDAS et al., 2002), em produtos de milho (KAWASHIMA; VALENTE SOARES, 2006).

As aflatoxinas têm sido associadas à etiologia de neoplasias hepáticas em humanos, mediante a ingestão de alimentos contaminados. Além disso, evidências demonstraram que as aflatoxinas podem estar associadas ao desencadeamento de outras doenças, tais como: síndrome de Reye, causa de encefalopatias e o Kwashiorkor, severa forma de desnutrição (OLIVEIRA; GERMANO, 1997; CAST,

2003; KABAK; DOBSON, 2006; KHANAFARI et al., 2007).). Além de propriedades oncogênicas e imunossupressivas, induzindo infecções em pessoas contaminadas com essas substâncias.

Na última década, as pesquisas têm contribuído para melhor caracterizar os possíveis efeitos das Aflatoxinas sobre a saúde humana, com destaque aos experimentos de atividade biológica e em âmbito molecular sobre Aflatoxina B1 em células hepáticas e sua aplicação em estudos populacionais (OLIVEIRA; GERMANO, 1997). Em contrapartida, por conta do valor econômico, os estudos sobre efeitos das Aflatoxinas em animais mostram-se mais avançados do que as investigações realizadas em humanos (SANTURIO, 2000; FERREIRA, et al, 2006). Tendo em vista também as dificuldades em realizar pesquisas em humanos, tanto no que diz respeito ao protocolo ético como as dificuldades em realizar pesquisa com micotoxinas em humanos.

3.3.2 Ocratoxinas

As ocratoxinas são consideradas como uma das principais micotoxinas encontradas em alimentos, naturalmente produzidas por fungos das espécies *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus carbonarius* e *Penicillium verrucosum*. Existem sete tipos de ocratoxinas, sendo a ocratoxina A o metabólito primário mais abundante e mais tóxico dentre as ocratoxinas encontradas na natureza. (MAGNOLI et al, 2004; WELKE et al., 2009), é classificada pelo IARC como um agente possivelmente carcinogênico para humanos (IARC, 2006).

As ocratoxinas têm sido encontradas em diferentes tipos de alimentos incluindo o trigo, milho, café, cacau, cevada, cerveja, figos secos, centeio, queijo, pão, uvas, feijão seco, grãos de soja, frutas cítricas, castanhas do Brasil, tabaco mofado, presunto curado, amendoins e demais produtos similares. (JAY, 2005; WELKE et al., 2009).

A Ocratoxina A (OTA) possui diversas propriedades tóxicas, principalmente nefrotóxicas (JECFA, 2001). Esta micotoxina foi associada à nefropatia endêmica dos Balcãs, doença caracterizada por progressiva redução das funções renais em humanos. Em estudos com animais, a OTA tem demonstrado efeitos carcinogênicos,

mutagênicos, teratogênicos, imunossupressores, genotóxicos e neurotóxicos (CAST, 2003).

A Agência Internacional para Pesquisa do Câncer classificou a ocratoxina A como um possível cancerígeno humano (categoria 2B) (BEARDALL; MILLER, 1994). Aproximadamente, 50% das amostras de arroz, feijão, milho e trigo, analisadas no Brasil, apresentaram níveis de ocratoxina A (CALDAS et al., 2002), além de ter sua presença também confirmada em café torrado e moído e em café solúvel (PRADO et al., 2000).

3.3.3 Legislação para micotoxinas

Com o intuito de proteger a saúde dos consumidores contra os efeitos nocivos das micotoxinas, as legislações têm sido aplicadas em muitos países, os níveis máximos de tolerância, em alimentos *in natura* e processados também em rações para animais de abate e de estimação. As mais conhecidas são aquelas que regulamentam os níveis de micotoxinas. Existem diversos fatores que conduzem à elaboração dessas legislações. Por exemplo, existem os aspectos científicos, tais como a disponibilidade de informações toxicológicas, o conhecimento acerca da distribuição das micotoxinas nos alimentos, além da metodologia analítica. Também, devem ser considerados os aspectos políticos e econômicos, principalmente com relação aos interesses comerciais e aos impactos na disponibilidade da oferta de alimentos (VAN EGMOND; DEKKER, 1995; VERARDI; FROIDMONT-GORTZ, 1995; VAN EGMOND; JONKER, 2004).

Em levantamento feito pela FAO (2003), foi constatado que cerca de 100 países já continham legislações que regulam os limites de micotoxinas em alimentos, rações e commodities. Sendo que os países cobertos por essas legislações englobam aproximadamente 90% da população mundial.

No Brasil, com base nos conhecimentos então disponíveis, estabeleceu-se a legislação brasileira sobre micotoxinas para alimentos de consumo humano (Ministério da Saúde, Resolução RDC n° 274, ANVISA, de 15 de outubro de 2002, publicado no Diário Oficial da União em 16/10/02), que considera as seguintes quantidades máximas por alimento: a) amendoim e milho podem conter

aproximadamente 20 µg/Kg de aflatoxinas (B₁+B₂+G₁+G₂); b) leite fluido, 0,5 µg/Kg de M₁; c) leite em pó, 5,0 µg/Kg de M₁ (BRASIL, 1977; BRASIL, 1996, BRASIL, 1996, 1997, 2002).

Em 2011, foi publicada uma nova Resolução RDC nº 07/2011 (BRASIL, 2011), pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a qual estabelece que alimentos comercializados no Brasil deverão respeitar um limite máximo para a presença de micotoxinas e terão até o ano de Janeiro de 2016 para se adaptarem. Esses alimentos e limites estão contidos na Tabela 3.

Tabela 3- Limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas.

Micotoxinas	Alimento	LMT (µg/kg)	
Aflatoxina M ₁	Leite fluído	0,5	
	Leite em pó	5,0	
	Queijos	2,5	
Aflatoxinas B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	Cereais e produtos de cereais, exceto milho e derivados, incluindo cevada malteada	5,0	
	Feijão	5,0	
	Castanhas exceto Castanha-do-Brasil, incluindo nozes, pistachios, avelãs e amêndoas	10,0	
	Frutas desidratadas e secas	10,0	
	Castanha-do-Brasil com casca para consumo direto	20,0	
	Castanha-do-Brasil sem casca para consumo direto	10,0	
	Castanha-do-Brasil sem casca para processamento posterior	15,0	
	Alimentos à base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	1,0	
	Fórmulas infantis para lactentes e fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância	1,0	
	Amêndoas de cacau	10,0	
	Produtos de cacau e chocolate	5,0	
	Especiarias: <i>Capsicum</i> spp. (o fruto seco, inteiro ou triturado, incluindo pimentas, pimenta em pó, pimenta de caiena e pimentão-doce); <i>Piper</i> spp. (o fruto, incluindo a pimenta branca e a pimenta preta) <i>Myristica fragrans</i> (noz-moscada) <i>Zingiber officinale</i> (gengibre) <i>Curcuma longa</i> (curcuma). Misturas de especiarias que contenham uma ou mais das especiarias acima indicadas	20,0	
	Amendoim (com casca), (descascado, cru ou tostado), pasta de amendoim ou manteiga de amendoim	20,0	
	Milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmolos de milho	20,0	
	Ocratoxina A	Cereais e produtos de cereais, incluindo cevada malteada	10,0
		Feijão	10,0
		Café torrado (moído ou em grão) e café solúvel	10,0
Vinho e seus derivados		2,0	
Suco de uva e polpa de uva		2,0	
Especiarias: <i>Capsicum</i> spp. (o fruto seco, inteiro ou triturado, incluindo pimentas, pimenta em pó, pimenta de caiena e pimentão-doce) <i>Piper</i> spp. (o fruto, incluindo a pimenta branca e a pimenta preta) <i>Myristica fragrans</i> (noz-moscada) <i>Zingiber officinale</i> (gengibre) <i>Curcuma longa</i> (curcuma) Misturas de especiarias que contenham uma ou mais das especiarias acima indicadas		30,0	
Alimentos a base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)		2,0	
Produtos de cacau e chocolate		5,0	
Amêndoa de cacau		10,0	
Frutas secas e desidratadas		10,0	
Desoxinivalenol (DON)		Arroz beneficiado e derivados	750,0
	Alimentos a base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	200,0	
Fumonisinias (B ₁ + B ₂)	Milho de pipoca	2000,0	
	Alimentos a base de milho para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	200,0	

Zearalenona	Alimentos a base de cereais para alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	20,0
Patulina	Suco de maçã e polpa de maçã	50,0

Fonte: Brasil (2011)

3.3.4 Prevenção e controle de micotoxinas em grãos e sementes

Para reduzir ou prevenir o crescimento de fungos, com conseqüente produção das micotoxina nos alimentos é necessária a adoção de várias ações como: secar o produto uniformemente e o mais cedo possível depois da colheita, evitar danos aos grãos durante a colheita, a manipulação, a malhada ou a secagem, manter o armazém fresco e seco, evitar condensação, manter o melhor possível temperaturas constantes dentro do armazém, controlar regularmente, evitar uma absorção de umidade como resultado de um arejamento errado ou de uma entrada de água ao armazém, controlar o desenvolvimento de uma população de insetos numerosa (pontos sobre aquecidos), efetuar novas secagens das partes da pilha que apresentam um teor em umidade demasiadamente alto, desinfetar as instalações e os equipamentos de colheita, limpar os silos e graneleiros removendo o pó, lixo e outros materiais. O consumidor deverá tomar cuidado quanto as embalagens violadas, validades vencidas, ou produtos a granel com aparência duvidosa. Ao abrir uma embalagem, antes de consumir o produto, fazer uma inspeção rigorosa quanto a aspecto e sabor do alimento (CHRISTENSEN, MERONUCK, 1986; FAO, 1997, CODEX ALIMENTARIUS, 2006; BBIS, 2011).

3.4 Controle de micotoxinas por destoxificação

A destoxificação dos alimentos contendo micotoxinas é difícil e dispendiosa (QUILLIEN, 2002). Por isso, a necessidade de prevenir a formação dessas micotoxinas através da implementação de um programa de qualidade que se baseie em boas práticas de pré e pós-colheita e em planos de controle ao longo da cadeia alimentícia.

O uso de adsorventes é muito utilizado para os animais contra as micotoxicoses, onde estes são misturados a ração. Os adsorventes previnem ou limitam a absorção da toxina no trato gastrointestinal, reduzindo assim o potencial de transmissão para a cadeia alimentar humana. O uso de adsorventes apresenta vários pontos positivos como: relação custo-benefício favorável, segurança, além de fácil administração através da inclusão à ração animal.

A análise de adsorventes de micotoxinas *in vitro* é uma ferramenta muito útil para a triagem de potenciais agentes sequestrantes. Essas técnicas laboratoriais não apenas auxiliam na identificação de potenciais adsorventes, mas também ajudam a determinar os mecanismos e as condições favoráveis para a adsorção ocorrer. A eficiência de um aluminossilicato organicamente modificado (AAM) em adsorver aflatoxina B₁ (AFB₁), ocratoxina A (OTA), zearalenona (ZEN) e fumonisina B₁ (FB₁) foi realizado na Universidade de Munique, na Alemanha. Os resultados da avaliação *in vitro* sugerem que o AAM é um adsorvente eficaz para a aflatoxina B₁, ocratoxina A, zearalenona e fumonisina B.

Estudos *in vivo* são também necessários para determinar a estabilidade dos complexos formados no trato gastrointestinal e também para estabelecer a natureza inócua desses compostos. Ao estimar a habilidade de adsorventes inorgânicos em prevenir os efeitos adversos das micotoxinas em estudos *in vitro*, deve-se ter cautela, devido potencial interação com nutrientes (RAMOS et al., 1996; DWYER et al., 1997; ABREU et al., 2008; LOPES et al., 2009).

São muitos os custos relacionados com as perdas devido à presença de micotoxinas, é difícil estimar, entretanto existem alguns critérios para avaliar o impacto econômico. Consideram-se a perda de vida humana e animal, gastos com tratamentos médicos e tratamentos veterinários, perdas na produção animal, de alimentos e de ração, além dos gastos relacionados com pesquisas visando minimizar o impacto e a severidade dos problemas ocasionados pelas micotoxinas (BRASEL, 2001; CAST, 2003; HUSSEIN s.d).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta das amostras

As amostras foram adquiridas de novembro de 2010 a março de 2011. Para escolha do local de coleta foram verificado quais supermercados comercializavam granola com regularidade e dentre estes, um deles foi sorteado para a coleta das amostras.

Para escolha das marcas de granola a serem analisadas foi realizada uma entrevista com o gerente do supermercado, em seguida, as que apresentavam maior expressão de vendas foram escolhidas para a amostragem. Durante a coleta das amostras foram verificados os seguintes itens: integridade das embalagens, instruções de rotulagem, condições de higiene e de temperatura ambiente do local.

Foram coletadas 60 amostras de granola de 250 e 300g de quatro marcas, correspondente a 15 amostras por marca. As mesmas foram caracterizadas como “A”, “B”, “C” e “D”. Após a coleta, as amostras foram encaminhadas em sacolas plásticas do estabelecimento comercial em temperatura ambiente, diretamente para o Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos do Núcleo de Estudos, Pesquisas e Processamento de Alimentos (NUEPPA), do Centro de Ciências Agrárias, pertencente à Universidade Federal do Piauí, para a realização das análises microbiológicas, físico-químicas e análise de micotoxinas.

4.2 Análise físico-química

4.2.1 Análise de atividade de água

A atividade de água (Aa) de cada amostra foi realizada em triplicata. Os procedimentos utilizados foram realizados conforme a metodologia da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1998). Desse modo, a Aa foi determinada utilizando-se um aparelho de leitura em ponto de orvalho portátil modelo Decagon Pawkit digital previamente calibrado. De cada amostra foram retiradas porções individuais com aproximadamente 10g que foram transferidas para depósito plástico

próprio do aparelho. Em seguida, após acoplamento do depósito e estabilização, foi realizada a leitura direta no painel.

4.3 Análises microbiológicas

4.3.1 Contagem de fungos filamentosos e leveduras

No laboratório a embalagem de granola foi aberta assepticamente e o seu conteúdo foi transferido integralmente para um copo de liquidificador doméstico (previamente higienizado) para homogeneização da amostra. Após homogeneizar, as amostras individualmente, foram retiradas assepticamente 25 gramas, que foram transferidas para frascos com 225,0 mL de água destilada esterilizada, obtendo-se assim uma diluição inicial de 10^{-1} e a partir dessa diluição foram preparadas diluições decimais até 10^{-3} , as quais foram utilizadas para a contagem e isolamento de fungos pela técnica de semeadura em superfície (Dalcero et al., 1997). De cada diluição foram transferidas alíquotas de 0,1 mL para placas de Petri contendo o Ágar Dichloran Rose Bengal Clorafenicol (DRBC) que foram semeadas em duplicata, com o auxílio de alça de Drigalski. Após a completa absorção, incubou-se as placas por sete dias a 25°C. Após esse período, foram selecionadas as placas que apresentaram contagem entre 10 a 100 unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g).

4.3.2 Isolamento e identificação da micobiota toxígena

Após as contagens das colônias, preparou-se lâminas das colônias isoladas para visualização microscópica e identificação dos gêneros fúngicos. As colônias fúngicas pertencentes ao gênero *Aspergillus* e *Penicillium* foram identificadas utilizando as chaves de identificação descritas por Klich (2002) e Pitt (1988), baseadas na semeadura em quatro meios básicos: Czapek yeast extract agar (CYA); malt extract agar (MEA); Czapek yeast extract agar 20% sucrose (CY20S) e Agar 25% Glicerol Nitrate (G25N). Foi preparada uma suspensão de conídios a partir de cada cepa em 0,5 mL de meio constituído de 0,2% de agar-agar e 0,05% de Tween 80TM, distribuído em microtubos previamente esterilizados a 121°C por

15 minutos (PITT; HOCKING, 2009). A seguir, foi introduzida a agulha de platina na suspensão de conídios e foram inoculados três pontos equidistantes nas placas contendo meios CYA, MEA, CY20S e G25N. Estas placas foram incubadas por sete dias a 25° C.

4.4 Análises de micotoxinas

4.4.1 Produção de Aflatoxinas por *Aspergillus* da seção *Flavi*

As cepas de *Aspergillus flavus* isoladas foram testadas quanto à produção de Aflatoxinas, elas foram cultivadas em placas MEA a 25°C por sete dias. O micélio foi transferido para um micro tubo juntamente com 1000 µL de clorofórmio. A mistura foi agitada a 4000 rpm por 20 minutos em temperatura ambiente, o micélio foi removido e o extrato de clorofórmio evaporado a temperatura ambiente. O resíduo foi redissolvido em 200 µL de clorofórmio, para serem analisados por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel 60 F254, TLC chapas de alumínio (20 x 20 cm, espessura, 250 µm, Merck, Alemanha). O líquido carreador foi o clorofórmio: acetona (90:10 v/v). O limite de detecção do método utilizado é de 5,0 µg/g.

4.4.2 Produção de Ocratoxina A por *Aspergillus* da seção *Nigri*.

Todas as cepas de *Aspergillus* seção *Nigri* isoladas das granolas foram testadas para produção de ocratoxina A (OTA). A OTA foi determinada seguindo a metodologia descrita por Bragulat et al, (2001). As cepas foram cultivadas em agar Czapeck Extrato de Levedura (CYA) a 28°C por sete dias sem presença de luz. Três pedaços do agar foram retirados da área central da colônia, introduzidos em um microtubo e pesados. Um volume de metanol (1000 µL) foi adicionado ao micro tubo com capacidade de 1,5 mL. A mistura, amostras e solvente foi centrifugada por 10 min. a 10.000 rpm e o sobrenadante foi filtrado e evaporado à temperatura ambiente até a completa evaporação. O resíduo foi redissolvido em 1ml de metanol. Os extratos foram analisados por TLC. Os líquidos carreadores utilizados foram o tolueno: acetato de etila: clorofórmio: ácido fórmico (70:50:50:10). O limite de detecção do método utilizado é 5,0 µg/g.

4.4.3 Determinação de Aflatoxinas

A extração de aflatoxinas das amostras foi realizada utilizando colunas Multifuncional Mycosep 228 (MFC, Romer Labs®, Inc., MO., USA), seguindo a metodologia do fabricante.

Para extração de aflatoxina da granola, utilizou-se 25 g de cada amostra, que foi acrescida em 100 mL de acetonitrila: água (84:16, v/v) e mantida em homogeneização em liquidificador por 3 minutos. Após a homogeneização a mistura foi filtrada em papel Whatman N° 4 (Whatman, Inc., Clifton, New Jersey, EUA). Retirou-se do filtrado uma alíquota de 8,0 mL que foi transferida para um tubo de 10 mL. Purificou-se o filtrado com o uso de colunas Multifuncional Mycosep 224 (MFC, Romer Labs®, Inc., MO.,EUA). Após essa limpeza, foram coletados 4,0 mL do extrato purificado, que foram evaporados em banho-maria em temperatura de 70°C.

A detecção e quantificação de aflatoxina B₁ foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de acordo para (TRUCKSESS et al, 1994). Uma alíquota (200 µL) foi derivatizada com 700 µL de ácido trifluoroacético, ácido acético-água (20:10:70, v/v). As separações cromatográficas foram realizadas em uma coluna de fase reversa (Sílica Gel, 150 x 4,6 mm id. Tamanho de partículas de 5,0 µ, Varian, Inc. Palo Alto, EUA). A fase móvel utilizada foi Metanol-água (60h40min v / v) a uma vazão 1,0 mL min.⁻¹. Detector de fluorescência com excitação e comprimentos de onda de emissão de λ 360 nm e λ de 460 nm, respectivamente. As curvas padrões foram construídas com diferentes níveis de aflatoxinas B₁. Esta toxina foi quantificada pela correlação de alturas dos picos dos extratos da amostra com as curvas dos padrões. O limite de detecção do método analítico é de 0,4 ng g⁻¹.

4.5 Análise estatística

Os resultados das contagens foram transformados em $\log_{10}^{(x+1)}$, correlacionados e realizada a análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de média de acordo com os procedimentos do pacote estatístico Sigma Stat (1994) com significância de 5,0%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No momento da aquisição das amostras a temperatura do local de comercialização variou de 26,2° a 29,5°C. As granolas estavam expostas em prateleiras limpas, em local arejado, bem higienizado e iluminado de acordo com a RDC 216/04 da ANVISA para produtos secos (BRASIL, 2004). As embalagens apresentavam-se limpas, sem danos, apresentando número do lote, validade, com gramatura entre 250g e 300g, informações nutricionais atendendo a normatização de rotulagem dos alimentos, a RDC n° 360/2003 da ANVISA (BRASIL, 2003).

As marcas de granolas comercializadas em Teresina, PI foram industrializadas nas cidades: São José de Mipibu, RN (marca “A”); Curitiba, PR (marca “B”); Vitória da Conquista, BA (marca “C”) e Fortaleza, CE (marca “D”). Todas possuíam formulações diferenciadas conforme o fabricante utilizando quantidades de ingredientes que variavam de quatro a 13, porém, todas elas utilizavam produtos como aveia, uva passa, trigo e seus derivados (Tabela 4). Segundo (GIMENO, 2000; DANTIGNY et al. 2005). Estes ingredientes podem favorecer o desenvolvimento de fungos pré-existentes inerentes a estes ingredientes nas diversas etapas de processamento, devido aos fatores nutricionais intrínsecos e as condições de estocagem que favoreçam ao aumento da umidade relativa.

Tabela 4- Ingredientes utilizados no preparo das marcas de granolas pesquisadas.

Ingrediente	Marca			
	A	B	C	D
Aveia	X	X	X	X
Açúcar mascavo	X	X		
Aromatizante	X			
Castanha do Brasil	X			
Castanha de caju	X			
Coco		X	X	
Extrato de malte		X		
Trigo e derivados	X	X	X	X
Flocos de arroz	X			
Flocos de milho	X	X		
Gergelim	X	X	X	
Glicose de milho	X			
Linhaça				X
Maltodextrina	X			
Manteiga			X	
Melaço de cana		X	X	
Mel de abelha	X			
Mix de vitaminas		X		
Óleo de milho		X		
Rapadura			X	
Sal marinho			X	
Tapioca			X	
Uva passa	X	X	X	X
Total de ingredientes	13	12	10	4

Os valores de Aa encontrados nas amostras de granolas foram diferentes estatisticamente entre as marcas ($P < 0,001$), com os menores valores observados nas marcas “A” e “D” (Tabela 5). Durante o experimento pode-se observar que o menor valor de Aa foi 0,30 obtido na marca “D” e o maior 0,67 da marca “C”. Esta oscilação pode ter sido causada pela qualidade dos ingredientes utilizados, a marca “C” possui na sua formulação: sal marinho, rapadura e tapioca que pela capacidade higroscópica podem favorecer o aumento da atividade de água dos demais ingredientes, ou ainda, o valor 0,67 pode ser atribuído ao fato da marca “C” possuir maior variação de ingredientes com quantidades diferenciadas de Aa que a marca “D”. Os ingredientes utilizados nas granolas possuem atividades de água diversas: frutas secas 0,51 a 0,89; farinha de trigo 0,67 a 0,87; cereais em geral de 0,10 a

0,20; mel 0,54 a 0,75 e sementes oleaginosas 0,66 a 0,84 (FRANCO; LANDGRAF 2008), a mistura deles favoreceu a atividade de água encontrada nas amostras analisadas.

Tabela 5- Valores de atividade de água nas amostras de granola de quatro marcas comercializadas em um supermercado de Teresina, PI, 2011.

Marca de granola	Atividade de água		
	Menor valor	Maior valor	Média e desvio padrão
“A”	0,48	0,51	0,50 ^b ± 0,01
“B”	0,57	0,66	0,62 ^a ± 0,03
“C”	0,59	0,67	0,62 ^a ± 0,02
“D”	0,30	0,42	0,36 ^b ± 0,04

^{a, b}=Letras iguais não diferem estatisticamente (P<0,05).

A contaminação fúngica foi diferente estatisticamente conforme as marcas, sendo a que apresentou as maiores contagens foi a marca “A” (Tabela 6), coincidentemente também foi a marca que teve maiores quantidades de ingredientes na sua formulação, sendo a única que continha: castanha do Brasil, castanha de caju e mel, que possuem contaminação fúngica comprovada por autores (PINHEIRO, 2004; PITT, 2006; PACHECO; SCUSSEL, 2006; MOURA, 2010; PIRES, 2011). Ressalta-se que os demais ingredientes das formulações das marcas pesquisadas também são sujeitos a contaminação por fungos. Das 60 amostras analisadas não houve o crescimento fúngico em 11 (18,3%), destas, a marca “C” com oito (13,3%) e três (5,0%) da marca “D”. A maior contagem foi 5,37 UFC/g em log₁₀ UFC/g da marca “A”. A legislação para microbiologia de alimentos vigente (BRASIL, 2001) não dispõe de parâmetros para contagens fúngicas em granola, entretanto, valores de contagens acima de 3,00 UFC/g em log₁₀ são considerados elevados (CAST, 2003) e caso haja alteração na umidade do alimento, pode favorecer o crescimento de fungos e conseqüentes modificações nas características organolépticas, levando a uma significativa diminuição da qualidade e possível produção de micotoxinas.

Tabela 6- Média das contagens de fungos filamentosos e leveduras, isolados das granolas comercializadas em Teresina, PI, 2011.

Marcas	Médias das contagens fúngicas UFC/g em log 10
“A”	4,87 ^a ± 0,79
“B”	2,45 ^b ± 0,49
“C”	0,88 ^c ± 1,04
“D”	1,86 ^c ± 1,09

UFC/g= unidade formadora de colônias por grama em log10; (P=<0,001). Letras iguais não diferem estatisticamente

Na Tabela 7 estão apresentados os valores médios das contagens de fungos filamentosos realizadas em amostras de granola. Todas as marcas apresentaram contaminação por diferentes gêneros, porém nem todas as amostras apresentaram crescimento fúngico. A marca “A” apresentou a maior diversidade de espécies fúngicas e a “C”, a menor variedade. Ao todo foram isoladas 147 colônias, distribuídas em nove gêneros, sendo o *Cladosporium* (46,9%) o mais frequentemente isolado, seguido pelo *Aspergillus* spp. e seus teleomorfos (37,4%), e *Penicillium* spp. e (5,4%), outros gêneros foram encontrados, mas com uma frequência menor. Vecchia e Castilhos-Fortes (2007) analisaram amostras de granola comercializadas a granel e também verificaram o crescimento preponderante dos gêneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Alternaria*.

A presença de fungos do gênero *Aspergillus* merece atenção, pois estes são capazes de produzir aflatoxinas e são comumente encontradas no amendoim, sementes e grãos (KLICH, 2002), o que torna a granola um alimento propenso a contaminação por este gênero, uma vez que, na sua formulação são utilizados os mais variados cereais; o que pode se confirmar mediante os resultados, onde observa-se que tanto, o *Aspergillus*, como o *Penicillium* foi verificado a sua presença nas amostras analisadas e ambos são de importância como fungos micotoxigênicos, ou seja, apresentam cepas produtoras de micotoxinas.

Tabela 7- Gêneros de fungos isolados das amostras de granolas comercializadas em Teresina, PI, 2011.

Gêneros Fúngico	Nº	%
<i>Cladosporium</i>	69	46,9
<i>Aspergillus</i> e seus teleomorfos	55	37,4
<i>Penicillium</i>	08	5,4
<i>Absidia</i>	04	2,7
<i>Botrytis</i>	03	2,0
<i>Fusarium</i>	03	2,0
<i>Curvularia</i>	02	1,4
<i>Mucor</i>	02	1,4
<i>Stachybotrys</i>	01	0,7
Total	147	100,0

O gênero *Cladosporium* foi o mais isolado dentre os fungos presentes nas amostras de granola (Tabela 7) e segundo Testing Laboratory for Mold, (2012), este gênero é um frequente causador de alergias em humanos, sendo elas do Tipo I ou alergias comuns (febre do feno, asma) e Tipo III (pneumonite por hipersensibilidade). Além disso, pode produzir a toxina fusariais que causa a aleuxia toxica alimentar pelo consumo deste fungo em grãos armazenados, como o milho, trigo e na cevada (Oliveira e Paz Lima, 2010), que com exceção da cevada, são ingredientes usuais da composição das marcas de granolas pesquisadas (Tabela 4).

O *Fusarium* é um gênero fúngico considerado como possivelmente micotóxico, importante para pesquisa em alimentos. Foram isolados em três amostras de granola (Tabela 7). Vecchia (2007); Castilho (2007) e Fortes (2007) obtiveram resultados semelhantes, os quais observaram baixa incidência deste gênero nas amostras pesquisadas. O *Fusarium* altera as características sensoriais dos grãos, deste modo, as incidências relativamente baixas de *Fusarium* observadas podem ter ocorrido devido à seleção de grãos que apresentassem baixos índices de contaminação aparente por este fungo como matéria prima para a composição das granolas. Também foram isolados em menor expressão nas amostras de granola: *Absidia*, *Botrytis*, *Curvularia*, *Mucor* e *Stachybotrys* (Tabela 7) de um modo geral, estes gêneros são associados a alterações dos vegetais (JAY 2005), que provavelmente também seriam descartados para formulação de granola. A presença de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* observados nas amostras de granola (Tabela

7) pode também estar relacionada à utilização de trigo (Roigé et al. 2007) e aveia (Rupollo et al. 2006) nas formulações.

Nas amostras analisadas foi observada a presença de *Aspergillus* (Tabela 8) em todas as amostras. A presença de fungos deste gênero em granola merece atenção, pois são capazes de produzir aflatoxinas e são comumente encontradas no amendoim, sementes e grãos (KLICH, 2002), que fazem parte dos ingredientes que compõe as diferentes formulações das amostras de granola pesquisadas.

Na Tabela 8 observa-se ainda que houve pouca densidade relativa das espécies de *Penicillium*, apenas oito cepas, sendo essas de cinco espécies diferentes, não estando em concordância com outros autores, pois comumente essa variedade de espécies encontradas por outros autores apresentam-se em maior número (MAGNOLI et al., 2006; ROSA et al., 2006). Gimeno (2000) e Pitt; Hocking (2009) consideraram que as espécies pertencentes ao gênero *Penicillium* encontradas nas amostras de granola são classificadas como fungos de armazenamento e estão associadas à perda da qualidade dos alimentos além de serem potenciais produtoras de micotoxinas. Embora não tenha sido testada a capacidade micotoxigênica destas espécies, a utilização constante de granola com estas espécies fúngicas poderia conferir ao consumidor risco potencial para sua saúde.

Tabela 8- Identificação das espécies fúngicas de granola comercializadas em Teresina, PI, 2011.

Espécies fúngicas	Marca			
	“A”	“B”	“C”	“D”
<i>Aspergillus</i>	N (%)	N	N	N
<i>A. niger</i> agregados	5	2	-	-
<i>A. carbonarium</i>	2	-	-	-
<i>A japonicus</i>	10	1	-	-
<i>A. flavus</i>	27	1	1	2
<i>A. tamari</i>	-	1	1	-
<i>A.terreus</i>	-	-	-	1
<i>A.peniciioides</i>	-	-	-	1
Total	44	5	2	4
<i>Penicillium</i>				-
<i>P. citrinum</i>	2	-	-	1
<i>P. simplicissimum</i>	2	-	-	-
<i>P.funiculosum</i>	-	1	-	-
<i>P.eslandium</i>	-	1	-	
<i>P. variable</i>	-	-	-	1
Total	4	2	0	2
Total geral por marcas	48	7	2	6

N= número de cepas isoladas

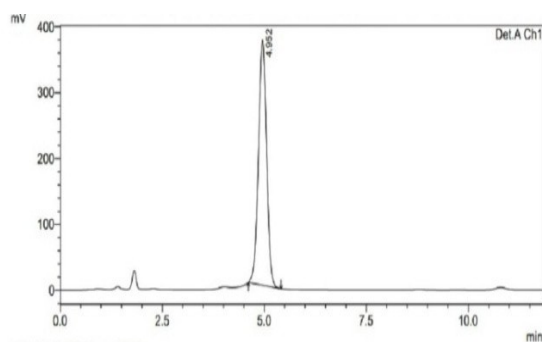
Todas as marcas de granola pesquisadas apresentavam *Aspergillus flavus* (Tabela 8), das 31 cepas isoladas duas (6,45%) pertencentes à marca “A” eram produtoras de aflatoxina B1 e uma destas cepas produziu 3,90 µg/g ou ppm (partes por milhão) (Tabela 9 e fig. 1). Caso estas cepas tivessem condições que favorecessem seu desenvolvimento e produção de aflatoxina, poderiam ser consideradas como um risco potencial pelo caráter hepatotóxico e carcinogênicos (CREPPY, 2002; WILLIAMS et al., 2004), nefrotóxico, mutagênicas, teratogênico e também causadores de encefalopatias (GIMENO, 2000; BIRCK, 2005; FERREIRA et

al., 2006; [EGMOND et al., 2007](#)). Além das enfermidades que podem ser causadas pelo consumo de aflatoxina, AKAN et al. (2002) alertam que o *A. flavus* pode ocasionar também aspergilose, alergias e problemas respiratórios pelo contato direto e inalação de conídios. Portanto, o consumo das amostras de granola pesquisadas consistiria em um potencial latente de patogenicidade. Principalmente se o consumidor deste produto, não adotar medidas necessárias para garantia de qualidade do produto após aberto como: a validade (pós-aberto), condições inadequadas de armazenamento e temperatura.

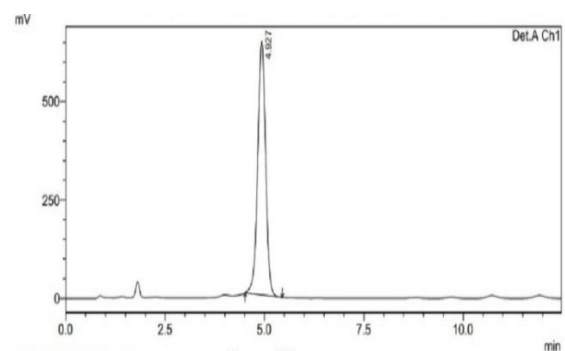
Tabela 9- Número de Cepas de *Aspergillus flavus* isoladas, cepas produtoras de Aflatoxina B1 e quantidade de Aflatoxina B1 por cepa em µg/g. Teresina, PI, 2011.

Cepas de <i>Aspergillus flavus</i> produtoras de Aflatoxina B1				
Marca	N	+	Quantidade de Aflatoxina B1 por cepa em µg/g (ppm)	
			Cepa 21	Cepa 26
A	27	2	2,30	3,90
B	1	0		
C	1	0		
D	2	0		
Total	31	2		

N= número de cepas isoladas das amostras de granola; + = cepas produtoras de aflatoxina B1; µg/g= microgramas por grama (partes por milhão).



Cepa 21



Cepa 26

Figura.1 Cromatograma das cepas de *Aspergillus flavus* isoladas em granola produtoras de Aflatoxina B1 Teresina, PI, 2012.

Embora apenas a marca “A” tenha apresentado cepas de *Aspergillus flavus* produtores de Aflatoxina B1 (Tabela 9 e fig. 1), todas as marcas apresentaram contaminação por esta toxina (Tabela 10), e destas, apenas na marca “D” todas as amostras possuíam esta toxina em concentrações que variavam de 3,42 a 4,52 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$). A marca “B” possuía somente uma amostra contaminada. Conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005) que gerencia e monitora o Programa Nacional de Monitoramento da Qualidade Sanitária de Alimentos (PNMQSA), a presença da aflatoxina é um dos parâmetros analisados na verificação da qualidade dos produtos. A legislação vigente não possui parâmetro específico para granola, porém, o máximo permitido para alimentos como a granola é $5,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ (BRASIL, 2011). Desse modo, os valores obtidos estão dentro dos limites aceitos pela legislação. Esta contaminação deve ter ocorrido provavelmente pela utilização de matéria prima para formulação contendo contaminação por Aflatoxina B1 pré-existente.

Nas cepas de *Aspergillus da seção Nigri*, não houve positividade para cepas produtoras de *Ocratoxina*.

Tabela 10- Amostras positivas para Aflatoxina B1 nas quatro marcas de granolas pesquisadas em Teresina, PI, 2011.

Marca de granola	Número de amostras positivas para Aflatoxina B1	% de amostras positivas
“A” (N=15)	12	80,0
“B” (N=15)	1	6,6
“C” (N=15)	8	53,3
“D” (N=15)	15	100,0
Amostras analisadas	Total de positivas	% de positivas
60	36	60,0

Afla B1= Aflatoxina B1; %=percentagem; ppb= partes por bilhão

Deste modo, pode-se verificar que houve diferença entre as marcas quanto às quantidades de aflatoxina B₁, sendo a marca “D” a que apresentou os maiores índices (Tabela 11) apresentando média de 4,00 µg/g. Embora esta marca tenha utilizado o menor número de ingredientes (trigo, aveia, flocos de arroz, uva passas) na sua composição, apresentado a menor contagem de fungos e as cepas de *Aspergillus flavus* isolados deram não produtoras de aflatoxina B₁, a presença desta aflatoxina provavelmente deve-se a sua contaminação prévia da matéria-prima, o que explica algumas pesquisas apresentarem resultados, onde há a presença de fungos e, no entanto, não se detectou a presença de aflatoxina; e em outras pesquisas observa-se a presença da toxina e, no entanto, a contagem de fungos é relativamente baixa, ou seja, não é determinada.

Tabela 11- Comparação entre as médias dos níveis de aflatoxina B1 em quatro marcas de granola comercializadas em Teresina, PI, 2011.

Marca	ppb de AFLAB1
A	2,05 ^b ± 1,07
B	0,23 ^c ± 0,87
C	1,30 ^{bc} ± 1,26
D	4,00 ^a ± 0,39

A, b, c= letras desiguais resultados diferentes significativamente (P = <0,001); ppb de AFLAB₁= partes por bilhões de aflatoxina B₁.

Caldas et al. (2002) avaliando a presença de aflatoxinas em amendoim, castanhas, milho e farinhas obtidas no comércio do Distrito Federal, constataram a presença nas amostras analisadas, sendo que o amendoim e seus derivados apresentaram maior incidência de contaminação, contendo até 1.706 ppb de aflatoxinas. Mallmann et al. (2003) analisando diversos cereais como nozes (castanhas, nozes e amêndoas) e de frutas secas (uvas passas, damascos, ameixas secas e pêras secas) comercializadas no Brasil no ano de 2002, verificaram que 10,8% das amostras apresentaram contaminação por aflatoxinas. No entanto, Freire et al. (1999) analisando amostras de castanha de caju quanto à pesquisa de aflatoxinas, observaram que embora tenham isolado 37 espécies de fungos, não houve a presença de aflatoxina nas amostras, o que está de acordo com Pereira et

al, (2002). Onde sugerem que a presença de fungos nos alimentos não significa necessariamente, haver a presença de micotoxinas. Embora para a FAO (2004) uma contagem fúngica elevada é indicativa da presença de micotoxinas.

Ainda, dentre os componentes de importância que fazem parte granola, temos a uva passa, que ao ser avaliada por Lamanaka et al (2007) verificaram que em 19 amostras de uva passas brancas 3 (16%) apresentaram presença de aflatoxinas e as quantidades encontradas foram não superior a 2 ppb. Resultado diferente foi constatado para uva passas pretas, onde nas mesmas não foi detectada presença de aflatoxina em 24 amostras pesquisadas. No que observamos a importância do controle de qualidade em cada ingrediente que passe a ser inserido na composição da granola, evitando assim, riscos de contaminação, e por conseguinte, problemas a saúde do consumidor. Ao verificarmos as contagens fúngicas (tabela 6), a marca A foi a que apresentou maior ufc/g com diferença entre as marcas B, C, e D, e ao compararmos as quantidades de aflatoxinas, a marca D foi a que apresentou maior concentração de aflatoxina (tabela 11), o que fica evidenciado que apenas a presença do fungo não define a presença de aflotoxinas.

Portanto, a importância da determinação da microbiota fúngica e de suas micotoxinas nos alimentos é de suma necessidade para que esses estudos possam fornecer informações inerentes a qualidade do produto, no tocante à presença de fungos e suas micotoxinas. Sendo também, que sejam observados o uso de ações preventivas em todas as fases de produção do alimento, desde a colheita, armazenamento, processamento, etapas iniciais para o controle dos fungos e seus metabólitos, pois as micotoxinas podem ser potencialmente encontradas nas amostras. Práticas adicionais são necessárias para reduzir a contaminação dos alimentos, assim como procedimentos para o tratamento dos alimentos, que são necessários para evitar problemas de saúde pública.

6 CONCLUSÕES

A atividade de água nas amostras de granola não favoreceu o desenvolvimento de fungos e micotoxinas, suas presenças podem ser atribuídas à contaminação prévia dos ingredientes utilizados na composição do produto.

Nas granolas é possível haver contaminação por fungos dos gêneros: *Cladosporium*, *Aspergillus* e seus teleomorfos, *Penicillium*, *Absidia*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Mucor*, *Stachybotrys*.

Foram isoladas cepas de *Aspergillus* seção *flavus* com capacidade toxígena produtores de aflatoxinas e cepas de *Aspergillus* seção *Nigri* não produtoras de ocratoxina.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ações eficientes da vigilância sanitária, trabalho intenso de esclarecimento da responsabilidade de produtores, transportadores, distribuidores, comerciantes de alimentos, contribuirão para a diminuição de exposição da população ao consumo de alimentos contaminados por fungos e aflatoxinas e, conseqüentemente, diminuição dos riscos à saúde. Além de proporcionar subsídio adequado para elaboração de normas legais, específicas e modernas, quanto à tolerância de humanos e animais, quando expostas a estas toxinas.

Reduzir a infecção fúngica nos alimentos destinados ao consumo humano é essencial para evitar perdas na produção e risco sanitário ao homem. Esses resultados poderão ser atingidos, melhorando as condições de armazenamento da matéria-prima, seleção de fornecedores com certificações para ausência de micotoxina em seus produtos, a aplicação das Boas Práticas no campo, boas práticas de fabricação até a comercialização produto do final. Dessa forma, o produto chegará ao consumidor com segurança.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. P. N.; SPERS, A.; SPERS, R. C.; GARCIA, E. A.; BERTO, D. A.; MOLINO, A. B.; PELÍCIA, K.; SILVA, A. P. Níveis de adsorvente em rações contaminadas por micotoxinas e qualidade dos ovos de codornas japonesas. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, p.561-569, 2008.
- ADOM, K. K.; LIU, R. H. Antioxidant activity of grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n 21, p. 6182-6187, 2002.
- ADOM, K. K.; SORRELLS, M. E.; LIU, R. H. Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 2297–2306, 2005.
- AKAN, M.; HAZIROGLU, R.; ILHAN, Z.; SAREYYÜPOGLU, B.; TUNCA, R. Acase of 9 aspergilliosis in a broiler breeder flock. **Avian Diseases**, v.46, n.2, p.497-501, 2002.
- AL-HIND, R.R. Microbiological quality and safety of some “honey pastes” marketed in Jeddah, Saudi Arábia. **Umm Al-Qura University Journal of Science - Medicine - Engineering**, v. 17, n.2,p. 113-119, 2005.
- ALMEIDA, A.P.; CORREA, B.; MALLOZZI, M. A.B. Mycoflora and aflatoxin/fumonisin production by fungal isolates from freshly harvested corn hybrids. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 4, p.321-326, 2000.
- ALMEIDA, F.A.C. et al. Influência do beneficiamento, da embalagem e do ambiente de armazenamento na qualidade sanitária de sementes de amendoim. **Revista Oleaginosa e Fibrosa**, Campina Grande, v.2, n.2, p. 97-102, 1998.
- ALMEIDA, K. C. L. de; BOAVENTURA, G. T.; GUZMAN-SILVA, M. A. A linhaça (*Linum usitatissimum*) como fonte de ácido α -linolênico na formação da bainha de mielina. **Revista de Nutrição**, v.22, n. 5, p. 747-754, 2009.
- AOAC.ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of analysis**. 15th. Supl 2, Ed. 1998.
- APHA.AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**.4^a ed. Washington, 676 p., 2001.
- APICULTURA. **Instituto Centro de Ensino Tecnológico**. 2.ed. Fortaleza: Edição Demócrito Rocha; Ministério da Ciência e Tecnologia, 56 p., 2004.
- ASEVEDO, I.G.; GAMBALE, W.; CORRÊA, B.; PAULA, C.R.; ALMEIDA, R.M.A.; SOUZA, V. M. Mycoflora and aflatoxigenic species of *Aspergillus ssp* isolated from stored maize. **Revista de Microbiologia**, v. 25, n. 1, p. 46-50, 1994.
- BANDO, É.; GONÇALVES, L.N.; TAMURA, N.K.; MACHINSKI JUNIOR, M. Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 3, p. 175-180, 2007.

BATISTA, L. R.; FREITAS, R. F. de. Avaliação da produção de aflatoxinas por espécies do 18 fungo *Aspergillus* associados ao café. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 18, n. 1, p. 44-49, 2000.

BEARDALL, J. M.; MILLER, J. D. **Disease in humans with mycotoxins as possible causes**. In: MILLER, J. D.; TRENHOLM, H. L. (Ed.). *Mycotoxins in grains: compounds other than aflatoxin*. St. Paul: Eagen Press, p. 487-539, 1994.

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

BINDER, E. M.; TAN, T.M.; CHIN, L.J.; HANDL, J. RICHARD, J. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137, n. 3, p. 265-282, 2007.

BIRCK, N. M. M. **Contaminação fúngica, micotoxinas e sua relação com a infestação de insetos em trigo armazenado**. 2005. 146 p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

BLANK, K. A. et al. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in Brazil nuts. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 5, p. 513-517, 2005.

BRAGULAT, M. R.; ABARCA, M.L.; CABAÑES, F. J. An easy screening method for fungi producing ochratoxin A in pure culture. **International Journal of Food Microbiology**, v. 71, n.2-3, p. 139-144, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Divisão de Organização Sanitária. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA). Resolução CNNPA nº 34. Fixa para os alimentos, tolerâncias de 30ppb (trinta partes por bilhão) para as Aflatoxinas, calculada pela soma dos conteúdos das aflatoxinas B1 e G1. **Diário Oficial da União**, de 19 de janeiro de 1977, Brasília, Seção 1, p. 710, 1977.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. **Diário Oficial da União**, de 23 de outubro de 2000, Seção 1, p. 23, 2000.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, de 10 de janeiro de 2001, Brasília, Seção 1, nº 7, p. 45-54, 2001.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 274 de 15 de outubro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico Sobre Limites Máximos de Aflatoxinas Admissíveis no Leite, no Amendoim, no Milho. **Diário Oficial da União**, 16 de outubro de 2002, Brasília, Seção 1, nº 201, p. 45-46, 2002.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário Oficial da União**, de 26 de dezembro de 2003, Brasília, Seção 1, nº 251, p. 33-34, 2003.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. **Diário Oficial da União**, de 16 de setembro de 2004, Brasília, Seção 1, nº 179, p. 25-27, 2004.

_____. Ministério da Saúde: Resolução RDC nº 40/01, da ANVISA, de 21 de março de 2001, publicada no **Diário Oficial da União**, 22 de dezembro 2000.

_____. Ministério da Agricultura. Portaria MAARA Nº. 183 de 21 de março de 1996, publicada no **Diário Oficial da União** de 25 de março de 1996, Seção 1, página 4929

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Ministério da Saúde. Alimentos. **Programa Nacional de Monitoramento da Qualidade Sanitária de Alimentos**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/programa/index.htm>>. Acesso em: 12 de maio de 2010.

_____. Ministério da Saúde. Resolução Nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Regulamento Técnico sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, nos termos desta Resolução.

BRASIL. Ministério da Agricultura alerta sobre cuidados ao comprar alimentos natalinos. Portal Brasil 2010. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/noticias/arquivos/2010/12/20/ministerio-da-agricultura-alerta-sobre-cuidados-ao-comprar-alimentos-natalinos>> acesso em 28/02/2012

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia Alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Secretaria de Atenção à Saúde, Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças Crônicas não Transmissíveis: Vigilância de doenças crônicas não transmissíveis. Portal saúde 2012. Disponível em : HTTP://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31877>acesso em 15 de março de 2012.

BRUNO, R. L. A. et al. Qualidade fisiológica e microflora de sementes de amendoim cv. Br-1 durante o armazenamento. **Revista de Oleaginosa e Fibrosa**, v.4, n.3, p.141-152, 2000.

CALDAS, E.D.; SILVA, S.C.; OLIVEIRA, J.N. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**. v. 36, n.3, p.319-323, 2002.

CARDOSO FILHO, F.C.; CALVET, R.M.; PEREYRA, C.M.; PEREIRA, M.M.G.; ROSA, C.A.R.; TORRES, A.M.; MURATORI, M.C.S. *Ocorrência de Aspergillus spp., Penicillium spp. e aflatoxinas em amostras de farinha de milho utilizadas no consumo humano, Piauí*. Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.78, n.3, p.443-447, , 2011.

CAST. Council for Agricultural Science and Technology. Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems, 2003. Task Force Report Nº139, Ames, Iowa, USA.

CODEX ALIMENTARIUS. Code of practice for the prevention and reduction of aflatoxin contamination in tree nuts. CAC/RCP 59-2005, Rev. 1-2006, 2006.

CHIOTTA, M.L.; PONSONE, M.L.; COMBINA, M. TORRES, A.M.; CHULZE, S.N. Aspergillus section Nigri species isolated from different wine-grape growing regions in Argentina. **International Journal of Food Microbiology** v.136, p.137–141, 2009.

CHUNHIENG, T., PETRITIS; K.; ELFAKIR, C.; BROCHER, J.; GOLL, T.; MONTET, D. Study of selenium in the protein fractions of the Brazil nut, *Bertholletia excelsa*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p.4318-4322, 2004.

COPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. (Brasil). A Safra de grãos supera anterior em 8,7%. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=73&NSN=1309>> Acesso em: 12 dez. 2010.

CORRÊA, B.; GALHARDO, M.; COSTA, E. O.; SABINO, M. Distribution of molds and aflatoxins in dairy cattle feeds and raw milk. **Rev. Microbiol.**, v. 28, p. 279 - 283, 1997

COZZOLINO, S. M. F. **Usos e aplicações das dietary reference intake. DRIs. ILSI BRASIL.** São Paulo/SP: Novembro, 2001.

CREPPY, E. E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, Amsterdam, n. 1/2, p. 1-10, . 2002

DALCERO, A.; MAGNOLI, C.; CHIACCHERA, S.; PALACIOS, G.; REYNOSO, M. Mycoflora and incidence of aflatoxin B1, zearalenone and deoxynivalenol in poultry feeds in Argentina. **Mycopathologia**, v. 137, n. 3, p 179-184, 1997.

CHRISTENSEN, C.M. ; R.A. MERONUCK (1986). *Quality Maintenance in Stored Grains and Seeds*, University of Minnesota Press, Minneapolis, 138 p.

DANIEL, A.P.; BOCHI, V. C.; STEFFENS, C.; SILVA, L. P. da; EMANUELLI, T. Fracionamento a seco da farinha de aveia e modificação química da fração rica em amido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n.4, p. 936-943. 2006.

DANTIGNY, P. ; GUILMART, A. ; BENSOUSSAN, M. Basis of predictive mycology. International Journal of Food Microbiology. v.100, p.187–196, 2005

DWYER, M.R., L.F. KUBENA, R.B. HARVEY, K. MAYURA, A.B. SARR, S. BUCKLEY, R.H. BAILEY, T.D. Phillips. 1997. Effects of inorganic adsorbents and cyclopiazonic acid in broiler chickens. **Poultry Science**. v. 76: p.1141-1149.

EDWARDS, S.G. Influence of agricultural practices on fusarium infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. **Toxicology Letters**, v.153, n.1, p.29-35, 2004.

EGMOND, H. P. VAN., SCHOTHORST, R. C.; JONKER, M. A. Regulations relating to mycotoxins in food. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 389, p. 147-157, 2007.

EMBRAPA. Suplementação direta de microorganismos e seus extratos. Embrapa Gado de Corte. <http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/doc/doc106/08microorganismos.html>. Acesso em 27 de novembro de 2010.

FAO. Worldwide regulations for micotoxins in food and in feed in 2003.(FAO. Food and Nutrition Paper, 81). Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e07.htm>>. Acesso em: 14 fev. 2011.

FAO. Almacenaje. 2004.Disponível em:<<http://www.fao.org>> Acessado em: 23 set. 2010.

FAO. Disponível em: <http://www.fao.org/wairdocs/X5012O/X5012o00.GIF>, Acessado em 12/08/201.

FAO. Micotoxinas em grãos. 1997. Disponível em: <http://www.fao.org/wairdocs/X5012O/X5012o01.htm>, acessado em 10/11/2011.

FARIAS, A. X.; ROBBS, C. F.; BITTENCOURT, A. M.; ANDERSEN, P. M.; CORRÊA, T. B. S. Contaminação endógena por *Aspergillus* spp. em milho pós-colheita no Estado do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n, p. 617-621, 2000.

FERNÁNDEZ-CRUZ,M.L.; MANSILLA, M.L.; TADEO, J.L. Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications. **Journal of Advanced Research**, v. 1, p.113–122, 2010

FERREIRA, H.; PITTNER, E.; SANCHES, H.F. et al. Aflatoxinas: um risco à saúde animal. **Ambiência**, v.2, n.1, p.113-127, 2006.

FLADRIN, L. J., MONTANARI M. Historia da alimentação. Ed. Liberdade; 1998.

FLEURAT-LESSARD, F. Qualitative reasoning and integrated management of the quality of stored grain: a promising new approach. **Journal of Stored Products Research**, v.38, p.191-218, 2002.

FRANCO, B. D .G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. Atheneu, São Paulo, 2008. 182p

FRANCO, G.; Tabela de composição química dos alimentos, Atheneu, Rio,p. 324, 9ª Ed, 2010.

FREIRE, F. das C.O.; KOZAKIEWICZ, Z.; PATERSON, R.R.M. Mycoflora and mycotoxins of Brazilian cashew kernels. **Mycopathologia**, v. 145, p. 95-103, 1999.

GABAS, A.L.; TELIS-ROMERO, J.;MENEGALLI, F.C. Permeabilidade da casca de uva Itália. **Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos**, v.1, p. 90-96, 1998

GALVÃO, E. L.; SILVA, D. C. F. da; SILVA, J. O. da; MOREIRA, A. V. B.; SOUSA, E .M. B. D. de. Avaliação do potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 551-557, 2008.

GARDA J.; BADIALE=FURLONG E. Descontaminação de micotoxinas: uma estratégia promissora. **Revista Vetor**, v.13(2):7-15, 2003

GIMENO, A. Revisión genérica del problema de los hongos y de las micotoxinas en al alimentación animal. Disponível em: <http://www.micotoxinas.com.br/boletim4.htm>. > Acesso em 01 de julho 2010.

GLÓRIA, M.; REGITANO DARCE, M. Concentrado e isolado protéico de torta de Castanha do Pará: Obtenção e caracterização química e funcional. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, 2000

GLOSS, E. CEPLAC- Comissão executiva de planejamento da lavoura cacaueteira. Um breve painel sobre os produtos orgânicos e agroecologia. Disponível em : <HTTP://www.ceplac.gov.br/radar/artigos/artigo30.htm>. >Acesso em março de 2012.

GOMES, L.P.; OLIVEIRA, D.F.B.; MIRANDA, A.N.; SOUZA, M.M.S. Determinação de *Bacillus* spp em amostras de mel produzidos por abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.). Anais do Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos, 2005.

GOURAMA, H.; BULLERMAN, L. B. Detection of molds in food and feeds: potential rapid and selective methods. **Journal of Food Protection, Des Moines**, v.58, p.1389-1394, 1995.

GRANADA, G. et al. Caracterização de granolas comerciais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 87-91, 2003.

GRAY J. Fibra Alimentar. Definição e análise, fisiologia e saúde. ILSI Europe, 2006.

GUTKOSKI, L. C.; BONAMIG, J. M. de A.; TEIXEIRA, D. M. de F.; PEDÓ, I. Desenvolvimento de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** Campinas, v. 27, n.2, p. 355-363, 2007.

GUTKOSKI, L. C.; TEIXEIRA, D. M. de F.; DURIGON, A.; GANZER, A. G.; BERTOLIN, T. E.; COLLA, L. M. Influência dos teores de aveia e de gordura nas características tecnológicas e funcionais de bolos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.2, p. 254-261, 2009.

HERMANNNS *et al* .Fungos e fumonisinas do milho.. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**.v. 26(1): p.7-10, 2006.

HIROOKA, E.Y., ONO, E.Y.S., ITANO, E., HOMECHIN, M., KAWAMURA, O. GARCIA, G.T., BERND, L.P.; SILVA, M., SILVA, R.T.V., FUJII, S., HAYASHI, L., SANTOS, J.S., SCHIABEL, V.C., MORENO, E.C., SCHOLZ, M.B.S., KADOZAWA, P., FIGUEIRA, E.L.Z., MARSARO Jr, A.L., FUNGARO, M H P, ONO, M.A., OLIVEIRA, T.C.R.M., GERAGE, A.C. Micotoxinas em grãos armazenados: Monitoramento e controle na perda de qualidade pós-colheita. *Fitopatologia Brasileira* 32 (Suplemento). 2007.

HUSSEIN, H. S., AND J. M. BRASEI. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**.v. 167(2):p.101-134.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Orçamentária Familiar – POF 2008-2009. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em:< <http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em: 20 de setembro 2011.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2007. Previsão de safra de castanha de caju no Brasil. Disponível em: <http://cajucultura.com.br/p_brasil.html> Acesso em: 10 abr. 2007.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1798&id_pagina=1 Acessado em: 12 de outubro de 2011.

INTERNATIONAL AGENCY OF RESEARCH ON CANCER [IARC]. **Evaluation of carcinogenic risks to humans: some naturally occurring substances: aromatic amines and mycotoxins**. Lyon; 2006, p. 245-395. (IARC Monographs, 56).

JAY, J. M. Microbiologia de alimentos. 6 ed. Porto Alegre. Artmed, 2005.

JECFA. JOINT. FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives. Safety evaluations on certain mycotoxins in food 2001. Acesso em 10 set. 2010. Online. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je01.htm>.

JUNIOR, J. F. M.; ZAPPA, V. *Aspergillus fumigatus*. Revista científica eletrônica de medicina veterinária – ISSN: 1679-7353, Ano VII – Número 12 – Janeiro de 2009. Online. Disponível em: <http://www.revista.inf.br/veterinaria12/revisao/pdf/AnoVII-Edic12-Rev17.pdf>. Acesso em 28 fevereiro de 2012.

KABAK, B., DOBSON, A.D. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** v.46, p.593-619, 2006.

KAWASHIMA, L. M. ; VALENTE SOARES, L. M. .Ciênc. Micotoxinas em produtos de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26(3), p.516-521, 2006.

KHANAFARI, A., SOUDI, H., MIRABOULFATHI, M. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin B1 production in corn Iranian. **Journal of Environmental Health Science & Engineering**. v.4, p.163-168, 2007

KLICH, M. A. A laboratory guide to the common *Aspergillus* species and their teleomorphs. CSIRO - Division of Food Processing, Australia, 2002

KLICH, M. A.; PITT, J. I. A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs. CSIRO, Division of food research Sydney, Academic Press, Austrália, 1988.

KNASMULLER S.; CAVIN C.; CHAKRABORTY A.; DARROUDI F.; MAJER B.; HUBER W.; EHRLICH V.; “Structurally Related Mycotoxins Ochratoxin A, Ochratoxin B, and Citrinin Differ in Their Genotoxic Activities and in Their Mode of Action in Human-Derived Liver (Hep G2) Cells: Implications for Risk Assessment”; **Nutrition and Cancer**, v.50(2): p.190-197, 2004

KOH-BANERJEE P, FRANZ M, SAMPSON L, LIU S, JACOBS DR JR., SPIEGELMAN D, WILLETT W, RIMM E. *Changes in whole-grain, bran, and cereal fiber consumption in relation to 8-y weight gain among men*. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.80, p.1237–45. 2004.

KUMAR, V.; BASU, M. S.; RAJENDRAN, T. P. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. **Crop Protection**, v. 27, n. 6, p. 891-905, 2008.

LAFIS – Brasil : Agricultura Milho, 02/mai/2003 [on line]. Capturado em 20 de outubro de 2003. Disponível em <http://www.lafis.com.br/site2002/portugues/produtos/estudos/demos/I055013P.DOC>.

LAMANAKA BT, MENEZES HC, VICENTE E, LEITD RSF, TANIWAKI MH (2007). Aflatoxigenic fungi and aflatoxins occurrence in sultanas and dried figs commercialized in Brasil. *Food Control*, 18(5):454-5

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2. ed. Curitiba: [s.n.], 148 p., 1997.

LAZZARI, F. A., Monitoramento de fungos em milhos de grãos, grits e fubá, v. 15, São Paulo, SP, 1998. site: <www.scielo.com>, acesso 27 fevereiro de 2012.

LEITÃO, M.F.F.; HAGLER, L.C.S.M.; HAGLER, A.N.; MENEZES, T.J.B. **Tratado de microbiologia**: microbiologia de alimentos, sanitária e industrial. São Paulo: Manole, 1988. v.1, p.181.

LI S., MARQUARDT R.R., ABRAMSON D. Immunochemical detection of molds: a review. **Journal of Food Protection Impact Factor** v.63:p.281-91,2000

LIMA, A.C. **Estudo para a agregação de calor aos produtos de caju: elaboração de formulações de frutas e castanha em barras**. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas, SP, 2004.

LIU RH *Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action*. **Journal of Nutrition**.2004;134:S3479–85

LIU S, WILLETT WC, MANSON JE, HU FB, ROSNER B, COLDITZ G. *Relation between changes in intakes of dietary fiber and grain products and changes in weight and development of obesity among middle-aged women*. **American Journal Clinical Nutrition**. 2003;78:920–7.

LOPES, P.R.S.; POUHEY, J.L.O.F.; ENKE, D.S.; MALLMANN, C.A.; KICH, H.A.; SOQUETTE, M.B. Utilização de adsorvente em rações contendo aflatoxina para alevinos de jundiá. **R. Bras. Zootec.**, v.38, n.4, p.589-595, 2009

MAGNOLI, C.; ASTORECA, A.; PONSONE, L.; COMBINA, M.; PALÁCIO, G.; ROSA, C.A.R.; DALCERO, A.M. Survey of mycoflora and ochratoxin A in dried vine fruits from Argentina markets. *Letters in Applied Microbiology* 39, 326–334, 2004

MAGNOLI, C.; HALLAK, C.; CHIACCHIERA, S.; DALCERO, A. Occurrence of ochratoxin A-producing fungi in commercial corn kernels in Argentina. *Mycopathologia* 161, 53–58, 2006

MALMANN, C.A.; KOWALSKI, C.H.; ALMEIDA, C.A.A.; DILKIN, P.; MÜRMAN, L. DILKIN, M. CARVALHO, R.R. Aflatoxinas em nozes e frutas secas comercializadas no Brasil. In: XIII Encontro Nacional de Analistas de Alimentos. Anais... Rio de Janeiro, 2003

MANCINO L, KUCHLER F, LEIBTAG E. *Ficando os consumidores a comer mais grãos integrais: o papel da política, informações e fabricantes de alimentos*. *Política Alimentar* 2008;33:489–96.

- MEIRELLES, P. G. et al. Imunoensaios: uma alternativa para a detecção de fungos toxigênicos em alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 4, p. 617-628, 2006.
- MELLO, F. R.; SCUSSEL, V. M. Characteristics of in-shell Brazil nuts and their relationships of aflatoxin concentration: criteria for sorting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 22, p. 9305-9310, 2007.
- MELO FILHO, G. A.; RICHETTI, A. 1997. Aspectos sócio econômicos da cultura do milho. Embrapa, Circular Técnica 5:13-21.
- MENNINGER, E.A. **Edible nuts of the world**. The Brazil nut family. 174 p. 1977.
- MIAZZO, R.; PERALTA, M.F.; MAGNOLI, C. Efficacy of sodium bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. **Poultry Science**, v.84, p.1-8, 2005
- MÍDIO, A. F.; MARTINS, D. I. Toxicologia de alimentos. São Paulo: Varela, 2000
- MILLER HE, RIGELHOF F, MARQUART L, PRAKASH A, KANTER M. *Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables*. **Journal of the American College of Nutrition**; 19:S312–9, 2000
- MOODLEY, R.; KINDNESS, A.; JONNALAGADDA S. B. Elemental composition and chemical characteristics of five edible nuts (almond, Brazil, pecan, macadamia and walnut) consumed in Southern Africa. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 42, 585-591. 2007.
- MORAES, S.A.; MARIOTTO, P.R. Diagnóstico da patologia de sementes de amendoim no Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v.7, n.1, p.41-43, 1985.
- MOSS, M.O. Mycology of cereal grain and cereal products. In: CHELKOWSKI, J. (Ed.). *Cereal grain. Mycotoxins, fungi and quality in drying and storage*. Amsterdam: Elsevier, 1991.
- MOURA, S. G. **Boas práticas apícolas e qualidade do mel de abelhas (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758)**. 2010. 76 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) Universidade Federal do Piauí. 2010
- MURTHY, G.S., TOWNSEND, D.E., MEERDINK, G.L., BARGREN, G.L., TUMBLESON, M.E., Singh, V. Effect of aflatoxin B1 on dry-grind ethanol process. *Cereal Chem* v. 82, p.302-304, 2005
- NEUTZLING, Marilda Borges et al. Frequência de consumo de dietas ricas em gordura e pobres em fibra entre adolescentes. **Revista de Saúde Pública**. São Paulo, v. 41, 2007. Disponível em: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_ar
- NUNES IL, MAGAGUIN G, BERTOLIN TE. Arroz comercializado na região sul do Brasil: Aspectos micotoxicológicos e microscópicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.23 (2), p.190-4, 2003.
- NYBG- The New York Botanical Garden. The Brazil nut Industry- Past, present and the future. 2006. Disponível em: <http://www.nybg.org/bsci/braznut/>. Acesso em 09/09/2010. 2010.

OGIDO R. OLIVEIRA, C.A. ; LEDOUX, D.R. Effects of prolonged administration of aflatoxins B1 and fumonisin B1 in laying Japanese quail. **Poultry Science**, v.83, p.1953-1958, 2004.

OLIVEIRA C.A.F; GERMANO P.M.L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista de Saúde Pública**,v. 31(4),1997.

OLIVEIRA, T. U.L. e PAZ LIMA, M.L. Aspectos Gerais e Morfológicos de *Cladosporium* sp. IN: PAZ LIMA, M.L. Estudos em doenças de plantas, disponível em: http://fitopatologia1.blogspot.com/2010/11/aspectos-gerais-e-morfologicos-de_3777.html Acessado em novembro de 2011.

ORNELLAS,L. H.,Técnica dietética- Seleção e preparo de alimento..ed. Atheneu, São Paulo, 2006.

OKARTER N, LIU RH. *Health benefits of whole grain phytochemicals*. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 2010;50:193–208.

OPS. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Doenças Crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação, atividade física e saúde - Brasília, 200

PACHECO AM, SCUSSEL VM, 2006. Castanha do Brasil - Da Floresta Tropical AO Consumidor (*castanha do Brasil - desde a floresta até o consumidor*) , ed. Editograf. PP 173, Florianópolis, SC, Brasil, 2006

PATERNIANI, E. 1978. Melhoramento e produção do milho no Brasil. Fundação Cargill, Campinas.

PATERSON, R. R. M.; VENÂNCIO, A.; LIMA, N. Solutions to *Penicillium* taxonomy crucial to mycotoxin research and health. *Research in Microbiology*. v. 155(7), p.507-513, 2004.

PEREIRA, M. M. G., CARVALHO, E.P., PRADO, G. Crescimento e produção de aflatoxinas por *aspergillus flavus* e *aspergillus parasiticus*. B. CEPPA, 20(1):2002

PEREIRA, M. M. G. Aflatoxinas em alimentos destinados a bovinos e em amostras de leite da região de Lavras, Minas Gerais – Brasil, **Ciência. Agrotec.**, v. 29, n. 1, p. 106-112, . 2005.

PIAUÍ. Secretaria de mensal de Fazenda do Estado do Piauí. Relatório mensal de entrada de mercadoria no estado. Piauí, 2011.

PHILIPPI, ST. Alimentação saudável e a pirâmide dos alimentos. In: Pirâmide dos alimentos.Fundamentos básicos da nutrição. Barueri: Manole, p. 1-30, 2008.

PINHEIRO, M R R. **Estudo de variabilidade genética de *Aspergillusflavus* como Base para desenvolvimento de PCR multiplex para detecção de fungos produtores de aflatoxinas em castanha-do-Brasil e castanha de caju**. 2004. 149 fl. Dissertação (Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia). Universidade Católica de Brasília. 2004.

CARNEIRO-PIRES,R. M. Qualidade do mel de abelhas (*Apis mellifera* Lineaus, 1758) produzido no Piauí. 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Universidade Federal do Piauí. 2011.

PITT, J.I. Fungal ecology and the occurrence of mycotoxins In: **Mycotoxins and Phycotoxins-Advances in determination, toxicology and exposure management**, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, p.33-41. 2006.

PITT, J.I. A Laboratory guide to common Penicillium species. 2nd ed. Sydney, Australia: CSIRO, Division of Food Processing. 1988. 186p

PITT, J.I. et al. Systemic invasion of developing peanut plants by *Aspergillus flavus*. *Letters in Applied Microbiology*, Oxford, v.13, n.1, p.16-20, 1991.

PITT, J. I. ; HOCKING, A. D. **Fungi and spoilage**. 3 ed. London: Blackie academic and Professional, 2009. 593p

POMERANZ, Y. **Biochemical, functional and nutritive changes during storage**. In: CHRISTENSEN, C.M. (ed). Storage of cereal grains and their products, p. 145-217, 1982

PRADO, G. et al. Incidência de ocratoxina A em café torrado e moído e em café solúvel consumido na cidade de Belo Horizonte, MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 192-196, 2000

QUILLIEN, J. F. Les mycotoxines. Paris: INRA, 2002. 24 p. (PME N° 3)

RAMOS, A. J., E. HERNÁNDEZ, M. PLÁ-DELFINA, M. MERINO. 1996. Intestinal absorption of zearalenone and in vitro study of non nutritive sorbent materials. **International Journal Pharmaceutics**.v.128:p.129-137

RAMOS, E. M; SILVA, C. L. M; SERENO, A. M.; AGUILERA, J. M. Quantificação das mudanças microestruturais durante a primeira etapa do ar de secagem de tecido uva. **Jornal de Engenharia de Alimentos** , v.62, p.159-164, 2004.

REDDY, K.R. N.; REDDY, C. S.; MURALIDHAREN, K. Detection of *Aspergillus* spp. and aflatoxin B1 in rice in India. **Food Microbiology** 26, 27–31, 2009.

RIBEIRO, S. A. A. L.; CAVALCANTI, M. A. Q.; FERNANDES, M. J. S. e LIMA, D. M. M. Fungos filamentosos isolados de produtos derivados do milho comercializados em Recife, Pernambuco. **Revista Brasileira Botânica**., vol. 26, n, p. 223-229. 2003.

RICHARD, J. J. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses=An overview. **International Journal of Food Microbiology**. p.119:3-10, 2007.

ROBERFROID, M.B. Functional food concept and its application to prebiotics. *Dig. Liver Dis.*, Rome, v.34, suppl.2, p.S105-S110, 2002.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B.; SABINO, M. Mycotoxins research in Brazil: the last decade in review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, n.1, p.1-11, 2002.

ROIGÉ, M.B.; ARANGUREN, S.M.; RICCIO, M.B.; PEREYRA, S.; SORACI, A.L.; TAPIA, M.O. Mycobiota and mycotoxins in fermented feed, wheat grains and corn grains in Southeastern Buenos Aires Province, Argentina. **Revista Iberoamericana de Micología**. 2009;26(4):233–237.

ROSA, C. A.R. RIBEIRO, J.M.M.; FRAGA, M.J.; GATTI, M.; CAVAGLIERI, L.R.; MAGNOLI, C.E.; DALCERO, A.M.; LOPES, C.W.G. Mycoflora of poultry feeds and ochratoxin-producing ability of isolated *Aspergillus* and *Penicillium* species. **Veterinary Microbiology**, v. 113, n.1-2, p.89-96, 2006

ROSSETTO, C.A.V. et al. Contaminação fúngica do amendoim em função das doses de calcário e das épocas de amostragem. **Ciência e Agrotecnologia**. v.62, n.3, p.437-445, 2003.

RUPOLLO, G.; GUTKOSKI, L.C.; MARTINS, I.R.; ELIAS, M.C. Efeito da umidade e do período de armazenamento hermético na contaminação natural por fungos e a produção de micotoxinas em grãos de aveia. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 30, n. 1, p. 118-125, jan./fev., 2006

SAMSON, A. R.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C. Introduction to food and airborne fungi. **Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, Netherlands: Utrecht**, 2004

SANTOS, C. C. M.; LOPES, M. do R. V.; KOSSEKI, S. Y. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de São José do Rio Preto/SP. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 60, n. 2, p. 153-157, 2001.

SANTOS, R. C. et al. Recomendações Técnicas para o Cultivo do Amendoim em Pequenas Propriedades Agrícolas do Nordeste Brasileiro. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. 7p. (Embrapa. Circular Técnica, 102)

SANTURIO JM. Micotoxinas e Micotoxicoses na Avicultura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v.2(1),2000

SCUDAMORE, K. A.; PATEL, S.; BREEZE, V. Surveillance of stored grain from the 1997 harvest in the United Kingdom for ochratoxin A. **Food Additives and Contaminants**, New York, v. 16, n. 7, p. 281-290, 1999.

SEAL CJ, BROWNLEE IA. *Whole grains and health, evidence from observational and intervention studies*. **Cereal Chemistry**.v.87:p.167-74,2010

SIGMA STAT for windows version 1.0. Jandel Corporation, 1994.

SILVA, M.B.L. et al. Qualidade microbiológica de méis produzidos por pequenos apicultores e de méis de entrepostos registrados no Serviço de Inspeção Federal no Estado de Minas Gerais. **Alimentos e Nutrição**. v.19, n. 4, out./dez. 2008.

SIMAS, M. M.; BOTURA M. B.; CORREA, B. Determination of fungal microbiota and mycotoxins in brewers grain used in dairy cattle feeding in the State of Bahia, Brazil. **Food Control**, v.18, p. 404-408, 2007

SIMIN LIU, WALTER C WILLETT, JOANN E MANSON, FRANK B HU, BERNARD ROSNER AND GRAHAM COLDITZ. Relation between changes in intakes of dietary fiber and grain products and changes in weight and development of obesity among middle-aged women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, p. 920-927, 2003.

SNOWDON, J.A. ;CLIVER, D.O. Microorganisms in honey. Int. **Journal Food Microbiologic**., v.31, p.1-26, 1996.

SLAVIN J. *Whole grains and human health*. **Nutr Res Rev**.v.17:p.99–110,2004

SOARES, L. L.; PACHECO, J. T.; BRITO, C. M. de; TROINA, A. de A.; BOAVENTURA, G. T.; GUZMÁN-SILVA, M. A. Avaliação dos efeitos da semente de linhaça quando utilizada como fonte de proteína nas fases de crescimento e manutenção em ratos. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 22, n. 4, p. 483-491, 2009.

SOUSA, A. **A. Perfil do Consumidor de Alimentos Orientado para Saúde no Brasil**. 2006. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2006.

SOUZA, A. P. O.; ALCÂNTARA, R. L. C. Produtos orgânicos: um estudo exploratório sobre as possibilidades do Brasil no mercado internacional. Anais. In: XX Encontro Nacional de Engenharia de Produção. São Paulo, Brasil, 2000.

SOUZA, M.L.; MENEZES, H.C. Processing of Brazil nut and meal and cassava flour: quality parameters. **Ciência Tecnologia Alimentos**. 24,120-128,2004

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. Boletim da SBCTA. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

SWEENEY, M. J.; DOBSON, A. D. W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 43, p. 141-158, 1998.

TAKEUCHI, K. P.; SABADINI, E.; CUNHA, R. L. Análise das propriedades mecânicas de cereais matinais com diferentes fontes de amido durante o processo de absorção de leite. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n. 1, p. 78-85, jan./mar., 2005.

TANAKA, M. A. S.; MAEDA, J. A.; ALMEIDA, I. H.; PLAZAS, Z. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 501-508, 2001.

TAVEIRA, J. A.; MIDIO, A. F. Aflatoxina M1 - A micotoxina do leite. Boletim SBCTA, v. 33, n. 1, p. 115-126. 1999

TESTING LABORATORY FOR MOLD. Cladosporium sp..2012. Disponível em: <<http://www.emLab.com/app/fungi/Fungi.po?event=fungi&type=primary&species=13&name=Cladosporium>>, acessado em 27 de fevereiro de 2012.

TCHOUMBOUE, J. et al. Physico-chemical and microbiological characteristics of honey from the sudano-guinean zone of West Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 7, p. 908913, 2007.

TRABULSI, L. R. Et al. **Microbiologia médica**. São Paulo: Atheneu. 5ª ed .2008. p. 780.

TRISTAN, T.Q. Dinâmica toxicológica de aflatoxinas em alimentos de origen animal em Aguascalientes y Querétaro. Santiago de Querétaro: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología; Edicion Comunicación del Centro, 2002. 117p

TRUCKSESS, M. W.; STACK, M. E.; NESHEIM, S.; ALBERT, R. H.; ROMER, T. R. Multifunctional column coupled with liquid chromatography for determination of aflatoxins B1,B2, G1, G2 in corn, almonds, Brazil nuts, peanuts and pistachionuts: collaborative study. **Journal of AOAC**. v.6,p.1512-1521,1994

UNITED STATE DEPARTAMENT AGRICULTURE (USDA). **Why Is it Important to Eat Grains, Especially Whole Grains? 2012. Disponível: <http://www.choosemyplate.gov/food-groups/grains-why.html>. Acessado em: 27 fevereiro de 2012.**

VAN EGMOND, H. P., DEKKER, W. H. Worldwide regulations for mycotoxins in 1994. **Natural Toxins**, v. 3, p. 332-336, 1995.

VAN EGMOND, H. P.; JONKER, M. A. Worldwide regulations on aflatoxins- the situation in 2002. **Journal of Toxicology: Toxin Reviews**. v. 23, n. 2/3, p. 273-293, 2004.

VECCHIA ,A. D. ; CASTILHOS,F.R de. Contaminação fúngica em granola comercial. **Ciência. Tecnologia Alimentos**, v. 27(2), v. 324-327, 2007

VENDRAMINI, L. A. Granola: importante para o organismo. Olhar Vital. Disponível em: http://www.olharvital.ufrj.br/2006/index.php?id_edicao=144&codigo=10>. Acesso em: 30 mar 2012.

VERARDI, G.; FROIDMONT-CÖRTZ, I. Overview of community legislation in the field of official control of mycotoxins in feedingstuffs. **Natural Toxins**, v. 3, p. 248-256, 1995.

WELKE, J.E.; HOELTZ, M.; NOLL, I.B. Aspectos relacionados à presença de fungos toxigênicos em uvas e acratoxina A em vinhos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, p. 2567-2575, 2009

WIKI. A produção de arroz no Brasil. 2009. Disponível em :http://wiki.advfn.com/pt/A_produ%C3%A7%C3%A3o_de_arroz_no_Brasil. Acessado em 11/01/2011

WILLIAMS, J. H.; PHILLIPS, T.D., JOLLY, P.E., STILES, J.K., JOLLY, C.M., AGGARWAL, D. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. **American.Journal Clinical Nutrition**. v.80, p.1106–1122, 2004.