



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

JOENNY MARIA DA SILVEIRA DE LIMA GASTON

**PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS POR FUNGOS FILAMENTOSOS
PROVENIENTES DE FARINHA DE BERINJELA COMERCIALIZADA EM
RECIFE-PE**

Recife
2019

JOENNY MARIA DA SILVEIRA DE LIMA GASTON

**PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS POR FUNGOS FILAMENTOSOS
PROVENIENTES DE FARINHA DE BERINJELA COMERCIALIZADA EM
RECIFE-PE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos parciais para a obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Micologia aplicada

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Cristina Maria de Souza Motta

Recife

2019

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Gaston, Joenny Maria da Silveira de Lima

Produção de micotoxinas por fungos filamentosos provenientes de farinha de berinjela comercializada em Recife-PE / Joenny Maria da Silveira de Lima Gaston. - 2019.

61 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Cristina Maria de Souza Motta.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Recife, 2019.

Inclui referências.

1. Fungos. 2. Alimentos – Contaminação. 3. Farinhas – Indústria. I. Motta, Cristina Maria de Souza (orientadora). II. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2021-207

JOENNY MARIA DA SILVEIRA DE LIMA GASTON

**PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS POR FUNGOS FILAMENTOSOS
PROVENIENTES DE FARINHA DE BERINJELA COMERCIALIZADA EM
RECIFE-PE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos parciais para a obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos.

Aprovada em: 08/03/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Cristina Maria de Souza Motta (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Túlio Diego da Silva (Examinador Externo)
Pesquisador no centro de tecnologias estratégicas do Nordeste

Dr. Renan do Nascimento Barbosa (Examinador Interno)
Pós doutorando pela Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus pelo cuidado e carinho durante esses dois anos, me permitindo então, concluir mais uma etapa árdua e gratificante da minha vida!

A minha querida mãe, Ane Barbalho, que não mediu, nem mede esforços para que eu alcance meus objetivos de vida, meu muito obrigada, mãe!!

Quero agradecer imensamente à toda minha família, por sempre apoiarem minha vida acadêmica, em especial a Maria José Barbalho, Álvaro Francisco, Bárbara Silveira, Alexandra Barbalho, Adriana Carla e Benjamin Rafael, a vocês, minha eterna gratidão.

Agradeço ao meu esposo, Severino Gaston, pelo companheirismo e por sempre acreditar em mim, sem seus incentivos, não chegaria tão longe.

Aos meus amigos queridos, José Hilton, Julyanna, Adrielly, Laureana, Alba e Ewerton, vocês são incríveis!

Ao meu amigo, fiel e grande companheiro, Légolas, sem ele, meus dias seriam tão tristes e sem graça.

A minha querida turma de mestrado, conviver e aprender com vocês foi incrível!

A Renan Barbosa, pelas análises moleculares dos meus filhotes, muito obrigada!

Ao CETENE (Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste), pela grande parceria, em especial, ao Túlio Diego por toda ajuda, paciência e aprendizagem compartilhada.

Aos queridos amigos do departamento de micologia, Leonardo, Débora e Paula, vocês foram muito bons comigo, obrigada pelos documentos impressos, pelas águas fornecidas e pelo carinho dado!

A minha orientadora, Cristina Maria, pela confiança durante todos esses anos maravilhosos.

A instituição CNPq pela bolsa de mestrado e a Universidade Federal de Pernambuco pelo apoio oferecido.

A todos, que direta ou indiretamente contribuíram para meu crescimento pessoal e acadêmico, minha imensa e eterna gratidão.

“A flor que desabrocha na adversidade é a mais rara e mais bela de todas.” (MULAN,1998)

RESUMO

As micotoxinas, quando ingeridas, são consideradas muito prejudiciais para a saúde humana e animal. São produzidas em sua maioria por espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Uma vez que podem estar presentes em alimentos contaminados por fungos micotoxigênicos, constituem uma séria preocupação para a saúde pública em todo o mundo. A contaminação dos alimentos pode ocorrer no campo, durante o transporte e/ou no armazenamento do produto. Posto isso, é de extrema importância a existência de regulamentos que indiquem os limites máximos aceitáveis de micotoxinas em alimentos para consumo. O estudo objetivou isolar, identificar fungos filamentosos presentes na farinha de berinjela comercializada em Recife, Pernambuco, bem como, avaliar a produção de Aflatoxina B1, B2 e Ocratoxina A pelas linhagens obtidas e analisar a presença dessas micotoxinas nas farinhas. As amostras foram adquiridas em lojas especializadas, sendo três lotes distintos para cada marca de farinha. Todas as 12 amostras analisadas apresentaram fungos, ao todo, foram isolados 96 fungos, pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Syncephalastrum*, as confirmações das espécies foram realizadas por morfologia e biologia molecular. O gênero *Aspergillus* foi o mais presente em todas as amostras. A contagem de UFC/g variou entre $3,5 \times 10^3$ e 2×10^1 , sendo a maior contagem para a farinha embalada à vácuo, e a menor para a vendida à granel, respectivamente. Quanto a produção de Aflatoxina B1, B2 e Ocratoxina A, apenas quatro isolados foram positivos, sendo eles, *A. aureoterreus*, *A. tubingensis* e *A. steynii*, como produtores de Ocratoxina A e *A. novoparasiticus* de Aflatoxina B1. Foram detectadas a presença de Aflatoxina B1 e B2 em quatro das 12 amostras analisadas. Diante do exposto, as diferentes marcas de farinha de berinjela se encontram dentro das normas de qualidade sanitária definidas pela legislação, contudo, a presença de fungos micotoxigênicos e seus compostos nos alimentos é uma preocupação em vista que seus efeitos cumulativos a longo prazo trazem malefícios à saúde humana.

Palavras-chave: Farináceos; *Aspergillus*; Aflatoxina B1; Ocratoxina A.

ABSTRACT

Mycotoxins, when ingested, are considered to be very harmful to human and animal health. They are mostly produced by species of the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. Since they can be present in food contaminated by mycotoxigenic fungi, they are a serious concern for public health around the world. Contamination of food can occur in the field, during transport and/or storage of the product. That said, it is extremely important to have regulations that indicate the maximum acceptable limits of mycotoxins in food for consumption. The study aimed to isolate and identify filamentous fungi present in eggplant flour sold in Recife, Pernambuco, as well as evaluate the production of Aflatoxin B1, B2 and Ochratoxin A by the obtained strains and analyze the presence of these mycotoxins in the flours. The samples were purchased at specialized stores, with three different batches for each brand of flour. All 12 samples analyzed showed fungi, in total, 96 fungi were isolated, belonging to the genera *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Rhizopus* and *Syncephalastrum*, the confirmations of the species were carried out by morphology and molecular biology. The *Aspergillus* genus was the most present in all samples. The count of CFU/g ranged between 3.5×10^3 and 2×10^1 sendo, with the highest count being for the vacuum-packed flour, and the lowest for the one sold in bulk, respectively. As for the production of Aflatoxin B1, B2 and Ochratoxin A, only four isolates were positive, being *A. aureoterreus*, *A. tubingensis* and *A. steynii*, as producers of Ochratoxin A and *A. novoparasiticus* of Aflatoxin B1. The presence of Aflatoxin B1 and B2 was detected in four of the 12 samples analyzed. Given the above, the different brands of eggplant flour are within the sanitary quality standards defined by legislation, however, the presence of mycotoxigenic fungi and their compounds in food is a concern given that their long-term cumulative effects bring harm to the human health.

Key-words: Farinaceous; *Aspergillus*; Aflatoxin B1; Ochratoxin A.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Tipos de berinjela (<i>Solanum melongena</i> L.)	13
Figura 2 -	Fluxograma da produção da farinha de berinjela.....	16
Figura 3 -	Etapas da produção dos alimentos até o consumo humano	17
Figura 4 -	Composição da cadeia química da Aflatoxina B1	23
Figura 5 -	Composição da cadeia química da Ocratoxina A	25
Figura 6 -	Farinhas de berinjela. F1= Farinha 1, embalada à vácuo; F2= Farinha 2, a granel; F3=Farinha 3, embalada à vácuo; F4=Farinha 4, a granel.....	29
Figura 7 -	Cromatograma da produção de Ocratoxina A por <i>Aspergillus steynii</i>	40
Figura 8 -	Cromatograma da produção de Ocratoxina A por <i>Aspergillus aureoterreus</i>	41
Figura 9 -	Cromatograma da detecção da presença de AFB1 e AFB2 na amostra F1A1, e de AFB1 nas amostras F2A1 e F2A2.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Espécies de fungos de grande interesse e as micotoxinas produzidas.....	18
Tabela 2 -	Estudos em alimentos onde foi detectada a presença de AFLA B1, B2 e OTA e seus efeitos ao homem.....	21
Tabela 3 -	Limites máximos toleráveis para concentração de micotoxinas em alimentos no Brasil.....	27
Tabela 4 -	Número de Unidades Formadoras de Colônias de fungos filamentosos por grama (UFC/g) de farinhas de berinjela.....	34
Tabela 5 -	Número de isolados das espécies de fungos filamentosos provenientes de farinha de berinjela comercializadas em Recife, Pernambuco.....	36
Tabela 6 -	Produção das micotoxinas AFLA B1, B2 e OTA por fungos isolados da farinha de berinjela.....	39
Tabela 7 -	Micotoxinas AFLAB1, B2 e OTA identificadas em amostras de farinha de berinjela por CLAE.....	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1	Berinjela (<i>Solanum melongena</i> L.)	13
2.1.1	<i>Farinha de berinjela.....</i>	<i>15</i>
2.2	Fungos micotoxigênicos em alimentos.....	17
2.3	Micotoxinas.....	20
2.3.1	<i>Aflatoxinas.....</i>	<i>22</i>
2.3.2	<i>Ocratoxina A.....</i>	<i>24</i>
2.3.3	<i>Legislação brasileira para micotoxinas.....</i>	<i>26</i>
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1	Aquisição das amostras.....	29
3.2	Isolamento dos fungos.....	29
3.3	Identificação morfológica.....	30
3.4	Identificação por biologia molecular.....	30
3.4.1	<i>Extração de DNA, PCR e sequenciamento.....</i>	<i>30</i>
3.4.2	<i>Análises filogenéticas.....</i>	<i>31</i>
3.5	Detecção da produção de micotoxinas pelas espécies de <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Paecilomyces.....</i>	<i>31</i>
3.6	Detecção de AFLA B1, B2 e OTA em farinhas de berinjela.....	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1	Unidades Formadoras de Colônias de fungos por grama de farinhas de berinjela (UFC/g)	34
4.2	Fungos filamentosos isolados de farinhas de berinjela.....	35
4.3	Detecção da produção de micotoxinas pelos isolados fúngicos.....	38
4.4	Detecção de AFLA B1, B2 E OTA em farinhas de berinjela.....	42
5	CONCLUSÕES	46
	REFERÊNCIAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país que possibilita uma alta diversidade de produções de alimentos, visto que, as mais variadas culturas podem se adaptar aos diferentes climas, contudo, essa diversidade deve ser estudada, pois altas temperaturas adicionadas a uma alta umidade podem facilitar o crescimento fúngico, e alguns alimentos são mais vulneráveis e propícios do que outros. Estes fungos podem crescer tanto no campo, quanto durante o armazenamento e conservação. Quando este desenvolvimento fúngico não é reprimido, acaba ocasionando sérios danos à saúde do consumidor, resultado esse que se dá pela presença de mixotoxinas (IAMANAKA et al., 2010; VALMORBIDA, 2016).

Provenientes dos metabólitos secundários dos fungos, as micotoxinas possuem baixo peso molecular e são capazes de causar danos à saúde humana e dos animais (RIBEIRO, 2007; CHANNIAH & MAIER, 2014). Entre as mais conhecidas, a Ocratoxina A (OTA) e Aflatoxinas (AFLA) recebem bastante destaque por serem encontradas em inúmeros alimentos e bebidas, e também por causarem complicações nefrotóxicas, imunossupressoras, teratogênicas e potencialmente carcinogênicas ao ser humano. Além disso, estudos recentes têm demonstrado que a OTA e a AFLA acarretam grandes perdas econômicas em todo mundo. Por esses fatores, leis especiais são criadas para determinar o nível máximo de contaminação por essas micotoxinas (DUARTE, 2010; ROCHA et al., 2014; CASTRILLO et al., 2014).

Os alimentos mais revelados em pesquisas pela presença de micotoxinas e ingestão da população são os grãos de cereais, como milho, trigo, cevada, arroz, aveia dentre outros, as frutas, como uva, cacau, café e maçã e sementes oleaginosas, amendoim, castanha do Brasil, nozes, frutas secas e farinhas (BENNETT & KLICH, 2003; VALMORBIDA, 2016).

Ante a variedade das espécies de fungos na natureza, grande parte produz micotoxinas. Os fungos do gênero *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Claviceps* são os mais frequentemente relacionados com micotoxinas. Dentre estes, algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* contaminantes de grãos, sementes e outros alimentos são produtoras de OTA (DUARTE, 2010, EMBRAPA, 2015).

As farinhas devem ser produzidas a partir de matérias primas limpas, não podem estar úmidas, fermentadas ou rançosas. De acordo com a legislação prevista pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da portaria nº 451, é necessário que seja realizado o controle microbiológico para leveduras e bolores em alimentos como amidos, farinhas, féculas e fubá, onde o limite permitido é de 10^4 /g (BRASIL, 1998).

A grande busca por alimentos à base de berinjela resulta, principalmente, de sua atuação no controle do colesterol plasmático (SOUZA et al., 2011). A berinjela (*Solanum melongena* L.) pertence à família Solanaceae e é uma importante cultura olerícola no Brasil e no mundo. Se adapta às condições de clima tropical, e é cultivada durante todo o ano em diversas regiões (REIS et al., 2011). Essa hortaliça, embora possua um teor nutritivo um pouco menor que as demais espécies vegetais, é muito admirada seja pelo sabor ou pela presença de compostos bioquímicos como as antocianinas, o caroteno, a vitamina C, o ácido málico, e as substâncias pécticas (BUZATU et al., 2017).

A berinjela é utilizada na mesa dos consumidores em saladas, suco, chá e farinha, porém, admite-se que a farinha da berinjela seja a que mais mantenha suas propriedades originais. In natura, a farinha pode ser utilizada em iogurtes, salada de frutas, sucos, cuscuz, arroz e etc (AYRES, 2017). Dentre os novos alimentos com importantes benefícios nutricionais no mercado, a farinha de berinjela possui grande quantidade de fibra alimentar e por isso, vem sendo também empregada para fabricação de pães, biscoitos e massas saudáveis (PEREZ, 2002, PEREZ E GERMANI, 2007).

Contudo, a contaminação de culturas por fungos micotoxigênicos pode ocorrer antes e pós-colheita devido à manejo e práticas inadequadas, por isso, se faz necessário o controle de qualidade desse alimento, pois quando contaminados, causam a deterioração e diminuição do valor nutritivo do alimento gerando assim, uma má qualidade do mesmo. Dessa forma, o modo como o produto é cuidado desde o cultivo até a mesa do consumidor é levado em total consideração para manter o alto nível de qualidade das indústrias. Por isso, é de extrema importância que todo alimento seja manipulado, armazenado, processado e embalado em situações apropriadas (ANVISA, 2011; BORGES et al. 2011; WILD et al., 2015; BUZATU et al., 2017).

Nos dias de hoje, estudos que buscam a análises de alimentos farináceos são bastante escassos, partindo dessa premissa o estudo objetivou isolar e identificar fungos filamentosos presentes na farinha de berinjela comercializada em Recife, Pernambuco, bem como, avaliar a produção de Aflatoxina B1, B2 e Ocratoxina A pelas linhagens obtidas e analisar a presença destas micotoxinas na farinha.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Berinjela

A berinjela (*Solanum melongena* L.) é um vegetal que pertence à família Solanaceae, gênero *Solanum*, onde podemos incluir as espécies de grande importância econômica como o tomate (*S. lycopersicum* L.), a batata (*S. tuberosum* L.), a pimenta (*Capsicum annuum* L.) e o tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). A berinjela é um fruto consumido mundialmente e é comumente cultivada em regiões subtropicais e tropicais, sendo proveniente da Índia e inserida no Brasil no século 16 pelos portugueses, suas maiores produções no Brasil são oriundas das regiões Sudeste, sendo São Paulo o maior produtor (RIBEIRO, 2007; HIRAKAWA et al., 2014).

As plantas pertencentes a essa espécie exibem um porte arbustivo, caule semi-lenhoso, ereto e altura entre 50 cm a 180 cm com sistema radicular que pode atingir profundidades maiores que 100 cm. É considerada como uma olerícola de múltiplas colheitas, devido ao seu hábito de crescimento indeterminado (KRYSCZUN, 2018). Existem diversas formas e tamanhos da berinjela (Figura 1), elas são geralmente roxas, brancas ou listradas. A coloração do tipo roxa do fruto de berinjela é provocada pela presença de antocianinas, compostos esses de grande interesse comercial (UTHUMPORN et al., 2016).

Figura 1 - Tipos de berinjela (*Solanum melongena* L.).



Fonte: Goldman (2018).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), em 2018 a produção total de berinjela ultrapassou as 54 milhões de toneladas, onde 34 milhões foram produzidos pela China, 12 milhões pela Índia e 1 milhão pelo Egito, que são considerados os países que mais produzem essa hortaliça. Já no Brasil, segundo Marouelli et al. (2014), a berinjela tem área cultivada em vários estados e produção em torno de 90 mil toneladas por ano, sendo a maior produção da região Sudeste (78%), com São Paulo como principal Estado produtor, seguido de Minas Gerais e Rio de Janeiro. Diante dessas produções, é importante salientar que essa hortaliça possui um baixo custo tornando-a um alimento mais acessível à população (SANTOS et al., 2015).

No Brasil as berinjelas são bastante comercializadas in natura e utilizadas domesticamente após algum tratamento térmico, como cozidas em água, refogadas em óleo, fritas e assadas. O comércio de berinjelas se dá, basicamente, em empresas de pequeno porte que processam berinjelas secas, picles fermentados, conservas com outras hortaliças e pastas (EMBRAPA, 2018).

A berinjela é uma olerícola que vem sendo muito procurada no mercado nos últimos anos, uma vez que se sobressai por comprovarem seu potencial fitoterápico, principalmente em relação à prevenção e ao tratamento de problemas cardiovasculares e diabetes. Atualmente o suco da berinjela com laranja, por exemplo, é utilizado como tratamento alternativo para redução do colesterol e na prevenção das doenças cardiovasculares, atividades essas resultantes das ações dos flavonoides e antioxidantes. Além disso, este fruto também é uma excelente fonte de sais minerais e vitaminas (AKANITAPICHAT et al., 2010; SANTOS et al., 2015). De acordo com Niño-Medina et al. (2017), as antocianinas estão presentes na casca da berinjela e os ácidos fenólicos na polpa, e é por essa capacidade antioxidante que a berinjela é considerada como um alimento funcional (JACOB et al., 2012).

Os alimentos que possuem compostos que previnem e ajudam na prevenção ou tratamento de doenças, estão sendo cada vez mais procurados pela indústria alimentícia que vem utilizando inúmeras fontes alternativas de vegetais com o intuito de oferecer produtos mais saudáveis e ricos em fibras (SILVA et al., 2011; LIMA, 2016). Baseado em estudos, uma forma eficaz de evitar perdas expressivas e usufruir de suas características nutricionais seria a secagem e transformação da berinjela em farinha, podendo então incorporá-la em inúmeros produtos, pois enriquece a alimentação e confere benefícios à saúde (PEREZ, 2004; SCORSSATO et al., 2017).

2.1.1 Farinha de berinjela

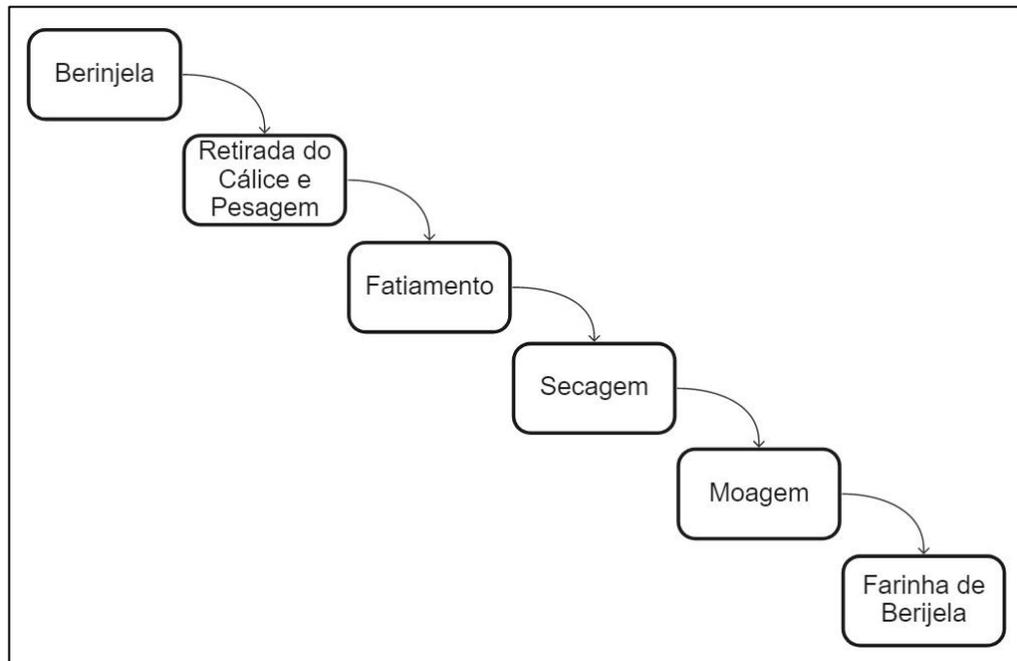
No Brasil, segundo pesquisa realizada pelo IBGE, o consumo médio nacional de farinhas, féculas e massas é de 23 kg per capita/ano. As regiões brasileiras em que mais se consomem esse tipo de alimento são as regiões Norte (44 kg) e Nordeste (31 kg), principalmente a farinha de mandioca (34 e 15 kg, respectivamente), enquanto no Sul, Sudeste e Centro-Oeste, o consumo chega a 28, 14 e 11 kg, respectivamente.

Os diferentes tipos de farinha são formados em sua grande maioria de carboidratos, fornecendo assim, grande fonte de energia, além de ser um alimento de fácil acesso. Contudo, novas alternativas gastronômicas vêm surgindo cada vez mais com o intuito de substituir a farinha de trigo na elaboração de produtos de panificação devido aos novos hábitos alimentares ou exigências comerciais. Farinhas à base de grãos, sementes, cascas e hortaliças têm sido amplamente utilizadas devido aos seus benefícios à saúde, que além das fibras alimentares, os produtos elaborados com estas farinhas podem fornecer ainda vitaminas, proteínas, minerais, carboidratos, o que contribuem para a redução do risco de várias doenças, como câncer, diabetes, obesidades e doenças cardiovasculares (PRADO et al., 2005; CHANG, 2007).

Neste contexto, nas indústrias de alimentos, a utilização de farinhas de origem vegetal como ingredientes se torna de grande importância devido também ao seu baixo custo de produção comparado com os outros produtos proteicos (SILVEIRA et al., 2016). Atualmente as farinhas ricas em fibra estão sendo muito utilizadas na fabricação de diversos produtos, aumentando assim, a oferta de alimentos com grande teor de fibra, tanto para os consumidores que não possuem problemas de saúde quanto para aqueles que possuem doenças crônicas não transmissíveis (GUIMARÃES et al., 2010). Devido suas características nutricionais, têm sido feitos estudos na fabricação de farinha de berinjela (Figura 2), que pode ser utilizada misturada à farinha de trigo na fabricação de biscoitos, pães e massas alimentícias (SCORSSATO, 2017).

A farinha de berinjela obtida a partir de extratos do fruto apresentou aproximadamente 45% de fibra alimentar total, também foi relatado que a adição da farinha aos alimentos proporciona uma considerável alteração na quantidade de fibras (PEREZ E GERMANI, 2007). Desta forma, a farinha de berinjela pode ser usada como um ingrediente funcional, a fim de oferecer aumento da capacidade nutritiva dos produtos finais e conseqüentemente melhoramento na saúde dos consumidores (UTHUMPORN et al., 2016). Contudo, ainda são poucas as análises sobre a composição química e nutricional da farinha de berinjela, apesar do grande uso dessa hortaliça na culinária brasileira.

Figura 2 - Fluxograma da produção da farinha de berinjela.



Fonte: Perez e Germani (2004).

Analisando diferentes variedades de farinha de berinjela, Uthumporn et al. (2016), obtiveram resultados que mostram claramente a capacidade que a farinha possui de eliminar os radicais livres que são carcinogênicos para o corpo humano devido à presença de seus antioxidantes. Um destaque é dado para a farinha produzida a partir da berinjela roxa, que apresenta uma maior quantidade de antioxidantes em comparação com os outros tipos, podendo ser usada para obter uma farinha com melhor qualidade. Por isso, segundo Dores et al. (2010), se faz necessário preservar as substâncias ativas ou grupos químicos presentes nos vegetais, visto que, algumas dessas substâncias ainda são desconhecidas. Para manter essa qualidade do fitoterápico, todas as etapas de processamento da matéria-prima ativa vegetal e fabricação do produto final devem ser realizadas, conservando as substâncias de grande importância ali presentes.

De acordo com o Serviço de Apoio à Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE) (2006), o local de produção das farinhas deve cumprir as exigências das Boas Práticas de Fabricação (BPF), todos os equipamentos devem possuir uma limpeza simples e fácil, para evitar qualquer crescimento de microrganismos indesejados. É de extrema importância cumprir as normas gerais de processamento de alimentos, visando assegurar que o produto presente nas prateleiras seja de qualidade, tenha vida útil, elevar o nível da produção e, principalmente, minimizar os riscos em relação à saúde do consumidor (BRASIL, 2002; SILVA et al., 2017).

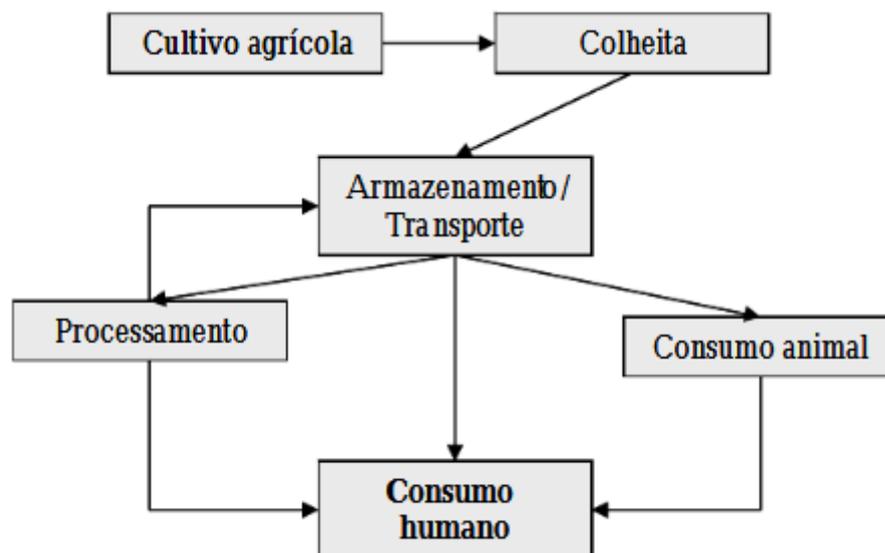
2.2 Fungos micotoxigênicos em alimentos

Os fungos micotoxigênicos estão presentes no solo, na água, ou são carregados pelo vento (esporos), eles são fungos que produzem metabólitos secundários tóxicos, chamados de micotoxinas e mais de 300 espécies fúngicas as produzem. Esses metabólitos são compostos sintetizados por vias metabólicas, porém, são dispensáveis para o crescimento e a sobrevivência do micro-organismo (D'MELLO, 2003; SABBADINI et al., 2009; BOZZA, 2010).

O desenvolvimento fúngico depende de diversos fatores, principalmente do tipo de substrato que forma o alimento, disponibilidade de água, pH, temperatura, fatores estes importantes para os processos metabólicos (NETO et al., 2004; MAZIERO et al., 2010). Conseguir selecionar um único conjunto de condições que facilitam o crescimento de fungos micotoxigênicos não é possível, pois, os mesmos são organismos que se diferenciam ecologicamente, bioquimicamente e também por nichos ecológicos (SERRA, 2005).

A principal via de exposição dos humanos e animais a micotoxinas é através da ingestão de alimentos contaminados, pois os fungos podem encontrar condições favoráveis ao seu crescimento em todas as etapas de produção, desde o cultivo, colheita, transporte ao armazenamento (Figura 3). O crescimento acelerado dos fungos e a produção de micotoxinas nos alimentos é um assunto preocupante na sociedade moderna (SANTOS et al., 2014; BULLERMAN & BIANCHINI, 2014).

Figura 3 - Etapas da produção dos alimentos até o consumo humano.



Fonte: Serra (2005).

As espécies mais estudadas pela produção de micotoxinas são encontradas nos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* e *Fusarium* (Tabela 1). *Aspergillus* e *Penicillium* são os mais presentes em alimentos no período de armazenamento, pois são fungos menos exigentes a água, e as micotoxinas mais comumente associadas e produzidas pelos mesmos são as Aflatoxinas e Ocratoxinas, mais especificamente, Aflatoxina B1 e Ocratoxina A. Já *Alternaria* e *Fusarium* são os patógenos de plantas, que comumente possuem particularidade de hospedeiro, contaminação e liberação de micotoxinas durante a pré-colheita (PATRIARCA & PINTO 2017; NEME & MOHAMMED, 2017).

Ainda há muitas discussões a respeito do que leva os fungos a produzirem as micotoxinas, pois nem todos as produzem, contudo, é necessário o controle de medidas preventivas. Dentre estas, podemos citar a utilização de linhagens de plantas resistentes à colonização fúngica, colheita apropriada, estocagem adequada, controle de insetos e roedores, controle de temperatura e umidade e tempo de estocagem (FIB, 2009; CHANNAIAH & MAIER, 2014;).

Tabela 1 - Espécies de fungos de grande interesse e as micotoxinas produzidas.

Espécies fúngicas	Micotoxinas
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxina B1, B2, G1, G2
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxina B1, B2
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ocratoxina A
<i>Aspergillus niger</i>	Ocratoxina A
<i>Aspergillus carbonarius</i>	Ocratoxina A
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	Toxina T-2
<i>Fusarium graminearum</i>	Deoxinivalenol / Zearalenona
<i>Fusarium moniliforme</i>	Fumonisina B1
<i>Penicillium expansum</i>	Patulina
<i>P. verrucosum</i>	Ocratoxina A
<i>P. citrinum</i>	Citrinina

Fonte: Adaptação de Nieto (2018).

As condições climáticas de um país determinam, em grande parte, alguns gêneros de fungos que estarão ali presentes e conseqüentemente o tipo de micotoxina que ele pode produzir (REGES et al., 2016). No Brasil, as vantagens para o crescimento de fungos micotoxigênicos são grandes, dois fatores que favorecem esse crescimento são a temperatura e a umidade.

Diversos prejuízos econômicos no setor agrícola brasileiro têm como responsáveis a contaminação de alimentos pela presença das micotoxinas, diminuindo assim, as exportações, qualidade, a produtividade e a saúde dos animais. Vários produtos considerados como básicos para a população brasileira estão no grupo dos alimentos mais contaminados (ARISSETO-BRAGOTTO et al., 2017).

Os propágulos fúngicos presentes em produtos farináceos e outros ingredientes usados na indústria são considerados as principais fontes de contaminação, pois entram nas áreas de produção e são liberados na forma de aerossóis no início da produção, com isso, eles tendem a se depositar na superfície dos produtos, equipamentos e utensílios (BERNARDI et al., 2019). Contudo, segundo Garcia (2019), acredita-se que os esporos de fungos presentes nas farinhas são eliminados durante a produção do pão, por exemplo.

Esporos de fungos presentes em farinhas podem sobreviver durante muitos anos e, por isso, se faz necessário um maior cuidado no armazenamento das mesmas. Esses microrganismos causam danos ao produto somente se as condições de armazenagem forem impróprias à manutenção da qualidade do mesmo (CHRISTENSEN E COHEN, 1950). Os fungos de armazenagem são os que podem crescer com atividade de água reduzida, cerca de 70 – 90% do teor de umidade estão em alimentos armazenados (SILLIKER et al., 1985).

De acordo com Rodrigues et al. (2015), a presença ou ausência de fungos em alimentos é imprevisível, pois estes são disseminados de diversas maneiras pelo ambiente, contaminando desde a produção até a conservação. Nos comércios e indústrias é necessário fazer o uso corretamente de embalagens apropriadas, monitoramento constante de infestações, observância às flutuações do clima para o controle de temperatura e umidade, evitando possivelmente, o crescimento fúngico. Diante da necessidade de melhorar o controle e qualidade dos produtos produzidos e vendidos no Brasil, a ANVISA através da portaria nº 451 estabeleceu padrões microbiológicos sanitários para leveduras e bolores em alimentos como amidos, farinhas, féculas e fubá, onde o limite permitido é de 10^4 /g (BRASIL, 1998).

Em 1960 mais de 100 mil perus morreram na Inglaterra devido a uma intoxicação que foi acompanhada por um quadro de hemorragias internas e necrose hepática. Estudos posteriores mostraram que a morte destas aves se deveu à ingestão de farinha de amendoim contaminada com um metabolito tóxico produzido pelo fungo filamentosso *Aspergillus flavus*. Esse composto depois de ter sido isolado e identificado foi denominado de aflatoxina. A partir daí, a implicação que as micotoxinas acarretam para a saúde humana e animal despertou a atenção da comunidade científica e o termo genérico micotoxina começou a ser utilizado (GOLDBLATT, 1969).

2.3 Micotoxinas

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos de baixo peso molecular que causam efeitos adversos à saúde em humanos e animais ao consumirem produtos contaminados. Esses compostos tóxicos são produzidos por fungos filamentosos que contaminam os produtos agrícolas durante os estágios pré e pós-colheita e são produzidos na fase exponencial tardia ou no início da fase estacionária do crescimento fúngico. Possuem grande resistência a inúmeros processos alimentícios e são estáveis a altas temperaturas, e por isso uma grande quantidade dessas micotoxinas acabam se acumulando nos alimentos (GNONLONFIN et al., 2013 ; WU, GROOPMAN, & PESTKA, 2014; WILD et al., 2015; PATRIARCA & PINTO, 2017).

Hoje, mais de 300 micotoxinas com estruturas químicas e efeitos tóxicos são conhecidas, porém, algumas são mais encontradas em alimentos e por isso possuem uma atenção especial, pois são importantes no quesito de segurança alimentar por serem carcinogênicas e /ou tóxicas (Tabela 2). São elas, as aflatoxinas (AFLA), ocratoxina (OTA), fumonisinas, zearalenona (ZEA), desoxinivalenol (DON) e os tricotecenos, que afetam fortemente a saúde humana e animal devido a seus efeitos teratogênicos, mutagênicos e imunossupressores (OUESLATI et al., 2012; IAMANAKA et al., 2013; ARISSETO-BRAGOTTO et al., 2017). Estes metabólitos têm sido encontrados como contaminantes em uma ampla variedade de produtos de origem vegetal, em alimentos industrializados, em bebidas, em rações e como resíduos em produtos de origem animal (leite e derivados, carne e produtos carne ou, ovos, etc.) (GATT et al., 2003).

Desde a descoberta das aflatoxinas na década de 1960 e a constatação de que as micotoxinas estão intrínsecas às ocorrências de problemas de saúde geradas pelos efeitos potenciais desses compostos ao homem, o interesse cresce cada vez mais. Contudo, o controle efetivo da contaminação dos alimentos pelas micotoxinas é bastante difícil, desta maneira, os órgãos responsáveis tentam regularmente e avaliar a ocorrência de micotoxinas nos diferentes estágios de produção, do campo até a mesa. Por isso, o conhecimento sobre as micotoxinas, e a diversidade fúngica nos produtos alimentícios se faz de grande importância (RODRIGUES et al., 2012; ARISSETO-BRAGOTTO et al., 2017).

Tabela 2 - Estudos em alimentos onde foi detectada a presença de AFLA B1, B2 e OTA e seus efeitos ao homem.

Alimentos	Micotoxinas	Efeitos	Referências
Amendoim, milho, trigo, arroz, nozes, leite, ovos, queijos, camarão, cacau, produtos lácteos, tecidos, feno, pasto, ração para ovinos, farinha de trigo e farinha de milho.	AFLA B1, B2, G1, G2	São compostos extremamente tóxicos, imunossupressores, mutagênicos, teratogênicos e carcinogênicos, e têm como principal alvo no organismo, o fígado.	Caldas et al. (2002), Gonzalez et al. (2008); Mostrom (2011); Calvet et al. (2015); Kara (2015); Valmorbida (2016); Kabak (2016); Soares et al. (2017).
Cereais (trigo, cevada, aveia e milho), amendoim, feijão, café, uva, passas, frutos secos, vinhos, sumo da maçã e farinha de trigo.	OTA	É uma micotoxina de ação nefrotóxica, imunossupressora, genotoxigênica, carcinogênica e teratogênica. Seus efeitos podem ser crônicos ou agudos.	Caldas et al. (2002); Clark & Snedeker, (2006); Fernandes (2016).

São inúmeros os relatos e estudos destes compostos associadas a grãos armazenados e rações para alimentação animal, poucos estudos se têm de micotoxinas em farinhas, contudo, é também nas etapas de armazenamento e conservação do produto que há contaminação. Serra (2005), ressalta que as micotoxinas surgem de diferentes formas nos alimentos processados: 1) estando presentes na matéria-prima; 2) durante o processamento e 3) após o processamento, na sua grande maioria em razão das péssimas condições de armazenamento ou acondicionamento.

Os níveis dos compostos micotoxigênicos podem aumentar ou reduzir nos alimentos processados, tudo dependerá da forma como eles serão elaborados durante sua fabricação. Em sua grande maioria as micotoxinas são termo resistentes e podem ser ativadas no decorrer do processamento térmico, podendo ser mais sensíveis ao tratamento químico (MURPHY et al., 2006; VON HERTWIG, 2015). Por isso, se faz necessário evitar a contaminação dos alimentos por micotoxinas a menores quantidades possíveis (THANUSHREE et al., 2019).

Com as mudanças climáticas, algumas culturas de interesse mundial podem mudar sua distribuição geográfica, aumentando assim, a presença de micotoxinas em matérias-primas e

mercadorias armazenadas (MEDINA et al., 2017). O controle desses contaminantes nos alimentos tem sido monitorado mediante o controle de atividade de água, pH e controle de qualidade dos ingredientes utilizados. Novos métodos de controle estão surgindo, como o uso de grãos geneticamente modificados com maior resistência a insetos e, assim, a redução das taxas de infecção fúngica. No mercado internacional, as micotoxinas podem ser um obstáculo, acarretando a uma maior regulamentação dos alimentos que podem contê-las e rápida retirada do mercado as matérias primas que não atendem aos limites regulamentares (MURPHY et al., 2006).

2.3.1 Aflatoxinas

As aflatoxinas são as micotoxinas mais estudadas no espectro das micotoxicoses, pois são conhecidas desde 1960, quando mais de 100 mil perus morreram na Inglaterra após ingerirem ração contendo amendoim importado da África e da América do Sul. A partir da ração que causou a morte dos animais, foram isolados *Aspergillus flavus* e uma toxina produzida por esse fungo, a qual foi designada aflatoxina. Logo depois, também foi verificado que *Aspergillus ochraceus*, *A. parasiticus*, *Aspergillus tamarii* e *A. nominus*, também a produziam. As AFLs são produzidas especialmente por fungos de armazenagem, pertencentes ao gênero *Aspergillus* (KLICH et al., 2000; FANI, 2012; SOARES et al., 2017). *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus versicolor* também foram identificados como produtores de aflatoxinas em humanos (PEPELJNJAK et al., 2004).

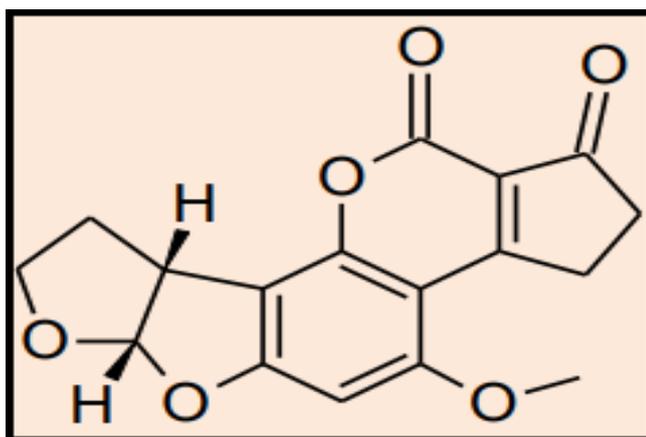
As condições de seca podem favorecer a infecção por espécies de *Aspergillus* em certas regiões e aumentar o risco de formação de aflatoxina no campo. Sendo assim, as mudanças climáticas também podem contribuir indiretamente para o aumento dessa contaminação por micotoxinas (MEDINA et al., 2017).

Há mais de 20 aflatoxinas conhecidas, mas as quatro principais são a aflatoxina B1 (AFB1), aflatoxina B2 (AFB2), aflatoxina G1 (AFG1) e aflatoxina G2 (AFG2), por causa da sua fluorescência sob a luz ultravioleta (B=Blue, G=Green) e na sua mobilidade enquanto é realizada a cromatografia de camada delgada (FREIRE et al., 2007). Entre as AFLAS (B1, B2, G1 e G2), a AFB1 é a mais comum nos alimentos. É altamente tóxica em termos de toxicidade aguda e crônica, e é classificada pelo IARC como carcinogênico humano (FLORES-FLORES et al., 2015). Essa toxicidade crônica causada pelas aflatoxinas compreende danos imunossupressores e efeitos carcinogênicos (INAN et al., 2007). Do ponto de vista químico, as aflatoxinas pertencem ao grupo difuranocumarina, onde é caracterizada pela ligação de

dihidrofurano ou tetrahidrofurano a uma estrutura cumarínica (Figura 4), as espécies fúngicas as produzem por uma via de policetídeo (BLANKSON & MILL-ROBERTSON, 2016).

As aflatoxinas podem ser passadas a pessoas e animais por produtos alimentícios, são encontradas com frequência em pães, massas, rações, amendoim, milho e sementes oleaginosas. Dependendo de sua concentração ela pode causar diferentes problemas tanto em pessoas como em animais, além disso, quando em conjunto ao vírus da hepatite B, são responsáveis por milhares de mortes por ano. O fígado é o principal órgão alvo da AFLA, a ingestão a longo prazo de alimentos contaminados com essa micotoxina acabam trazendo resultados ruins para o fígado, como a lesão hepática e a tecidual, bem como anomalias macroscópicas e microscópicas (HALT, 1994; WILLIAMS et al., 2011; GHOLAMI-AHANGARAN et al., 2016). E segundo Gnonlonfin (2013), as aflatoxinas são imunotóxicas tanto para o gado quanto para o homem.

Figura 4 - Composição da cadeia química da Aflatoxina B1.



Fonte: Santos (2014).

Torovic (2018), avaliando a ocorrência de aflatoxinas em amostras de diferentes tipos de farinhas comercializadas na Sérvia, detectou a presença de AFB1 e AFG1 em farinhas de arroz. No Brasil, em 2002, a lista de alimentos com Limites Toleráveis (LT) para aflatoxinas permitia pela legislação 20 $\mu\text{g} / \text{kg}$ para o amendoim, milho e fubá, para a soma de AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2. Algumas permissões para AFB1 foram liberadas em leite líquido e em pó, nos valores de 0,5 e 5,0 $\mu\text{g} / \text{kg}$, respectivamente. Recentemente, foram adicionados novos tipos de alimentos à legislação, como queijo, feijão, frutas desidratadas, especiarias e produtos de cacau (ANVISA, 2011; SOARES et al., 2017).

Níveis excessivos de aflatoxinas em alimentos de países não industrializados e de baixa renda são uma grande preocupação. Ainda hoje, diversas áreas da engenharia tentam buscar

soluções e técnicas para diminuição, o controle e o manejo das aflatoxinas em alimentos. As indústrias de alimentos devem exercer qualidade nesse quesito, acarretando em uma evolução da sustentabilidade econômica da indústria, maior segurança alimentar, aperfeiçoamento do comércio internacional e melhoria da saúde pública. Conscientizar a população de que as micotoxinas são um problema, fortalecer e melhorar a qualidade das análises laboratoriais, bem como estabelecer um plano precoce de detecção dessas substâncias e treinar os agricultores sobre as boas práticas agrícolas e de manejo são ações-chave para a mitigação dessas toxinas nos produtos alimentícios (GNONLONFIN et al., 2013; KUMAR, 2017).

2.3.2 Ocratoxina A

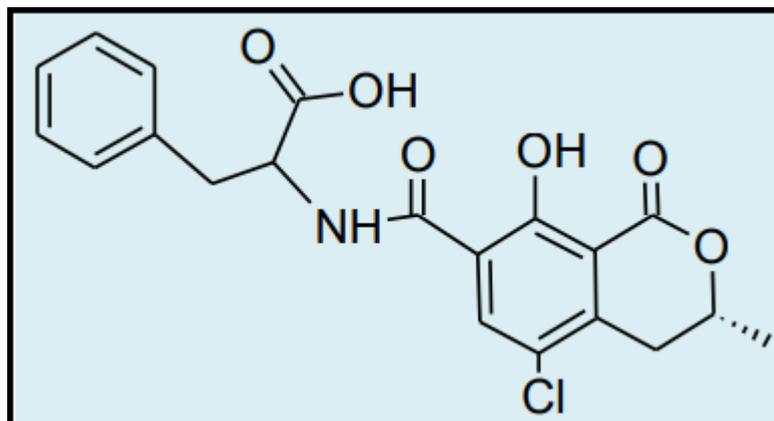
A ocratoxina A (OTA) também é considerada um metabólito secundário, produzido por apenas espécies de fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, é encontrado com uma grande constância em diversos alimentos e bebidas, incluindo o vinho, suco de uva, em grãos de cereais e produtos derivados, em leguminosas, oleaginosas, nos grãos de café e em rações. A OTA exibe efeitos carcinogênicos, nefrotóxicos, teratogênicos e imunotóxicos em animais, sendo considerado como possível carcinógeno renal humano (TERRA et al., 2013; PITT et al., 2013).

Essa micotoxina, quando ingerida, permanece no organismo por um longo período, tendo uma meia vida de 35 dias em humanos, de 72 a 120 horas em porcos e de 77 horas em animais ruminantes (AL-ANATI & PETZINGER, 2006). Em níveis altos, essa micotoxina pode causar tumores renais e pélvicos na região dos rins e uretra (AYDIN et al., 2008).

A OTA é um penta-cetáceo derivado da família de diidroisocumarinas acoplada à b-fenilalanina por uma ligação amida através do grupo 7-carboxi (Figura 5), além da OTA, existem outras micotoxinas pertencentes ao grupo das ocratoxinas, são conhecidas como ocratoxina B (OTB), ocratoxina C (OTC) e a ocratoxina α . (OT α), onde nesta, a fração fenilalanina não existe (REZZULLI et al., 2004).

A OTA foi descoberta como um metabólito de *Aspergillus ochraceus*, de onde deriva seu nome, em 1965. Logo depois, inúmeras espécies de *Aspergillus* e de *Penicillium* foram descobertas também como produtoras da micotoxina, são elas, *A. alliaceus*, *A. auricomus*, *A. carbonarius*, *A. glaucus*, *A. melleus*, *A. niger* e *P. verrucosum* (REDDY et al., 2010). Boa parte das espécies de *Aspergillus* armazenadas por longo tempo nos alimentos são xerófilos e produzem principalmente OTA.

Figura 5 - Composição da cadeia química da Ocratoxina A.



Fonte: Santos (2014).

Segundo Valmorbidia (2016), nos últimos anos, houve um aumento do número de estudos sobre a produção de ocratoxina A pelos membros de *Aspergillus* seção *Nigri*, logo após a sua primeira publicação em 1994 por Abarca et al. A presença dessas espécies é comum em alimentos por todo o mundo, porém, as regiões de clima mais quente e com altas temperaturas são onde há maiores ocorrências. No Brasil, por exemplo, ainda é preciso mais estudos sobre as condições específicas do desenvolvimento de fungos toxigênicos capazes de produzir Ocratoxina A, pois é vasto o número de substratos suscetíveis à contaminação e da grande diversidade climática do país (SOUZA, 2014). Alborch et al. (2012) e Torovic (2018), detectaram a presença de AFLA e OTA em farinhas de milho, contudo, segundo Torovic, em suas análises houveram oscilações da presença dessas micotoxinas na farinha, e afirma que, essas variações podem ser resultado da mudança das condições climáticas durante as estações de cultivo.

Portanto, a produção de OTA está intimamente associada às condições ambientais, podendo acontecer no processamento pós-colheita, durante a secagem, o transporte ou no armazenamento do alimento (ALVES et al., 2011). Kupski et al. (2018), apresentam resultados interessantes no uso de enzimas para diminuir a exposição à ocratoxina A (OTA) pela ingestão de farinha de trigo contaminada, o estudo avaliou a degradação enzimática em farinha de trigo na redução significativa de OTA utilizando extratos enzimáticos de *Rhizopus oryzae* e *Trichoderma reesei*, confirmando assim, a estratégia promissora do uso de enzimas microbianas para mitigar o impacto da OTA na farinha de trigo e diminuir assim o risco de exposição do consumidor.

Devido à grande constância da presença dessa micotoxina em produtos alimentícios, inúmeros países vêm adotando ano após ano regulamentações mais adequadas, evitando assim,

os efeitos da micotoxina a longo prazo. Contudo, estudos com uma melhor compreensão dos fatores críticos da contaminação por OTA permitirão a realização de melhores métodos de produção, facilitando assim, menores níveis de contaminação por essa micotoxina (FANI, 2012; TERRA et al., 2013).

Elaridi et al. (2019), avaliando a presença de OTA e outras toxinas em farinhas de trigo afirmam que, existem condições, como o calor e umidade, que promovem o crescimento de fungos nas farinhas durante as etapas de produção associadas ao armazenamento e/ou processamento a que foram submetidas, também destaca a necessidade de melhor fiscalização dos ambientes em que os alimentos são processados, bem como a secagem eficaz de grãos, cereais e produtos alimentícios que provou ser o método mais viável e eficaz para minimizar a produção das micotoxinas.

2.3.3 Legislação brasileira para micotoxinas

A presença de micotoxinas nos alimentos acarreta uma grande preocupação, por isso, a quantidade das doses máximas de micotoxinas permitidas são difíceis de determinar, contudo, a legislação serve para preservar a saúde dos consumidores e os produtos de alimentos que possuem grandes interesses econômicos. Devido aos riscos para saúde, organizações nacionais e internacionais estabelecem limites máximos de micotoxinas em alimentos a fim de garantir a segurança (SERRA, 2005; OUESLATI et al., 2012; ASAE, 2015).

A necessidade de uma legislação que imponha limites quanto à concentração de micotoxinas nos alimentos é necessária em todos os lugares, principalmente nos países industrializados. Os governos nacionais e as organizações internacionais possuem papel fundamental em garantir que os direitos dos cidadãos sejam mantidos e defendidos (SERRA, 2005). Esses regulamentos mudam conforme o contaminante e o país, no entanto, independentemente da matéria-prima, os exportadores agrícolas precisam garantir que seus produtos cumpram os padrões de segurança alimentar estabelecidos por cada país, que sempre estão em processo de mudança de tempos em tempos (BELLUCO et al., 2017). A qualidade microbiológica de um alimento é determinada pela forma com que ele é manipulado. Porém, devido ao índice de contaminação, mesmo que baixo e dentro dos parâmetros permitidos, sugere-se que trabalhos de capacitação profissional de quem atua com o processo de produção, armazenamento, transporte e comercialização da farinha, possam ser viáveis para melhorar as práticas de higiene (JESUS et al., 2018).

No Brasil, os níveis de micotoxinas nos alimentos devem estar os mais baixos possíveis como determina a resolução nº 07/2011 da ANVISA, onde o manejo e tecnologias avançadas devem ser utilizados na produção, manipulação, armazenamento, processamento e embalagem do alimento, evitando então, a contaminação do produto comercializado ou consumido. A resolução estabelece ainda os limites máximos toleráveis para aflatoxinas (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2), fumonisinas, ocratoxina A, deoxivalenol e zearalenona em diferentes alimentos (Tabela 3). Uma vez que produtores, unidades armazenadoras e indústrias deverão atender os limites previstos na legislação, implantando medidas de controle mais rigorosas a fim de reduzir ainda mais os teores de fungos e micotoxinas, sem causar escassez de alimentos disponíveis no mercado (BRASIL, 2011).

Tabela 3 - Limites máximos toleráveis para concentração de micotoxinas em alimentos no Brasil.

Micotoxinas	Alimentos	LMT ($\mu\text{g}/\text{kg}$) em 2017
AFLA B1, B2, G1, G2	Amendoim, milho, trigo, arroz, nozes, leite, ovos, queijos, arroz, farinhas de milho.	20
OTA	Cereais, amendoim, feijão, café, uva, passas, frutos secos, arroz e vinhos.	20
Zearalenona	Milho em grãos e trigo para posterior processamento. Farinha de trigo, massas, crackers e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais, exceto trigo.	100
	Trigo integral, farinha de trigo integral, farelo de trigo.	200
Desoxivalenol	Trigo integral, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada.	1000
Fumonisinas (B1+B2)	Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha.	1500

Fonte: Brasil (2011); Bryden (2012).

A primeira legislação brasileira para as aflatoxinas foi publicada em 1976, estabelecendo um limite tolerável de 30 mg/kg para AFB1 para todos os alimentos e rações (BRASIL, 1978). Em 2011 foi criada a resolução RDC Nº 7/2011, estabelecendo limites máximos para a presença de micotoxinas em alimentos. Nesta resolução os limites toleráveis para AFLs totais e OTA são para alimentos como cereais e seus derivados e outros produtos

destinados ao consumo humano, com limites máximos toleráveis (LMT) de 20 µg/kg. Contudo, esta resolução não dispõe de LMT para AFLA e OTA em produtos farináceos, apenas para outras micotoxinas como a Zearealona (100 µg/kg) e Desoxinivalenol (1000 µg/kg) em farinhas de trigo e produtos de panificação (BRASIL, 2011). Por isso, se faz necessária uma maior abrangência na regulação para produtos farináceos a base de outros alimentos, como a farinha de banana, farinha de berinjela, farinha de coco e farinha de arroz.

Devido à grande variedade de alimentos contaminados por fungos, são necessários ajustes consideráveis da legislação brasileira, por isso, a regulamentação para micotoxinas em alimentos continua sofrendo alterações, fazendo assim, com que novos limites sejam considerados em análises de melhor qualidade com precisão de dados mais fidedignos. Para que no futuro, não acarrete em problemas de saúde pública e não haja impactos no sistema de produção (ANDRADE JÚNIOR et al., 2018).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Aquisição das amostras

Farinhas de berinjela de quatro marcas distintas (Figura 6) (duas comercializadas à granel e duas embaladas à vácuo), foram obtidas a partir de lojas especializadas na região metropolitana do Recife nos meses de setembro, outubro e novembro de 2017. As embalagens à vácuo pertenciam a três lotes distintos. As amostras à granel foram coletadas e acondicionadas em sacos plásticos do próprio comerciante, enquanto que as embaladas à vácuo foram obtidas de embalagens de 100g, devidamente acondicionadas pelo fabricante. Ao todo, foram analisadas 12 amostras. As amostras foram analisadas em até 24h após terem sido adquiridas.

Figura 6 - Farinhas de berinjela. F1= Farinha 1, embalada à vácuo; F2= Farinha 2, a granel; F3= Farinha 3, embalada à vácuo; F4=Farinha 4, a granel.



Fonte: A autora (2019).

3.2 Isolamento dos fungos

A análise dos fungos contaminantes das farinhas foi realizada através da contagem das Unidades Formadoras de Colônias por grama de alimento (UFC/g) observadas pelo plaqueamento em superfície, utilizando-se a diluição de 25g de cada amostra em 225mL de água peptonada 0,1% (1:10). A seguir, foram feitas diluições de 1:100 e 1:1000, realizando-se 3 repetições. De cada uma das diluições foram retiradas e transferidas alíquotas de 1mL para os meios de cultura Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC), Ágar Dicloran Glicerol 18% (DG18) e Ágar Malte Sal (®), em triplicata (KING et al., 1979; NEVES, 2013). As placas foram mantidas em estufa incubadora por 10 dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$, sendo posteriormente

contadas as colônias existentes. Ao todo, foram analisadas 108 placas de Petri. Os diferentes morfotipos coloniais foram isolados em tubos de ensaio com meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) e Extrato de Malte (MEA) (KERN & BLEVIS, 1999).

3.3 Identificação morfológica

Para a identificação dos fungos por análise morfológica foi utilizada metodologia específica e literatura descrita por Pitt (1991), Klich (2002), Samson & Frisvad (2004) e Samson & Houbraken (2011). Foram observadas características macroscópicas (coloração, aspecto e diâmetro das colônias) e microscópicas (microestruturas somáticas e reprodutivas) (PITT, 1991; SAMSON & FRISVAD, 2004).

3.4 Identificação por biologia molecular

Os isolados utilizados nos testes micotoxigênicos foram selecionados para identificação molecular. Todas as espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Paecilomyces* foram caracterizadas e confirmadas por meio de ferramentas moleculares. Os fungos representativos de outros gêneros foram identificados até nível do gênero por não apresentarem caráter produtivo das micotoxinas estudadas.

3.4.1 Extração de DNA, PCR e sequenciamento

A extração de DNA genômico foi realizada utilizando o Wizard Genomic DNA Purification Kit – Promega seguindo as recomendações do fabricante. A região gênica β -tubulin (BenA) foi amplificada para todos os isolados utilizando os primers Bt2a e Bt2b (GLASS & DONALDSON, 1995) e as condições de PCR descritas por Visagie et al. (2014). Os produtos de PCR foram purificados com as enzimas Exonuclease I e Fosfatase Alcalina contidas no kit Illustra ExoProStar 1-Step (GE Healthcare), conforme as orientações do fabricante, e posteriormente enviados para sequenciamento com os mesmos primers usando o kit BigDye® Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) na Plataforma Multiusuária de Sequenciamento e Expressão Gênica do Centro de Ciências Biológicas da UFPE.

3.4.2 Análises filogenéticas

As sequências de nucleotídeos, de ambos os sentidos, foram editadas e montadas, usando o programa SeqMan v.10.0.1. e analisadas no programa BLASTn na plataforma do banco de dados NCBI. O banco de sequências de cada gênero foi gerado utilizando sequências de material tipo previamente publicadas no NCBI. As sequências obtidas neste estudo foram alinhadas utilizando o programa MAFFT (KATO et al., 2005) e os alinhamentos foram manualmente otimizados com o programa MEGA 7 (TAMURA et al., 2011). Os modelos de substituição nucleotídica foram determinados usando o jModelTest v. 2.1.7 (POSADA, 2008). As análises filogenéticas de máxima verossimilhança (ML) foram realizadas usando o programa RaxML-VI-HPC v. 7.0.3 (STAMATAKIS, 2006) e a análise de Bayesian (BI) no programa MrBayes v.3.2.1 (RONQUIST et al., 2012). As árvores filogenéticas foram visualizadas usando o programa FigTree v. 1.1.2 (RAMBAUT, 2009) e foram editadas no Adobe Illustrator v.CS5.1. Para análises combinadas, os alinhamentos individuais foram concatenados usando o programa Mesquite v3.04 (MADDISON & AMP; MADDISON, 2016).

3.5 Detecção da produção de micotoxinas pelas espécies de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Paecilomyces*

Para a produção das micotoxinas, os isolados foram inoculados em meios específicos, para OTA o meio de indução foi o Extrato de Levedura Sacarose (YES) e para AFLA B1 e B2 Extrato de Malte (MEA). As placas foram incubadas a 25 °C durante 10 dias. Logo após essa etapa, cinco fragmentos de 5mm foram retirados e transferidos para frascos de vidro ambarino de 4 ml de capacidade, aos quais foram acrescentados 2 ml de acetonitrila. O material foi então sonificado, e os extratos foram filtrados através de filtros de seringa PFTE de 0,45 µm, mantidos a 4 °C e, em seguida, analisados por UPLC-MS (cromatografia líquida de ultra performance acoplada à espectrometria de massas) (BRAGULAT et al., 2008).

As amostras foram analisadas no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) utilizando o sistema de cromatografia líquida de ultra performance Acquity H-Class (Waters). Foi empregada uma coluna HSS T3 2,1 x 100 mm e tamanho de partícula de 1,8µm. As fases móveis utilizadas consistiram de solução aquosa contendo 2% de acetonitrila, 5 mM de formiato de amônio e 0,1% de ácido fórmico (eluente A) e solução de ACN contendo 0,1% de ácido fórmico (eluente B), que foram bombeadas a uma vazão de 0,4 ml/min. A eluição foi realizada em modo gradiente e a condição inicial (90% A/ 10% B) foi mantida por 3 minutos.

A proporção de B foi aumentando linearmente para 70% até 10 minutos, seguida do aumento imediato para 90% de B, se mantendo em 90% de B por dois minutos, seguida da imediata diminuição para 10% de B, onde foi mantida até 15 minutos. Dez microlitros de amostra foram injetados. A temperatura da coluna foi mantida a 40 °C e o auto injetor a 10 °C. O sistema UPLC foi acoplado a um espectrômetro de massa single quadrupolo SQ Detector 2 (Waters). A voltagem do capilar foi de 3,5 Kv, a voltagem do cone 30 V, a temperatura de dessolvatação foi de 150 °C, com fluxo de gás da fonte de 800 L/h e fluxo do cone de 150 L/h. A aquisição dos dados foi feita em modo fullscan, buscando massas entre 100 e 1000 Da, em ionização positiva. A aquisição dos cromatogramas e espectros de massas foi feita através do software MassLynx™ (Waters). Os padrões das micotoxinas AFLA B1, B2 e OTA foram obtidos da Sigma-Aldrich.

3.6 Detecção de AFLA B1, B2 e OTA em farinhas de berinjela

Para extração das Aflatoxina B1 e B2 das farinhas de berinjela, utilizaram-se 25 g de cada amostra, que foi acrescida em 100 ml de acetonitrila:água (84:16, v / v), e mantida em homogeneização em agitador orbital por 60 minutos. Após a homogeneização, a mistura foi filtrada em papel tipo Whatman nº 4. Purificou-se o filtrado com o uso de colunas Mycosep 226 (Romer Labs®), seguindo as instruções do fabricante. No momento da utilização, os extratos foram redissolvidos em 200 µL da fase móvel. A detecção e quantificação de aflatoxinas de cada amostra foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com Truckess et al. (1994). Uma alíquota (200 µl) foi derivatizada com 700µL de ácido trifluoroacético-ácido acético-água (20:10:70, v/v). Separações cromatográficas foram realizadas em fase reversa com uso de coluna C18 (Supelcosil™, 150 x 4,6 mm id, tamanho de partículas de 5 µm, Supelco). A fase móvel empregada foi acetonitrila:metanol:água (1:1:4 v / v), o volume injetado foi de 20 µl e o fluxo foi de 1,0 mL por minuto. A detecção das aflatoxinas foi por detector de fluorescência utilizando um comprimento de onda de 360 nm de excitação e 440 nm de emissão. O limite de detecção do método foi de 1 ng/g.

Para extração de ocratoxina A das farinhas de berinjela, utilizaram-se 25 g de cada amostra, que foi acrescida em 100 ml de acetonitrila:água (84:16, v / v), e mantida em homogeneização em agitador orbital por 60 minutos. Após a homogeneização, a mistura foi filtrada em papel tipo Whatman nº 4. Purificou-se o filtrado com o uso de colunas Mycosep 229 (Romer Labs®), seguindo as instruções do fabricante. No momento da utilização, os extratos foram redissolvidos em 200 µl da fase móvel. A detecção e quantificação de ocratoxina A de

cada amostra foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com Scudamore e MacDonald (1998). Separações cromatográficas foram realizadas em fase reversa com uso de coluna C18 (Supelcosil™, 150 x 4,6 mm id, tamanho de partículas de 5 µm, Supelco). A fase móvel empregada foi acetonitrila:água:ácido acético (57:41:2 v / v / v), o volume injetado foi de 20 µl e o fluxo foi de 1,0 ml por minuto. A detecção de OTA foi por detector de fluorescência utilizando um comprimento de onda de 330 nm de excitação e 460 nm de emissão. O limite de detecção do método foi de 1 ng/g.

Os valores da área de pico foram plotados em relação à concentração e as curvas de calibração para cada micotoxina (AFB1, AFB2 e OTA) foram construídas usando método dos mínimos quadrados para regressão linear. O coeficiente de correlação R e o coeficiente de determinação (R^2) também foram calculados. O limite de detecção (LOD), a menor concentração que produz uma resposta diferenciável do ruído, foi determinada usando a relação sinal-ruído de 3:1 e o limite de quantificação (LOQ) foi calculado como a concentração mínima calculada usando a relação sinal-ruído de 10:1.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Unidades Formadoras de Colônias de fungos por grama de farinhas de berinjela (UFC/g)

Todas as amostras de farinha de berinjela avaliadas apresentaram contaminação por fungos filamentosos (Tabela 4). Dentre as farinhas analisadas, a farinha 1, embalada à vácuo, apresentou o maior número de UFC ($3,5 \times 10^3$), sendo a farinha 4, vendida à granel, aquela com menor número de UFC (2×10^1). Lemos et al. (2001) isolando fungos em farinha de milho e mandioca, encontrou os diferentes valores de $2,91 \times 10^2$ UFC/g e $2,36 \times 10^2$ UFC/g, para as farinhas embaladas e as a granel sucessivamente, e justifica que esses resultados podem ser explicados pela má manipulação do produto em suas etapas de produção. Atualmente a legislação Brasileira não determina o limite máximo de fungos e leveduras para farinhas de berinjela.

Borges et al. (2009), estudando a presença de microrganismos em farinha de banana, encontraram o valor de <10 UFC/g para fungos filamentosos e leveduras, e reiteram que, durante o processamento das bananas para obtenção da farinha foram utilizadas boas práticas de fabricação. Segundo Ferreira et al. (2004) a contaminação dos alimentos por bactérias e fungos patogênicos, pode ocorrer durante todas as etapas da produção, desde a coleta até a obtenção do produto final. Deste modo, de acordo com Doria (2017), a análise microbiológica de alimentos como as farinhas pode fornecer informações importantes sobre sua qualidade, suas condições de processamento, armazenamento e distribuição.

Tabela 4 – Número de Unidades Formadoras de Colônias de fungos filamentosos por grama (UFC/g) de farinhas de berinjela.

Farinhas de berinjela	Amostras das farinhas de berinjela		
	1	2	3
Farinha 1 (embalada a vácuo)	$3,5 \times 10^3$	3×10^3	$2,6 \times 10^2$
Farinha 2 (embalada a granel)	8×10^1	6×10^1	6×10^1
Farinha 3 (embalada a vácuo)	$2,1 \times 10^2$	7×10^1	$2,3 \times 10^2$
Farinha 4 (embalada a granel)	$2,5 \times 10^2$	1×10^2	2×10^1

Fonte: A autora (2019).

Nossos resultados de UFC/g nas diferentes amostras de farinha de berinjela se mostraram constantes. Em seu estudo, Almeida et al. (2005), ao avaliarem a vida útil de

prateleira da farinha de mandioca, constataram que após 180 dias de armazenamento, a farinha apresentou um baixo nível de colônias de bolores e leveduras. Neto et al. (2004), obtiveram 3×10^3 UFC/g em amostras de farinha de mandioca armazenadas por 30 dias, corroborando nossos resultados e afirmando que, há uma relativa estabilidade ou, em sua grande maioria, uma redução nas contagens, o que pode ser explicado pela baixa umidade das amostras, resultando em condições impróprias para o desenvolvimento de algumas espécies de fungos filamentosos.

O menor valor de UFC/g foi obtido das amostras da farinha 4 (2×10^1), resultado semelhante foi encontrado por Almeida et al. (2005), ao analisarem 26 amostras de farinhas de mandioca coletadas de unidades tradicionais em Alcântara/Maranhão e obtiveram os valores em torno de 0 a 87 UFC/g. Estes afirmam que a farinha torrada se apresenta como um substrato de baixo potencial para o desenvolvimento desses microrganismos.

Ao analisarem a qualidade microbiológica de amostras de farinha de banana da cultivar prata, Monteiro et al. (2011), obtiveram em suas amostras a contagem de $< 1 \times 10^2$ UFC/g para fungos filamentosos e bactérias leveduriformes, pôde-se observar que obtivemos resultados parecidos na amostra 2 da farinha de berinjela 4. Os autores afirmam que há uma eficácia na produção da farinha, quanto à qualidade higiênico sanitária, concluindo que a mesma se configura uma excelente alternativa para comercialização e/ou utilização no preparo de inúmeros alimentos, sem comprometer a qualidade de seus produtos junto à saúde do consumidor.

Posseti e Dutra (2011), avaliando a qualidade microbiológica da farinha de berinjela, encontraram uma baixa contagem de fungos filamentosos e leveduras de 5×10^2 UFC/g, valor esse considerado dentro do padrão, e afirmam que a baixa presença fúngica na farinha são de grande importância para consumo da mesma, no presente estudo, o valor máximo de UFC/g encontrado foi de $3,5 \times 10^3$ UFC/g nas amostras de um dos lotes da farinha 1 (Tabela 4). Com base nos resultados, podemos afirmar que os valores de UFC/g de farinha de berinjela encontrados estão de acordo com a legislação vigente, onde o limite permitido para fungos filamentosos e leveduras em farinhas é de 10^4 UFC/g (BRASIL, 1998).

4.2 Fungos filamentosos isolados de farinhas de berinjela

Das 12 amostras de farinha analisadas, foram isolados e identificados 96 fungos de sete diferentes gêneros, e 27 espécies, sendo *Aspergillus* (19 espécies), *Cladosporium* (1 espécie), *Mucor* (1 espécie), *Paecilomyces* (2 espécies), *Penicillium* (2 espécies), *Rhizopus* (1 espécie) e

Syncephalastrum (1 espécie) (Tabela 5). O gênero *Aspergillus* foi o mais encontrado em todas as amostras analisadas, tanto em termo de UFC quanto em número de espécies. Segundo Silva et al. (2009), é comum encontrar em alimentos como farinhas o desenvolvimento de espécies fúngicas pertencentes em sua maioria aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, que conhecidos por serem fungos de armazenamento.

Tabela 5 - Número de isolados das espécies de fungos filamentosos provenientes de farinhas de berinjela comercializadas em Recife, Pernambuco.

Fungos filamentosos	Nº de isolados nas farinhas				Nº total por espécie
	F1	F2	F3	F4	
<i>Aspergillus aureoterreus</i>	-	-	1	-	1
<i>A. chevalieri</i>	3	3	1	4	11
<i>A. flavus</i>	2	-	1	-	3
<i>A. fumigatus</i>	1	-	-	-	1
<i>A. hongkongensis</i>	-	-	-	1	1
<i>A. luchuensis</i>	2	3	-	-	5
<i>A. montevicensis</i>	-	3	-	-	3
<i>A. niger</i>	3	2	-	-	5
<i>A. novoparasiticus</i>	3	-	3	-	6
<i>A. ochraceus</i>	1	-	-	-	1
<i>A. pseudoglaucus</i>	3	4	-	1	8
<i>A. ruber</i>	-	-	-	2	2
<i>A. steynii</i>	1	-	-	-	1
<i>A. subalbidus</i>	1	-	-	-	1
<i>A. sydowii</i>	-	-	-	1	1
<i>A. tamarii</i>	3	-	2	-	5
<i>A. tubingensis</i>	2	1	2	-	5
<i>A. versicolor</i>	1	-	-	1	2
<i>A. welwitschiae</i>	-	-	1	-	1
<i>Cladoporium sp.</i>	2	1	-	-	3
<i>Mucor circinelloides f.</i>	-	-	-	2	2
<i>Paecilomyces variotti</i>	3	2	-	-	5
<i>P. formosus</i>	1	-	-	-	1
<i>Penicillium citrinum</i>	-	-	3	2	5

Tabela 5 - Número de isolados das espécies de fungos filamentosos provenientes de farinhas de berinjela comercializadas em Recife, Pernambuco.

Fungos filamentosos	Nº de isolados nas farinhas				(Conclusão)
	F1	F2	F3	F4	Nº total por espécie
<i>P. chermesinum</i>	-	1	-	-	1
<i>Rhizopus sp.</i>	-	3	7	4	14
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	-	-	-	2	2
Total de isolados	32	23	21	20	96
Total de espécies	16	10	9	10	27

Fonte: A autora (2019). F1, F2, F3 e F4: Farinhas 1,2,3,4; (*): Presença da espécie; (-): Ausência da espécie.

Espécies do gênero *Aspergillus* geralmente são conhecidas pelos prefixos osmo, xero ou halotolerantes. São cosmopolitas e são isolados dos mais diversos lugares, no ar, poeira doméstica, cereais, produtos alimentícios com altas concentrações de açúcar, como xaropes, geléias, produtos salgados de carne, alimentos secos, rações, artigos de couro e etc. (BLASER 1980, CHELKOWSKI et al., 1987, RAPER & FENNELL 1965, PITT & HOCKING 2009, SAMSON et al., 2010, GRECO et al., 2015).

As espécies de *Aspergillus chevalieri*, *A. montevidensis*, *A. proliferans*, *A. pseudoglaucus* e *A. ruber* isoladas no presente estudo, têm sido relatadas em alimentos muito frequentemente (PITT & HOCKING 2009, SAMSON et al., 2010, GRECO et al., 2015). Essas espécies podem crescer em substratos com baixíssima presença de umidade, como a farinha de berinjela analisada nesse estudo (NAGEL & SEMENIUK et al., 1947, RAPER & FENNELL 1965).

Dharmaputra et al. (2016), verificando a presença de fungos em noz moscada encontraram com maior frequência as espécies de *A. pseudoglaucus* seguindo de *A. chevaliere*. Neste estudo, *Aspergillus chevaliere* foi encontrado em todas as quatro farinhas de berinjela analisadas, e *A. pseudoglaucus* em duas das quatro farinhas.

Cabañas et al. (2008), isolaram da farinha de trigo várias espécies fúngicas, dentre elas uma das principais foi *Aspergillus versicolor*. Essa espécie também foi encontrada e descrita por Wareing et al. (2001) em produto seco da mandioca, em outro estudo, Clerk e Caurie (1968) encontraram essa mesma espécie também em farinha de mandioca. Este fungo já foi relatado como produtor da micotoxina esterigmatocistina (WAREING et al., 2001). Nesta pesquisa, essa espécie foi encontrada tanto na farinha de berinjela 1 quanto na farinha 4.

Apenas duas espécies de *Penicillium* foram encontradas neste estudo, são elas *P. citrinum* e *P. chermesinum*. Contudo, Mundim et al. (2014), ao analisarem a farinha de mandioca da região Amazônica, encontraram a presença um pouco mais expressiva do gênero. Espécies pertencentes a esse gênero são comumente encontradas em etapas de armazenamento e estão associadas a perda da qualidade dos alimentos, além de serem potenciais produtoras de OTA (GONÇALVES et al., 2017).

Gashgari et al. (2010), avaliando amostras de farinha de trigo de supermercados na região da Arábia Saudita, encontraram uma diversidade fúngica similar à que foi observada na farinha de berinjela, na qual o gênero *Aspergillus* foi o mais recorrente. Os autores prospectaram 11 diferentes espécies pertencentes ao gênero *Aspergillus*, enquanto no presente estudo, foram isoladas 19.

Tsang et al. (2016) isolando fungos de unhas humanas, causando onicomioses descreveram a espécie *Aspergillus hongkongensis*, como nova para a ciência. No presente estudo, *Aspergillus hongkongensis* foi isolado da farinha de berinjela, sendo este o primeiro relato de ocorrência para a América Latina e, possivelmente, o segundo relato no mundo. Outro isolado que foi descrito pela primeira vez por Visagie (2014), em amostras de poeira, *A. subalbicus*, foi também por nós isolado nas amostras de farinha de berinjela sendo o primeiro relato dessa espécie para o Brasil.

De acordo com Santos et al. (2016), as farinhas a venda em panificadoras ficam armazenadas à temperatura ambiente em prateleiras, expostas a insetos como moscas e formigas aos produtos. E afirma que, mesmo com todos os cuidados, é preciso ter sempre uma prevenção maior com higienização do ambiente e manipulação dos produtos. Desta forma, se faz necessário o conhecimento prévio das espécies que podem deteriorar os grupos de alimentos, as fontes de contaminação e conhecer os métodos de dispersão dos propágulos fúngicos para definir as melhores formas de controle e prevenção (BERNARDI, et al., 2019).

4.3 Detecção da produção de micotoxinas pelos isolados fúngicos

Dos isolados obtidos, apenas as espécies de *Aspergillus*, *Paecilomyces* e *Penicillium* foram analisadas quanto à produção das micotoxinas propostas. Dos 96 isolados, 75 foram testados, dos quais apenas quatro foram produtoras (Tabela 6).

Tabela 6 - Produção das micotoxinas AFLA B1, B2 e OTA por fungos isolados da farinha de berinjela.

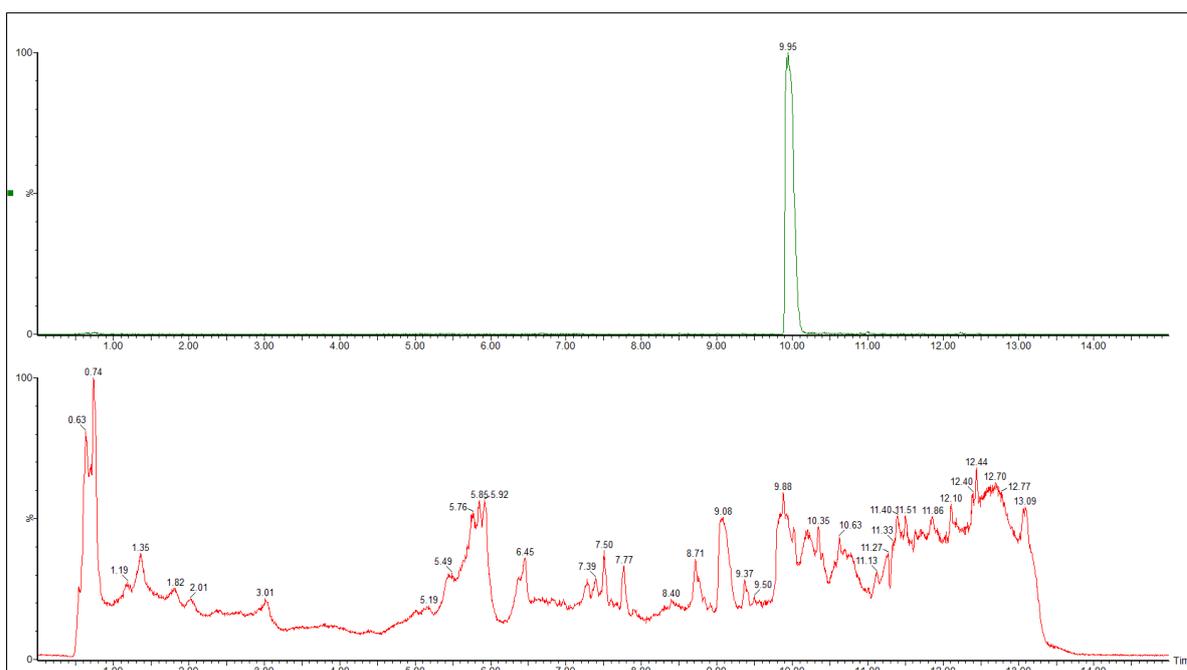
Espécies	Nº de isolados	AFLA B1	AFLA B2	OTA
<i>Aspergillus aureoterreus</i>	1	-	-	+
<i>A. chevalieri</i>	11	-	-	-
<i>A. flavus</i>	3	-	-	-
<i>A. fumigatus</i>	1	-	-	-
<i>A. hongkongensis</i>	1	-	-	-
<i>A. luchuensis</i>	5	-	-	-
<i>A. montevicensis</i>	3	-	-	-
<i>A. niger</i>	5	-	-	-
<i>A. novoparasiticus</i>	6	+	-	-
<i>A. ochraceus</i>	1	-	-	-
<i>A. pseudoglaucus</i>	8	-	-	-
<i>A. ruber</i>	2	-	-	-
<i>A. steynii</i>	1	-	-	+
<i>A. subalbidus</i>	1	-	-	-
<i>A. sydowii</i>	1	-	-	-
<i>A. tamaritii</i>	5	-	-	-
<i>A. tubingensis</i>	5	-	-	+
<i>A. versicolor</i>	2	-	-	-
<i>A. welwitschiae</i>	1	-	-	-
<i>Paecilomyces formosus</i>	1	-	-	-
<i>P. variotti</i>	5	-	-	-
<i>Penicillium citrinum</i>	5	-	-	-
<i>P. chermesinum</i>	1	-	-	-

Fonte: A autora (2019). (+): Micotoxina produzida; (-): Micotoxina não produzida.

De acordo com Frisvad (2004), *A. steynii* está inserida na seção *Circumdati* e é produtora de ocratoxina A. O presente estudo corrobora a afirmação de Frisvad (2004), no qual foi observada a presença da produção de OTA por *A. steynii* (Figura 7). Apesar do baixo número de relatos em alimentos, essa espécie já foi encontrada em grãos de café verde, soja e em arroz produzindo OTA (VARGA et al., 2003; FRISVAD et al., 2004; VARGA et al., 2011; GIL-SERNA et al., 2011).

Aspergillus seção *flavi* é muito relatada na literatura como portadora de grandes espécies produtoras de aflatoxinas, como por exemplo, *Aspergillus novoparasiticus*, essa estirpe é conhecida pela produção de aflatoxina B1 (GONÇALVES et al., 2012; FRISVAD et al., 2019). Esta espécie foi isolada a partir de duas das quatro farinhas analisadas neste estudo e foi positiva para a produção de AFB1.

Figura 7 - Cromatograma da produção de Ocratoxina A por *Aspergillus steynii*.



Fonte: A autora (2019).

As espécies xerofílicas *A. chevalieri*, *A. pseudoglaucus*, *A. ruber*, *A. montevidensis* e *A. pseudoglaucus* são reconhecidas por não serem ocratoxigênicas e nem aflatoxigênicas (BLASER et al., 1980, BACHMANN et al., 1979; VARGA et al., 2009). O presente estudo corrobora os dados da literatura, uma vez que os isolados de farinha de berinjela correspondentes a essas espécies não produziram OTA nem AFLA B1.

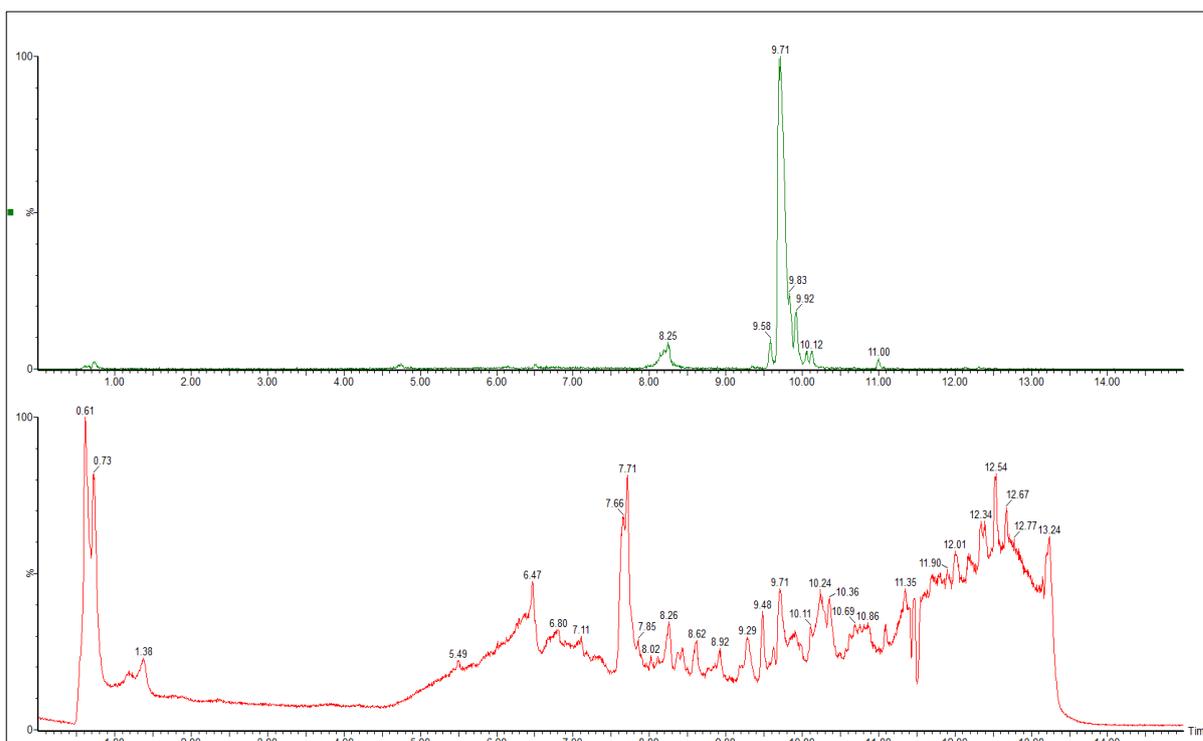
Cabañas et al. (2008), isolaram em farinha de trigo algumas espécies potencialmente produtoras de OTA, dentre elas, *A. niger* e *A. ochraceus*, para as quais foram avaliadas o perfil toxigênico, mas nenhuma demonstrou positividade. No presente estudo, os isolados correspondentes a essas espécies também não produziram OTA. Contudo, a literatura possui inúmeros estudos onde essas espécies foram encontradas em alimentos produzindo essa micotoxina (MAGNOLI, et al., 2006; AYDIN et al., 2008; GASHGARI et al., 2010). Tal fato indica que a produção de certa micotoxina por determinada espécie deve ser desencadeada por condições ambientais específicas.

Segundo Frisvad et al. (2011), *Aspergillus luchuensis* e *A. tubingensis* não produzem Ocratoxina A nem fumonisinas. A espécie *A. tubingensis*, é encontrada em diversos estudos contaminando inúmeros alimentos, porém, nunca relatada como produtora de OTA (IAMANAKA, 2010). De acordo com a literatura, o potencial dessa espécie em produzir OTA é incerto, contudo, em nosso estudo, *A. tubingensis* foi produtora de ocratoxina A.

Inúmeros estudos apresentam a seção *Terreus* como possuidora de bons produtores de micotoxinas, em relação a produção da micotoxina OTA, uma das espécies mais conhecidas é a *A. terreus* (VALMORBIDA, 2016). A espécie de *A. aureoterreus* nunca relatada na literatura como produtora micotoxinas, em nosso estudo foi positiva para a OTA (Figura 8).

Em condições laboratoriais controladas visto que as condições ótimas de umidade e temperatura para a produção de micotoxinas são mais restritivas do que aquelas para o crescimento de fungos, nem todas as estirpes de uma dada espécie irão produzir micotoxinas, e se tratando de culturas puras a produção de micotoxinas é bastante consistente, desde que usadas as condições ótimas para o crescimento da espécie em estudo. No entanto, a composição do meio de cultura afeta grandemente a produção de micotoxinas pelas estirpes (MAGNOLI et al., 2007).

Figura 8 - Cromatograma da produção de Ocratoxina A por *A. aureoterreus*.



Fonte: A autora (2019).

As diferenças encontradas na literatura sobre as condições ótimas de produção de aflatoxinas são provavelmente devido às diferenças nos meios utilizados e na linhagem fúngica estudada. É importante ressaltar que alguns fatores afetam o crescimento fúngico e a biossíntese de micotoxinas, como os fatores ambientais, os diferentes substratos e à variação genética natural dentro das cepas toxigênicas, além desses fatores, temos também os fatores nutricionais, como fontes de carbono e nitrogênio, que são bastante conhecidas por influenciar a produção de micotoxinas (BUCHANAN & LEWIS, 1984; MÜHLENCOERT et al., 2004; CALVO et al., 2002; KLICH, 2007).

Segundo Lasram et al. (2016) a célula fúngica de *Aspergillus* recebe muitos sinais estimulantes do ambiente em seu desenvolvimento e na produção de metabólitos secundários, por isso, é de extrema importância que a capacidade de produzir esses compostos in vitro seja conhecida, para que assim, tenhamos uma melhor compreensão das micotoxinas fúngicas e quando serão biossintetizadas em diferentes condições e substratos, como também, obter um maior conhecimento sobre as propriedades genéticas das espécies de fungos.

4.4 Detecção de AFLA B1, B2 e OTA em farinhas de berinjela

Todas as 12 amostras de farinha foram negativas para OTA, a amostra da farinha 1 (1º lote) foi positiva para AFB1 e AFB2 e as amostras da farinha 2 (1º e 2º lotes) foram positivas para AFB1 (Tabela 7). Todas as demais foram negativas para as aflatoxinas testadas. Nessas análises de aflatoxinas não foi possível realizar a quantificação pois os resultados foram maiores que o limite de detecção (LOD), porém menores que o limite de quantificação (LOQ). Então só é possível afirmar com precisão que as amostras tinham a presença destes analitos, mas não é possível afirmar quanto.

Aydin et al. (2008) avaliando a presença de AFLA em amostras de farinha de trigo da Turquia, 45% das amostras de farinha de trigo continha AFLA total. Ao mesmo tempo, 15 das 95 amostras de farinha de trigo também estavam contaminadas com OTA. Abdullah et al. (1998) analisaram 83 amostras de farinha de trigo na Malásia e relataram que 21,7% das amostras estavam contaminadas com AFLAs, 1,2% das amostras de farinha de trigo foram positivas para AFB1 e 4,8% foram positivos para AFB2. Em nosso estudo, 33,3% do total de nossas amostras de farinha de berinjela continham AFLA B1 e B2, onde 25 % foi detectada a presença de AFLA B1 e 8,3% a de AFLA B2.

Tabela 7 - Micotoxinas AFLA B1, B2 e OTA identificadas em amostras de farinha de berinjela por CLAE.

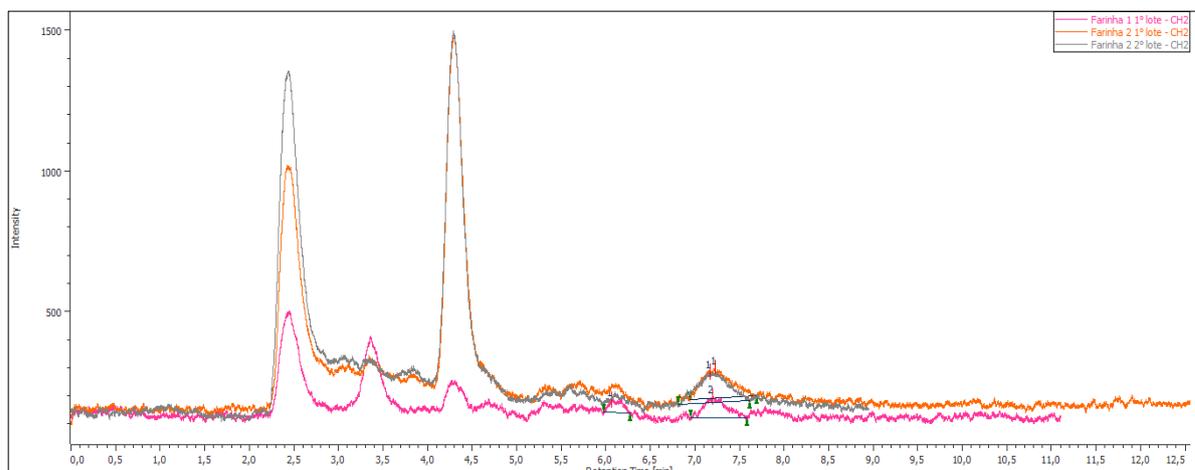
Amostras	Aflatoxina B1	Aflatoxina B2	Ocratoxina A
F1A1	X	X	ND
F1A2	ND	ND	ND
F1A3	ND	ND	ND
F2A1	X	ND	ND
F2A2	X	ND	ND
F2A3	ND	ND	ND
F3A1	ND	ND	ND
F3A2	ND	ND	ND
F3A3	ND	ND	ND
F4A1	ND	ND	ND
F4A2	ND	ND	ND
F4A3	ND	ND	ND

Fonte: A autora (2019). X: Presença da micotoxina; ND: Não detectada.

Ediage et al. (2011) investigaram micotoxinas em amostras de farinha de mandioca pelo método LC-MS/MS e verificaram a presença de AFLB1 e AFLB2, zearalenona, diacetoxiscirpenol e beauvericina. Nossos resultados são semelhantes aos citados apenas pela presença de AFLs B1 e B2, presentes em uma amostra da farinha 1, respectivamente (Figura 9). Este é um achado importante, uma vez que a AFLB1 é considerada a mais potente hepatocarcinogênica natural (IARC, 1993). Santos e Silva (2010) relatam que, entre as micotoxinas, a AFLB1 é a mais comum em alimentos.

Kupski et al. (2014) avaliando a presença de OTA em amostras de farinha de trigo, encontraram baixos teores dessa micotoxina. Porém, Kumar et al. (2012) estudando a ocorrência de OTA em farinhas de trigo na Índia verificaram que 58% das amostras apresentavam contaminação pela micotoxina, das quais 26% ultrapassaram o nível máximo permitido pela legislação Europeia de 5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. No presente estudo, não foi detectada a presença de OTA nas amostras de farinha de berinjela analisadas, mesmo tendo como positiva a produção dessa micotoxina pelas espécies encontradas. Segundo Fernandes et al. (2016), o tipo de tratamento utilizado nos diferentes produtos alimentícios pode interferir nos níveis de ocratoxina A.

Figura 9 - Cromatograma da detecção da presença de AFB1 e AFB2 na amostra F1A1, e de AFB1 nas amostras F2A1 e F2A2.



Fonte: A autora (2019).

Em seu estudo, Kara et al. (2015), analisaram amostras de farinhas de milho, trigo e arroz, quanto a presença de OTA e AFLAs, onde todas as amostras estavam contaminadas com concentrações baixas de OTA, contudo, não detectaram a presença de aflatoxinas na farinha de trigo nem a farinha de arroz, e afirmam que a moagem a seco do milho e do trigo distribuíram as aflatoxinas em diferentes partes da farinha. Santos (2008), estudando a presença de aflatoxinas em amostras de farinha de milho flocada pré-cozida, afirmam que a ausência ou baixa presença de aflatoxinas na maioria das amostras analisadas pode ser justificadas ao fato do seu tratamento de pré-cozimento. Resultado esses semelhantes aos obtidos neste estudo onde poucas amostras foram positivas para a presença destas micotoxinas nas amostras de farinha de berinjela testadas.

Podemos observar em nosso estudo, que foi relatada a presença de AFLA B1 e B2 nas amostras das farinhas F1A1, F2A1 e F2A2, porém, apenas uma espécie foi detectada produzindo a AFLA B1, e a mesma não foi isolada das farinhas F2A1 ou F2A2. Segundo Borges et al. (2009), a presença destas espécies produtoras de micotoxinas não indicam necessariamente a presença de ocratoxina e aflatoxinas nos alimentos. Diversos fatores influenciam na produção das micotoxinas pelos fungos filamentosos, como composição química do alimento, atividade de água, fatores culturais e ambientais. Por isso, é de extrema importância o isolamento e a identificação das espécies produtoras destes metabólitos, bem como análise da presença desses compostos nos alimentos para estudos mais aprofundados e possível garantia da segurança dos produtos.

Ismail et al. (2018), apresentam resultados de estudos recentes que detectaram a presença de aflatoxinas em cereais e derivados do milho e amendoim, e afirma que, diversos

esforços são eficazes e consideráveis para a diminuição da contaminação de aflatoxinas em alimentos, especialmente em países desenvolvidos. Vários métodos para a descontaminação de produtos alimentares por aflatoxinas foram projetados e estão sendo investigados nos últimos anos. Segundo Halt (1994), produtos como pães, massas e bolos são consumidos todos os dias e possuem em sua base, farinhas, por isso se faz necessário avaliar as fontes de contaminação desse tipo de produto em relação a presença de fungos produtores de micotoxinas.

5 CONCLUSÕES

- Fungos filamentosos estão presentes em farinhas de berinjela;
- O número de Unidades Formadoras de Colônias pode variar entre lotes e tipos de embalagens de farinhas de berinjela;
- Farinhas de berinjela comercializadas em Recife-PE e relatadas neste estudo apresentam baixa contaminação fúngica, o que pode estar associado às boas práticas aplicadas durante a colheita da berinjela e/ou processamento da farinha;
- *Aspergillus* é o gênero mais frequente em farinhas de berinjela;
- *Aspergillus steynii*, *A. aureoterreus* e *A. tubingensis* procedentes de farinha de berinjela produzem Ocratoxina-A;
- *Aspergillus novoparasiticus* procedente de farinha de berinjela produz Aflatoxina B1;
- Há a presença de AFB1 e AFB2 em amostras de farinha de berinjela, porém em futuros estudos, é importante a quantificação dessas micotoxinas, para que haja melhor compreensão do risco associado ao consumo;
- Se faz necessário o estudo da presença de fungos micotoxigênicos em alimentos, principalmente aqueles que ainda não foram relatados em literatura, a fim de fornecer dados sobre a exposição, avaliação dos riscos para a saúde humana associado à ingestão de baixas doses desses compostos tóxicos por longos períodos de tempo;
- *Aspergillus hongkongensis* está sendo relatado como primeira ocorrência na América Latina;
- *Aspergillus subalbidus* está sendo relatado como primeira ocorrência no Brasil;
- *Aspergillus aureoterreus* e *A. tubingensis* estão sendo relatados como produtoras de OTA.

REFERÊNCIAS

- ABARCA, M. L.; BRAGULAT, M. R.; CASTELLA, G.; CABANES, F. J. Ochratoxin A production by *Aspergillus niger* var. *niger*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D.C, v. 60, p. 2650-2652, 1994.
- ABDULLAH, N.; NAWAWI, A.; OTHMAN, I. Survey of fungal counts and natural occurrence of aflatoxins in Malaysian starch-based foods. **Mycopathologia**, v. 143, n. 1, p. 53-58, 1998.
- AKANITAPICHAT, P.; PHRAIBUNG, K.; NUCHKLANG, K. 2010. Antioxidant and hepatoprotective activities of five eggplant varieties. **Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**. 2010; 48:3017-21.
- ALBORCH, L. et al. Mycobiota and mycotoxin contamination of maize flours and popcorn kernels for human consumption commercialized in Spain. **Food microbiology**, v. 32, n. 1, p. 97-103, 2012.
- AL-ANATI, L. & PETZINGER, E. Immunotoxic activity of ochratoxin A. **J. Vet. Pharmacol. Ther.** 2006, 29, 79–90.
- ALVES, H. M. R.; VOLPATO, M. M. L.; VIEIRA, T. G. C. Características ambientais e qualidade da bebida dos cafés do Estado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 32, n. 261, p. 18-29, abr. 2011.
- ALMEIDA, G.M. et al. Qualidade da farinha de mandioca produzida em Alcântara, Maranhão. **In: Congresso brasileiro de Mandioca**, Cuiabá, 2005.
- ANDRADE JÚNIOR, F. P. de. et al. *Alternaria* spp. em alimentos: micotoxinas, danos celulares e possíveis riscos à saúde. **Tchê Química**, Nova Prata, v. 15, n. 30, p. 19-26, 2018.
- ANVISA. Regulamento Técnico sobre os limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, Resolução RDC n.7, fevereiro de 2011. Diário Oficial da União, Poder Executivo, n.37, 2011.
- ARISSETO-BRAGOTTO, A. P.; FELTES, M. M. C.; BLOCK, J. M. Food quality and safety progress in the Brazilian food and beverage industry: chemical hazards. **Food Quality and Safety**, v. 1, n. 2, p. 117-129, 2017.
- ASAE (2015) Alimentação e Gravidez. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. **Riscos e Alimentos**, Nº10, 31 p.
- AYDIN, A., GUNSEN, U., & DEMIREL, S. (2008). Total aflatoxin, aflatoxin B1 and ochratoxin A levels in Turkish wheat flour. **Journal of Food and Drug Analysis**, 16(2).
- AYRES, N. 2017. Farinha de berinjela: reduz o colesterol e traz saciedade. **Minha vida**. Disponível em: <http://www.minhavidacom.br/alimentacao/tudo-sobre/16818-farinha-de-berinjela-reduz-o-colesterol-e-traz-saciedade>. Acesso em: 15 de abril 2018.

BACHMANN, M.; LUETHY, J.; SCHLATTER, Ch. 1979. Toxicity and mutagenicity of molds of the *Aspergillus glaucus* group. Identification of physcion and three related anthraquinones as main toxic constituents from *Aspergillus chevalieri*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 27, n. 6, p. 1342-1347, 1979.

BASUNY, A.M.M; ARAFAT, S.M.; EL-MARZOOQ, M. A. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of anthocyanins from eggplant peels. **Journal of Pharma Research & Reviews**, v. 2, n. 3, p. 50-57, 2012.

BELLUCO, B. et al. Deoxynivalenol in wheat milling fractions: A critical evaluation regarding ongoing and new legislation limits. **Journal of Cereal Science**, v. 77, p. 284-290, 2017.

BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clin Microbiol Rev**, v. 16, n. 3, p. 497-516, 2003.

BERNARDI, A. O.; GARCIA, M. V.; COPETTI, M. V. Controle de fungos deteriorantes da indústria de alimentos por meio da higienização das instalações. **Current Opinion in Food Science**, v. 29, p. 28-34, 2019.

BLANKSON, G. K.; MILL-ROBERTSON, F. C. Aflatoxin contamination and exposure in processed cereal-based complementary foods for infants and young children in greater Accra, Ghana. **Food Control**, v. 64, p. 212-217, 2016.

BLASER, P. Taxonomische und physiologische Untersuchungen über die Gattung *Eurotium* Link ex Fries. **Sydowia** 1975, 28, 1-49.

BORGES, A. D. M.; PEREIRA, J.; & PEREIRA DE LUCENA, E. M. (2009). Caracterização da farinha de banana verde. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 29(2).

BORGES, J. G.; REZENDE, E. DE F.; COUTO, F. A.; DA SILVA, D. M.; BATISTA, L. R. (2009). Fungos toxigênicos em grãos de café armazenados. **VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, Vitória, ES. 2009. Disponível em: < <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/2758> >. Acesso em: 20 de janeiro de 2019.

BORGES, C. B. F.; BONNAS, D. S. 2011. Qualidade microbiológica da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) in natura comercializada no município de Uberlândia- MG. **Enciclopédia Biosfera**, vol.7, N.12; p. 2-4, 2011.

BOZZA, A. **Detecção e quantificação de ocratoxina A produzida por espécies de *Aspergillus* isoladas de grãos de café**. 2010. 144 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

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

BRAGULAT, M.R., MARTÍNEZ, E., CASTELLÁ, G., CABAÑES, F.J. 2008. Ochratoxin A and citrinin producing species of the genus *Penicillium* from feedstuffs. **International Journal of Food Microbiology** 126: 43-48.

BRASIL. 1978. **Ministério da Saúde**. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução - CNNPA nº 12, de 1978.

BRASIL. 1998. **Ministério da Saúde**. Portaria nº 451, de 19 set. 1997. Aprova o regulamento técnico princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União. Brasília. 02 julho de 1998.

BRASIL. 2001. **Ministério da Saúde**. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial. Brasília, DF. 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. 2002. **Ministério da Saúde**. Resolução RDC 275, de 21 out. 2002. Aprova o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores / industrializadores de alimentos e a lista de verificação das boas práticas de fabricação. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=8134>>. Acesso em: 17 junho de 2019.

BRASIL. 2011. **Ministério da Saúde**. Resolução RDC Nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Brasil de 22 de março de 2011. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2968262/RDC_07_2011_COMP.pdf/afe3f054-bc99-4e27-85c4-780b92e2b966>. Acesso em janeiro de 2019.

BRYDEN, W.L. 2012. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal 391 productivity and feed security. **Animal Feed Science and Technology**; 173(1-2): 134-158.

BUCHANAN, R.L.; LEWIS, D. F. Regulation of aflatoxin biosynthesis: effect of glucose on activities of various glycolytic enzymes. **Applied and environmental microbiology**, v. 48, n. 2, p. 306-310, 1984.

BULLERMAN, L. B., & BIANCHINI, A. (2014). 7 good food-processing techniques: Stability of mycotoxins in processed maize-based foods. **In Mycotoxin reduction in grain chains** (p. 89).

BUZATU, M. A., COSTACHE, M., & CRISTEA, S. 2017. Research Concerning The Behaviour Of Some Eggplant (*Solanum Melongena L.*) Genotypes In Vidra, Ilfov Region. **Current Trends in Natural Sciences Vol, 6(12)**, 25-29.

CABAÑAS, R. et al. Occurrence of *Penicillium verrucosum* in retail wheat flours from the Spanish market. **Food microbiology**, v. 25, n. 5, p. 642-647, 2008.

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

CALVO, Ana M. et al. Relationship between secondary metabolism and fungal development. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 66, n. 3, p. 447-459, 2002.

- CALVET, R. M., PEREIRA, M. M. G., COSTA, A. P. R., TORRES, A. M., & MURATORI, M. C. S. (2015). Toxigenic mycobiota and mycotoxins in shrimp feed. **Ciência Rural**, 45(6), 1021-1026.
- CASTRILLO, M. L., JERKE, G., & HORIANSKI, M. A. (2014). Detección de la producción de ocratoxina A por cepas de *Aspergillus* sección *Nigri* aisladas de yerba mate compuesta. **Revista mexicana de micología**, 40, 1-6.
- CHANNIAH, L., & MAIER, D. E. (2014). Best stored maize management practices for the prevention of mycotoxin contamination. In **Mycotoxin reduction in grain chains** (p. 78).
- CHANG, Y. K. Aplicação das fibras em panificação e seus benefícios a saúde. In: **Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos** (SLACA), 7., 2007, Campinas. Palestra Técnica. Campinas: FEA, 2007, p. 39.
- CHELKOWSKI, J.; SAMSON, R.A.; WIEWIÓROWSKA, M.; GOLIŃSKI, P. 1987. Ochratoxin A formation by isolated strains of the conidial stage of *Aspergillus glaucus* Link ex Grey (= *Eurotium herbariorum* Wiggers Link ex Gray) from cereal grains. **Nahrung**. 1987;31(4):267-9. doi: 10.1002/food.19870310402. PMID: 3614336.
- CHRISTENSEN, C. M., & COHEN, M. (1950). Numbers, kind, and source of molds in flour. **Cereal Chemistry**, 27(2).
- CLARK, H. A., & SNEDEKER, S. M. (2006). Ochratoxin a: Its Cancer Risk and Potential for Exposure. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, 9(3), 265–296.
- CLERK, G. C., & CAURIE, M. (1968). Biochemical changes caused by some *Aspergillus* species in root tuber of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.). **Tropical Science**, 10, 149-154.
- DAGNAS, S.; MEMBRÉ, J-M. Predicting and preventing mold spoilage of food products. **Journal of food protection**, v. 76, n. 3, p. 538-551, 2013.
- D'MELLO, JP FELIX (Ed.). **Segurança alimentar: contaminantes e toxinas**. CABI, 2003.
- DHARMAPUTRA, O. S., AMBARWATI, S., RETNOWATI, I. N. A., & NURFADILA, N. (2016). Fungal infection and aflatoxin contamination in stored nutmeg (*Myristica fragrans*) kernels at various stages of delivery chain in North Sulawesi Province. **BIOTROPIA-The Southeast Asian Journal of Tropical Biology**, 22(2), 129-139.
- DÍAZ NIETO, C. H., GRANERO, A. M., ZON, M. A., & FERNÁNDEZ, H. (2018). Sterigmatocystin: A mycotoxin to be seriously considered. **Food and Chemical Toxicology**, 118, 460–470.
- DORES, R. G. R. DAS; REHDER, V. L. G.; DUARTE, M. C. T. Validação do uso popular de alguns extratos e óleos essenciais medicinais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 40 - 46, 2010.
- DUARTE, T. L. **Ocratoxina A em alimentos e bebidas: uma revisão bibliográfica**. 2010. Tese (Graduação em Engenharia de Alimentos – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2010.

EDIAGE, E.N. et al. 2011. Validated Multianalyte LC-MS/MS Method for Quantification of 25 Mycotoxins in Cassava Flour, Peanut Cake and Maize Samples. **Journal Agricultural Food Chemistry** 59, 5173-5180.

ELARIDI, J. et al. Determination of ochratoxin A (OTA), ochratoxin B (OTB), T-2, and HT-2 toxins in wheat grains, wheat flour, and bread in Lebanon by LC-MS/MS. **Toxins**, v. 11, n. 8, p. 471, 2019.

EMBRAPA. 2007. Berinjela (*Solanum Melongena* L.). Sistemas De Produção, 3 Issn 1678-880x **Versão Eletrônica**. Nov./2007.

EMBRAPA. 2015. Souza, J. M. L. Arvore De Conhecimento- Perigos Químicos., Rio Branco, Ac, Abr 2015.

EMBRAPA. 2018. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/mandioca-efruticultura/cultivos/mandioca>>. Acesso em: 21 de fevereiro de 2018.

FANI, M. (2012). As micotoxinas. **Aditivos & Ingredientes**, N°89, pp. 42-54.

FINCO, A. M. DE O. et al. 2009. Elaboração de Biscoitos com Adição de Farinha de Berinjela. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 03, n. 01, p. 49-59, 2009.

FLORES-FLORES, M. E. et al. (2015). Presence of mycotoxins in animal milk: A review. **Food Control**, 53, 163–176. doi: 10.1016/j.foodcont.2015.01.020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS (FAO), Statistics Division, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em 23 de janeiro de 2019.

FOOD INGREDIENTS BRASIL (FIB). As micotoxinas. 2009. n° 7. Disponível em: <<https://revista-fi.com/edicoes/7/fib-edicao-7>>. Acesso em: 25 de janeiro de 2019.

FREIRE, F. C. O.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N. P. Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal. **Embrapa Agroindústria Tropical**, Fortaleza. Documentos 110, 1.ed. 2007.

FRISVAD, J. C. et al. (2004). New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati*. **Stud. Mycol**, 50(2), 23-43.

FRISVAD J.C. et al. (2011). Fumonisin and ochratoxin production in industrial *Aspergillus niger* strains. **Plos One**. 6: e 23496.

FRISVAD, J. C. et al. (2019). Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. **Studies in mycology**, 93, 1-63.

GARCIA, MARCELO V. et al. Effect of temperature on inactivation kinetics of three strains of *Penicillium paneum* and *P. roqueforti* during bread baking. **Food control**, v. 96, p. 456-462, 2019.

GASHGARI, R. M., SHEBANY, Y. M., & GHERBAWY, Y. A. (2010). Molecular Characterization of Mycobiota and Aflatoxin Contamination of Retail Wheat Flours from Jeddah Markets. **Foodborne Pathogens and Disease**, 7(9), 1047–1054. doi:10.1089/fpd.2009.0506.

GATT, M. J. et al. 2003. Mycological survey for potential aflatoxin and ochratoxin in producers and their toxicological properties in harvested Brazilian black pepper. **Food Addit Contam** 20:1120–6.

GHOLAMI-AHANGARAN, MAJID.; RANGSAZ, NADER.; AZIZI, SHAHRZAD. Evaluation of turmeric (*Curcuma longa*) effect on biochemical and pathological parameters of liver and kidney in chicken aflatoxicosis. **Pharmaceutical biology**, v. 54, n. 5, p. 780-787, 2016. Doi:10.3109/13880209.2015.1080731.

GIL-SERNA, J. et al. Revision of ochratoxin A production capacity by the main species of *Aspergillus* section *Circumdati*. *Aspergillus steynii* revealed as the main risk of OTA contamination. **Food Control**, v. 22, n. 2, p. 343-345, 2011.

GLASS, N.L.; DONALDSON, G.C. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Appl. Environ. Microbiol** .61:1323–1330.

GNONLONFIN, G. J. B. et al. A review on aflatoxin contamination and its implications in the developing world: a sub-Saharan African perspective. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 53, n. 4, p. 349-365, 2013.

GÓES-NETO, A., LOGUERCIO-LEITE, C., GUERRERO, R.T. 2005. DNA Extraction from frozen field-collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: perform of SDS and CTAB-based methods. **Biotemas**. 18: 19-32.

GOLDBLATT, LA Capítulo I, Introdução. **Aflatoxin, Scientific Background, Control, and Implications (LA Goldblatt, Ed.)**, Academic Press, New York, p. 1-11, 1969.

GONÇALEZ, E.; NOGUEIRA, J.H.C.; FONSECA, H.; FELICIO, J.D.; PINO, F.A.; CORRÊA, B. Mycobiota and mycotoxins in Brazilian peanut kernels from sowing to harvest. *Int. J. Food Microbiol*. v.123, p.184-190, 2008.

GONÇALVES, S. S. et al. *Aspergillus novoparasiticus*: a new clinical species of the section Flavi. **Sabouraudia**, v. 50, n. 2, p. 152-160, 2012.

GONÇALVES, B. Micotoxinas: Uma revisão sobre as principais doenças desencadeadas no organismo humano e animal. **Revista de Saúde-RSF**, v. 4, n. 1, 2017.

GOLDMAN, K. Berinjela: História, tipos e receitas. 2018. Disponível em: <https://www.eucomosim.com/tudo-sobre-berinjela-historias-tipos-receita-variedades-diferentes-cores/>. Acesso em: 15 de jan. 2019.

GRECO, M., KEMPPAINEN, M., POSE, G., & PARDO, A. (2015). Taxonomic characterization and secondary metabolite profiling of *Aspergillus* Section *Aspergillus* contaminating feeds and feedstuffs. **Toxins**, 7(9), 3512-3537.

GUIMARÃES, R. R.; FREITAS, M. C. J.; SILVA, V. L. M. Bolos simples elaborados com farinha da entrecasca de melancia (*Citrullus vulgaris*, sobral): avaliação química, física e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 2, p. 354-363, 2010.

HALT, M. *Aspergillus flavus* e aflatoxina B 1 na produção de farinhas. **Jornal europeu de epidemiologia**, v. 10, n. 5, pág. 555-558, 1994.

HIRAKAWA, H. et al. 2014. Draft Genome Sequence of Eggplant (*Solanum melongena* L.): The Representative Solanum Species Indigenous to the Old World. **DNA Research**, 21(6), 649–660. Doi:10.1093/dnares/dsu027.

IAMANAKA, B. T., OLIVEIRA, I. S., & TANIWAKI, M. H. 2013. Micotoxinas em alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, 7, 138-161.

IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins**. World Health Organization, 1993.

INAN, F., PALA, M., & DOYMAZ, I. 2007. Use of ozone in detoxification of aflatoxin B1 in red pepper. **Journal of Stored Products Research**, 43(4), 425-429.

ISMAIL, A. et al. 2018. Aflatoxin in foodstuffs: Occurrence and recent advances in decontamination. **Food Research International**, 113, 74–85.

JACOB, J.K. et al. 2012. Biochemical basis for functional ingredient design from fruits. **Annu. Rev. Food Sci. Technol.**, 3: 79104.

JESUS, A. C. de. et al. (2018). Qualidade Microbiológica Das Farinhas De Mandioca (*Manihot Esculenta* Crantz), Comercializadas Em Feira-Livre No Município De Cruzeiro Do Sul/Acre/Brasil. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, 5(1).

KABAK, B. (2016). Aflatoxins in hazelnuts and dried figs: Occurrence and exposure assessment. **Food Chemistry**, 211, 8–16.

KARA, G. N., OZBEY, F., & KABAK, B. (2015). Co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in cereal flours commercialised in Turkey. **Food Control**, 54, 275–281.

KATOH, K. et al. MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment. **Nucleic acids research**, v. 33, n. 2, p. 511-518, 2005.

KERN, M. E. & BLEVIS, K. S. **Micologia Médica**. 2ª ed. São Paulo: Premier. 1999. 256 p.

- KING, A. D.; HOCKING, A. D.; PITT, J. I. Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of fungi from foods. **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, p.959-964, 1979.
- KLICH, M. A., MULLANEY, E., J., DALY, C., B., & CARY, J. W. (2000). Molecular and physiological aspects of aflatoxin and sterigmatocystin biosynthesis by *Aspergillus tamaris* and *A. ochraceoroseus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 53, 605–609.10.1007/s002530051664.
- KLICH, M. A. Environmental and developmental factors influencing aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. **Mycoscience**, v. 48, n. 2, p. 71-80, 2007.
- KRYSCZUN, D.K. et al. 2018. Sample size, plot size and number of replications for trials with *Solanum melongena* L. **Scientia Horticulturae**, v. 233, p. 220-224.
- KUMAR, R., ANSARI, K.M.; SAXENA, N., DWIVEDI, P.D., JAIN, S.K.; DAS, M. Detection of Ochratoxin A in wheat samples in different regions of India. **Food Control**, v. 26, n.1, p. 63-67, 2012.
- KUMAR, PRADEEP et al. Aflatoxins: a global concern for food safety, human health and their management. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 2170, 2017.
- KUPSKI, L., DE PAULA, M., SCAGLIONI, P., VIEIRA, J. G., QUEIROZ, M. I., & FURLONG, E. B. Determinação Simultânea de Ocratoxina A e Alfa em Farinhas de Trigo. **Blucher Food Science Proceedings**, 1(1), 167-16, 2014.
- KUPSKI, L., QUEIROZ, M.I., BADIÁLE-FURLONG, E. Aplicação de carboxipeptidase A a um processo de panificação para mitigar a contaminação da farinha de trigo pela ocratoxina A. **Process Biochemistry**, v. 64, p. 248-254, 2018.
- LAMARDO, L.C.A.; NAVAS, S.A.; SABINO, M. Desoxinivalenol (DON) em trigo e farinha de trigo comercializados na cidade e São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. v.65, n.1, p.32-35, 2006.
- LASRAM, S. 2016. Comparative study of toxigenic potential of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* isolated from Barley as affected by temperature, water activity and carbon source. **Journal of Stored Products Research**, 69, 58–64.
- LEMO, J.A.; COSTA, M., LEMO, A. A.; SILVA, M. R. R. Isolamento e identificação de fungos em farinhas de milho e mandioca em Goiânia (Goiás). **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v.30, n.1, p.31-3, jan./jun.2001. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/iptsp/article/view/15793/9689>>. Acesso em: 19 jan. 2019.
- LIMA, M. R.de H. **A utilização da farinha de berinjela como alimento funcional em preparações modificadas**. 2016. 28 f. Monografia (Graduação) – Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2016.
- MADDISON, WP; MADDISON, DR Mesquite: um sistema modular para análise evolutiva (versão 3.20) [Software de computador]. 2016.

MAGNOLI, C. et al. Occurrence of ochratoxin A-producing fungi in commercial corn kernels in Argentina. **Mycopathologia**, v. 161, n. 1, p. 53-58, 2006.

MAGNOLI, C. et al. Ochratoxin A and *Aspergillus* section *Nigri* in peanut seeds at different months of storage in Córdoba, Argentina. **International journal of food microbiology**, v. 119, n. 3, p. 213-218, 2007.

MARQUELLI, W. A.; BRAGA, M. B.; SILVA, H. R.; RIBEIRO, C. S. C. Irrigação na cultura da berinjela. **Brasília: Embrapa Hortaliças**, 2014. 24p. (Circular Técnica, 135).

MAZIERO, Maíke Taís; BERSOT, L. Dos S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista brasileira de produtos agroindustriais**, v. 12, n. 1, p. 89-99, 2010.

MEDINA, A.; GONZÁLEZ-JARTÍN, J. M.; SAINZ, MA. J. Impact of global warming on mycotoxins. **Current Opinion in Food Science**, v. 18, p. 76-81, 2017.

MEGALLA S.E.; ABDOUL R.F & BAGY M.M.K. Fungal flora of Egyptian baladi bread with special reference to the mutagenic effects of their toxic metabolites. **Mycopathologia** 1985; 89:35–41.

MONTEIRO, R. P. et al. Estudo microbiológico da farinha de banana (*Musa sapientum* L.): Cultivar prata. **Caderno Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 1, n. 1, 2011.

MORALES, H., SANCHIS, V., COROMINES, J., RAMOS, A.J., MARIN, S. (2008). Inoculum size and intraspecific interactions affects *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation in apples. **Food Microbiology** 25:378–385.

MOSTROM, M. S.; JACOBSEN, B.J. Ruminant mycotoxicosis. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 27, n. 2, pág. 315-344, 2011.

MÜHLENCOERT, E. et al. Production of ochratoxin A by *Aspergillus ochraceus*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, n. 5, p. 651-659, 2004.

MUNDIM, S. M. **Fungos e Micotoxinas em farinha de mandioca da região Amazônica**. 2014. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.

MURPHY, P. A. et al. Food mycotoxins: an update. **Journal of food science**, v. 71, n. 5, p. R51-R65, 2006.

NAGEL, C. M., & SEMENIUK, G. (1947). Some mold-induced changes in shelled corn. **Plant physiology**, 22(1), 20.

NEME, K. & MOHAMMED, ALI. Mycotoxin occurrence in grains and the role of postharvest management as a mitigation strategy. A review. **Food Control**, v. 78, p. 412-425, 2017.

NETO FERREIRA C. et al. Microbiologia de farinhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) durante o armazenamento. **Ciência Rural**. 34, n. 2, p. 551-555, 2004.

NIETO, C. H. D. et al. Esterigmatocistina: Uma micotoxina a ser seriamente considerada. **Food and chemical toxicology**, v. 118, p. 460-470, 2018.

NIÑO-MEDINA, G.; URÍAS-ORONA, V.; MUY-RANGEL, M. D. & HEREDIA, J. B. (2017). Structure and content of phenolics in eggplant (*Solanum melongena*) - a review. **South African Journal of Botany**, 111, 161–169. doi: 10.1016/j.sajb.2017.03.016.

OUESLATI, S.; ROMERO-GONZALEZ, R.; LASRAM, S.; FRENICH AG.; VIDAL, J.L.M. Multi-mycotoxin determination in cereals and derived products marketed in Tunisia using ultra-high performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. **Food and Chemical Toxicology**. 2012; 50(7): 2376-2381.

PATRIARCA, A.; PINTO, V.F. Prevalence of mycotoxins in foods and decontamination. **Current Opinion in Food Science**, v. 14, p. 50-60, 2017.

PEREZ, P. M. P. **Elaboração de biscoito tipo salgado, com alto teor de fibra alimentar, utilizando farinha de berinjela (*Solanum melongena*, L.)**. 2002. 157f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

PEREZ, P.M. & GERMANI, R. Farinha mista de trigo e berinjela: características físicas e químicas. **B CEPPA** (Curitiba). 2004;22(1):15-24.

PEPELJNJAK, S.; SLOBODNJAK, Z.; SEGVIĆ, M.; PERAICA, M. & PAVLOVIĆ, M. (2004). The ability of fungal isolates from human lung aspergilloma to produce mycotoxins. **Human & Experimental Toxicology**, 23, 15–19.10.1191/0960327104ht409oa.

PITT J.I. A laboratory Guide to Common *Penicillium* Species. **North Wales: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing**; 1991.

PITT, J. I.; TANIWAKI, M. H.; & COLE, M. B. (2013). Mycotoxin production in major crops as influenced by growing, harvesting, storage and processing, with emphasis on the achievement of Food Safety Objectives. **Food Control**, 32(1), 205-215.

PITT, J. I., & HOCKING, A. D. (2009). Fungi and food spoilage (3rd ed.). New York: **Springer**.

POSADA, D. jModelTest: phylogenetic model averaging. **Molecular biology and evolution**, v. 25, n. 7, p. 1253-1256, 2008.

POSSETTI T.; LIMA DUTRA, M. B. Produção, composição centesimal e qualidade microbiológica de farinha de berinjela (*Solanum melongena*, L.) **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.7, N.13;1511-1518, 2011.

PRADO, S.D.P.T. et al. (2005). Contaminação por matérias estranhas e microrganismos em farináceos comercializados em Ribeirão Preto, SP. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 64(2), 237-244.

RAMBAUT, A. FigTree. Tree figure drawing tool. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>, 2009.

RAPER, K. B., & FENNELL, D. I. The genus *Aspergillus*. **The genus *Aspergillus***. 1965.

REDDY, K. R. N. et al. (2010). An overview of mycotoxin contamination in foods and its implications for human health. **Toxin reviews**, 29(1), 3-26.

REGES, J. T. de A. et al. Ocorrência de fungos e micotoxinas em grãos de milho em Jataí-GO, Brasil/Occurrence of fungi and mycotoxins in corn grains in Jataí-GO, Brazil. **Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales**, v. 3, p. 34, 2016.

REIS, A.; BOITEUX, L. & LOPES, C. (2011). Doenças da berinjela no Brasil. **Embrapa Hortaliças-Circular Técnica (INFOTECA-E)**.

RENZULLI, C. et al. Effects of rosmarinic acid against aflatoxin B1 and ochratoxin A – Induced cell damage in a human hepatoma cell line (Hep G2). **J. Appl. Toxicol.**, 2004, 24, 289-296.

RIBA, A. et al. Mycoflora and ochratoxin A producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat. **Int J Food Microbiol** 2008; 122:85–92.

RIBEIRO, C.S. et al. Cultivo da berinjela (*Solanum melongena*, L) **Embrapa Hortaliças. Sistemas de Produção** 3. 2007. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Berinjela/Berinjela_Solanum_melongena_L/index.html>. Acesso em: 01 de jan. de 2019. ISSN 1678-880x Versão Eletrônica.

RIBEIRO, E. A. R. 2007. **Contaminação toxicológica de resíduos vitivinícolas- Ocratoxina A**. 125f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente), Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 2007.

ROCHA, M. E. B. da. et al. (2014). Mycotoxins and their effects on human and animal health. **Food Control**, 36(1), 159-165.

RODRIGUES, E. B.; ARAÚJO, A. M.; SOBRAL, F. O. S.; ROMÃO, N. F. 2015. Avaliação da Presença de Bolores e Leveduras em Farinha de Mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) Comercializadas a Granel em Feiras Livres do Município de Ji-Paraná-RO. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 2, n. 2, p. 15-22.

RODRIGUES, P.; VENÂNCIO, A.; LIMA, N. Mycobiota and mycotoxins of almonds and chestnuts with special reference to aflatoxins. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 76-90, 2012.

RONQUIST, F. et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic biology**, v. 61, n. 3, p. 539-542, 2012.

SABBADINI, A. M. et al. Ocorrência de fungos toxicológicos em grãos coletados no município de campo mourão e a relação destes com o desenvolvimento de doenças. **In:**

Encontro Internacional De Produção Científica Cesumar, 6., 2009, Maringá. Anais... Maringá: CESUMAR, 2009. Disponível em: <<http://www.cesumar.br/epcc2009/trabalhos.php>>. Acesso em: 10 dez. 2018.

SAMSON, R.A & FRISVAD, J.C. *Penicillium* Subgenus *Penicillium*: new Taxonomic Schemes, Mycotoxins and Other Extralites. **Stud Mycol.** 2004; 49:1-260.

SAMSON, R.A. et al. 2010. Food and Indoor Fungi, CBS Laboratory Manual Series 2. CBS-**Fungal Biodiversity Centre**, Utrecht.

SANTOS, G. C. 2008. **Micobiota contaminante e ocorrência de aflatoxinas em farinha de milho flocada pré-cozida comercializada em diferentes municípios do Estado da Bahia**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.

SANTOS, M. R. dos.; SILVA, J. O. da. Impacto da presença de aflatoxinas em alimentos destinados ao consumo humano e animal. **Revista Multidisciplinar da Saúde**, v. 2, n. 4, p. 49-61, 2010.

SANTOS, T.T.; SOUZA, E.X.N.; SILVA, L.C.; CAZZETA, M.L. 2012. Avaliação microbiológica e físico-química da farinha de mandioca comercializada no mercado municipal de Cruz das Almas – BA. **Magistra**, v. 24, p. 34-41, 2012.

SANTOS, M. C. dos. et al. Micotoxinas e seu Potencial como Agentes de Guerra. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 3, p. 761-778, 2014.

SANTOS, H. V.; FONSECA, J. M.; FREITAS, R. F.; ROYO, V. de A. Caracterização laboratorial das dislipidemias e o uso de fitoterápicos. **Revista Multitexto**, v. 3, n. 1, p. 21-28, 2015.

SANTOS, R. L. G. dos. et al. Identificação de fungos produtores de micotoxinas cancerígenas em pães de sanduíches vendidos no centro comercial de Macapá-AP. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição-RASBRAN**, v. 7, n. 2, p. 50-55, 2016.

SCORSATTO, M. et al. (2017). Avaliação de Compostos Bioativos, Composição Físico-Química e Atividade Antioxidante In Vitro da Farinha de Berinjela. **Int. j. cardiovasc. sci. (Impr.)**, 30(3), f-235.

SCUDAMORE, K.A. & MACDONALD, S.J., 1998. A collaborative study of an HPLC method for determination of ochratoxin A in wheat using immunoaffinity column clean-up. **Food Additives and Contaminants**, 15, 401–410.

SEBRAE (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas). **Manual de referência para casas de farinha**. Alagoas. v. 200, 2006. Disponível em: <http://industriasantacruz.com/wpcontent/uploads/2013/09/ManualdeReferenciaSEBRAE_A L.pdf>. Acesso em: 15 de jun de 2018.

SERRA, R. **Micoflora das uvas portuguesas e seu potencial para a contaminação das uvas com micotoxinas, com destaque para a ocratoxina A**. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) - Universidade do Minho, Braga, 2005.

- SILLIKER, J. H. et al. Cereales y sus productos derivados. Cap. 23. **In: Ecología microbiana de los alimentos.** p. 278. Vol. II. Ed. Acribia. S.A. Zaragoza, Espanha, 1985.
- SILVEIRA, M. L. R. et al. Aproveitamento tecnológico das sementes de goiaba (*Psidium guajava* L.) como farinha na elaboração de biscoitos. **Boletim CEPPA**, Curitiba-PR, v. 34, n. 1, p.1-21, 2016.
- SILVA, F. R. et al. Quantificação da carga microbiana em diferentes tipos de arroz comercial. In: Embrapa Arroz e Feijão- Artigo em anais de congresso (ALICE). In: Congresso Brasileiro De Arroz Irrigado, 6., 2009, Porto Alegre. **Estresses e sustentabilidade: desafios para a lavoura arrozeira: anais.** Porto Alegre: Palotti, 2009., 2009.
- SILVA, L. M. de M. et al. Qualidade físico-química de farinha da semente de abóbora desidratada em estufa a 40° C. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 5, p. 23, 2011.
- SILVA, Í. R. C. et al. 2017. Food safety in cassava “flour houses” of Copioba Valley, Bahia, Brazil: Diagnosis and contribution to geographical indication. **Food control**, 72, 97-104. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.034>.
- SOARES, C. E. S. et al. Fungos de armazenagem e micotoxinas em dieta para ovinos (*Ovis aries* L.): estudo de caso. **PUBVET**, v. 11, p. 1188-1297, 2017.
- SOUZA, S. C. de. **Crescimento de *Aspergillus carbonarius* e *Aspergillus ochraceus* e produção de ocratoxina A em meio de cultura sintético e a base de produtos agrícolas.** 2014. 84 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- SOUZA, D. da S. & SILVA, K. N. da. Substituição Parcial Da Farinha De Trigo Pela Farinha De Berinjela Para Elaboração De Massa Fresca. **Anais da 9ª Mostra Acadêmica UNIMEP – 08 a 10 de novembro de 2011.**
- STAMATAKIS, A. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. **Bioinformatics**, v. 22, p. 2688–2690, 2006.
- TAMURA, K. et al. MEGA5: análise de genética evolutiva molecular usando métodos de máxima verossimilhança, distância evolutiva e máxima parcimônia. **Biologia molecular e evolução**, v. 28, n. 10, pág. 2731-2739, 2011.
- TERRA, M. F. et al. (2013). Detection of ochratoxin A in tropical wine and grape juice from Brazil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 93(4), 890-894.
- THANUSHREE, M. P. et al. Mycotoxin contamination in food: An exposition on spices. **Trends in Food Science & Technology**, v. 93, p. 69-80, 2019.
- THOM, C. et al. Os aspergilli. Os Aspergilli., 1926.
- TOROVIĆ, Ljilja. Aflatoxins and ochratoxin A in flour: a survey of the Serbian retail market. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 11, n. 1, p. 26-32, 2018.

TRUCKSESS, M.W. et al. 1994. Multifunctional column coupled with liquid chromatography for determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2 in corn, almonds, Brazil nuts, peanuts and pistachio nuts: collaborative study. **Journal of AOAC International**, 6, 1512–1521.

TSANG, Chi-Ching et al. 2016. Genetic diversity of *Aspergillus* species isolated from onychomycosis and *Aspergillus hongkongensis* sp. nov., with implications to antifungal susceptibility testing. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 84, n. 2, p. 125-134, 2016.

UTHUMPORN, U. et al. 2016. Physico-chemical and Antioxidant Properties of Eggplant Flour as a Functional Ingredient. **Advance Journal of Food Science and Technology**, 12(5), 235-243.

VALMORBIDA, R. 2016. **Fungos e micotoxinas em grãos de milho (*Zea mays* L.) e seus derivados produzidos no estado de Rondônia, região norte do Brasil**. Dissertação de mestrado, Programa de pós-graduação em Ciência dos alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2016.

VARGA, J. et al. 2003. Molecular detection of fungi in foods and feeds. **Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications**. New York: Marcel Dekker Inc, p. 299-309, 2003.

VARGA J.; FRISVAD J.C & SAMSON R.A. 2009. A reappraisal of fungi producing aflatoxins. **World Mycotoxin J** 2:263-277.

VARGA, J.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. 2011. Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section Flavi. **Studies in Mycology**, v. 69, p. 57-80, 2011.

VISAGIE, CM et al. *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* isolados de amostras de poeira doméstica coletadas em todo o mundo. **Studies in Mycology**, v. 78, p. 63-139, 2014.

VON HERTWIG, A.M. ***Aspergillus* toxigênicos em café e cacau: incidência, produção de micotoxinas e discriminação molecular de espécies de *Aspergillus niger* por PCR em tempo real**. 2015. 1 recurso online (90 p.). Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/321393>>. Acesso em: 20 dezembro. 2018.

WAREING, W. P. et al. 2001. Consumer preferences and fungal and mycotoxin contamination of dried cassava products from Ghana. **International Journal of Food Science and Technology**, Ghana, v 36, p 1-10, 2001.

WHITE, T. J. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. **PCR protocols: a guide to methods and applications**, v. 18, n. 1, p. 315-322, 1990.

WILD, C.; MILLER, J. D., & GROOPMAN, J. D. 2015. Mycotoxin control in low-and middleincome countries. **IARC Working Group Report**.

WILLIAMS, J.G.; DESCHL U., & WILLIAMS, G.M. 2011. DNA damage in fetal liver cells of turkey and chicken eggs dosed with aflatoxin B1. **Archives of Toxicology**. 2011; 85(9): 1167-117.

WU, F.; GROOPMAN, J. D., & PESTKA, J. J. 2014. Public health impacts of foodborne mycotoxins. **Annual review of food science and technology**, v. 5, p. 351-372, 2014.