

## AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO FÚNGICA EM AMENDOIM COMERCIALIZADO A GRANEL NO MUNICÍPIO DE JI-PARANÁ/RO

## ASSESSMENT OF FUNGAL CONTAMINATION IN PEANUTS MARKETED IN BULK IN THE MUNICIPALITY OF JI-PARANÁ-RO

Tatiana Zorzanello Bonifácio<sup>1</sup>, Thais Cristina Avelino Martinelli<sup>1</sup>, Bruna Gabriella Marmitt<sup>1</sup>, Natália Faria Romão<sup>2</sup>, Fabiana de Oliveira Solla Sobral<sup>3</sup>.

1. Biomédica formada pelo Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná - CEULJI/ULBRA

2. Bióloga, Mestre em Genética e Toxicologia, Docente dos cursos de Ciências Biológicas e Biomedicina.

3. Biomédica, Mestre em Biologia Molecular Aplicada a Saúde, Coordenadora do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná-RO (CEULJI/ULBRA).

\* Autor correspondente: nataliaromao2@gmail.com

Recebido: 29/01/2015; Aceito 23/03/2015

### RESUMO:

O amendoim (*Arachis hypogaea*) pertence à família leguminosae, é uma semente que possui alto valor energético e nutricional. Devido a isso os grãos podem ser contaminados por fungos no campo ou pós-colheita, durante o processamento, no armazenamento e durante a comercialização. O presente estudo teve como objetivo avaliar a contaminação fúngica em amendoim comercializado a granel no município de Ji-Paraná-RO. Os métodos utilizados foram a Técnica de Plaqueamento Direto que obteve os resultados expressados em porcentagem e Plaqueamento Indireto que expressa os resultados em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama. A porcentagem de contaminação dos grãos foi de 100% no estabelecimento 1 e 95% no estabelecimento 2, o que demonstra um alto grau de contaminação fúngica. Os fungos identificados foram dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus* e Leveduras. Esses grãos estavam aparentemente saudáveis, mas por apresentarem alta contaminação fúngica, demonstra que a incidência desses fungos está associada a contaminação ainda no campo, durante a estocagem e no armazenamento.

**Palavra chave:** Amendoim, Fungos, contaminação.

### ABSTRACT

The peanut (*Arachis hypogaea*), belongs to the Fabaceae family, is a seed that has high energy and nutritional value. Due to that, the beans can be contaminated by fungi in the field or post-harvest during processing, storage and during commercialization. The present study aimed to evaluate the fungal contamination in peanuts marketed in bulk in the municipality of Ji-Paraná-RO. The methods used were the Direct Plating technique which obtained the results expressed in percentage, and Plating Indirect expressing the results in colony-forming units (CFU) per gram. The percentage of contamination of the grains was 100% in Establishment1, and 95% in Establishment 2, this demonstrates a high degree of fungal contamination. The fungi were identified from the genus *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, and Yeast. These grains were apparently

healthy, but because they have high fungal contamination, shows that the incidence of these fungi is associated with contamination still in the field, during storage and storage.

**Keywords:** Peanut, fungi, contamination.

## 1. INTRODUÇÃO

O amendoim é uma dicotiledônia, que pertence à família Leguminosae, subfamília Papilonoide e do gênero *Arachis*. Esta espécie se subdivide em duas subespécies, *Arachis hypogaea* L. subespécie *hypogaea* e *Arachis hypogaea* subespécie *fastigiata* [1]. De acordo com Lima [2] atualmente o amendoim é a quarta oleaginosa mais cultivada do mundo, sendo muito importante no mercado mundial de grãos para economia de países Asiáticos e Africanos. Segundo os dados da *Food Agriculture Organization of United Nations* (FAO) [3] os países que possuem maior produção são a China, a Índia e o EUA, com aproximadamente 80% da produção mundial.

No Brasil, a produção do amendoim está em expansão, principalmente pelas perspectivas de exportação, crescimento do mercado interno e por ser considerado uma boa alternativa em áreas de renovações canaviais e pastagens [4]. O amendoim é um alimento altamente energético e nutricional, pois suas sementes contêm óleo com altos níveis de ácidos graxos insaturados, possui ainda uma rica fonte de

proteínas e vitamina E, além disso, contêm vitaminas do complexo B, ácido fólico, e minerais como cálcio, fósforo, potássio e zinco [5]. É muito utilizado na alimentação humana, pois o grão possui sabor agradável, sabor agradável, e pouca diferença entre o alimento cru, cozido ou submetido a qualquer tipo de tratamento [6].

Os alimentos exercem funções necessárias em qualquer organismo, pois influenciam na qualidade de vida por fazer parte da manutenção, prevenção ou recuperação da saúde, devido a isso, devem ser saudáveis, completos, variados, agradáveis ao paladar e seguros, para exercer sua função corretamente [7].

Independente da origem, os alimentos possuem microbiota natural diversificada, principalmente em sua superfície, micro-organismos como as bactérias e os fungos destacam-se, por serem agentes potenciais na deterioração do produto, tornando-se patogênicos ao homem [8]. Portanto, a contaminação pela atividade de fungos, provoca transformações indesejáveis nos alimentos, fazendo com que o alimento produza

sabores e odores desagradáveis, provocado por diferentes graus de deterioração [9].

Os fungos chamados de bolores são organismos multicelulares que apresentam-se com forma filamentosa, a qual é uma estrutura é composta pelo corpo ou talo, denominado micélio e esporos, a qual o micélio é uma massa filamentosa denominada hifa e cada hifa é formada pela união de várias células, essas hifas possuem paredes rígidas que são compostas por quitina, celulose e glicose [7]. Portanto, fungos filamentosos se originam por meio da disseminação dos esporos e o processo de germinação do esporo inicia-se com a formação de um tubo germinativo [7]. Este tubo germinativo alonga-se na fração apical formando longos filamentos, podendo se ramificar [10].

Alguns fungos são responsáveis por produzir metabólitos secundários tóxicos que são prejudiciais à saúde quando ingeridos pelo homem e pelos animais [11]. Esses fungos são considerados patogênicos e seus metabólitos são denominados micotoxinas [11], e muitos destes metabólitos são altamente hepatotóxico, carcinogênico e teratogênico [12].

Em sementes de amendoim foram detectadas cerca de 150 espécies de fungos, porém somente algumas espécies são consideradas deteriorantes [13]. Sendo

assim, os principais fungos envolvidos em contaminações de sementes de amendoim são os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Rhizopus* [14].

O gênero *Aspergillus*, possui mais de 180 espécies anamórficas [15]. Este gênero pode ser identificado pelas características do conidióforo, porém, para identificar as espécies e a diferenciação é muito complexa, sendo reconhecida tradicionalmente pelas características morfológicas [15]. Já o *Penicillium* é um fungo importante na deterioração de alimentos, caracterizado por possuir conidióforos formados a partir de hifas superficiais e apresentando conídios grandes e esféricos [16]. Segundo Taniwaki [17], o gênero *Fusarium* é caracterizado pela produção de macroconídios hialinos, multiseptados e em forma de meia lua e em algumas espécies ocorre também um microconídio menor. No *Rhizopus* as características distintivas são a presença de hifas largas não septadas (ocasionalmente podem ser observados septos em cultivos velhos), com produção de esporangiósporos no interior de esporângios [18]. Os esporângios são originados na extremidade de esporangióforos que normalmente são únicos nas espécies de *Rhizopus*, terminando em uma estrutura chamada columela, onde nessas espécies as columelas normalmente colapsam quando

maduras, adquirindo a forma de guarda-chuva curvado [18].

De acordo com a Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde [19], Portaria n° 451, de 19 de setembro de 1997, o padrão definido para a contagem de bolores e leveduras deve ser inferior a  $5 \times 10^3$  UFC/g para grãos comestíveis crus, torrados e salgados, a qual esse se inclui o amendoim.

O presente estudo objetivou avaliar a contaminação por fungos em amendoim comercializados a granel no município de Ji-Paraná/RO, identificando os principais gêneros dos fungos encontrados e, desta forma, avaliar a qualidade do amendoim vendido e fornecido aos consumidores.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de amendoim foram coletadas em quatro estabelecimentos distintos de comercialização de amendoim a granel no município de Ji-Paraná/RO, a qual foram acondicionadas em sacos plásticos descartáveis e encaminhado ao Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná (CEULJI/ULBRA).

Para análise de fungos foram utilizadas duas técnicas, a de Plaqueamento Direto e a de Plaqueamento Indireto por superfície, para detectar a

contaminação fúngica no amendoim. A Técnica de Plaqueamento Direto é recomendada para estimar a porcentagem da contaminação fúngica em alimentos particulados, como grãos e amêndoas que possuem atividade de água reduzida. E a técnica de Plaqueamento Indireto por superfície é recomendada para se obter a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

Para a análise por Plaqueamento Direto, foi inicialmente realizada a desinfecção da superfície da amostra, onde essas amostras (10 a 50g) foram imersas em uma solução de 0,4% de hipoclorito de sódio por 2 minutos. Em seguida, os grãos foram enxaguados uma vez em água destilada. Por seguinte as amostras foram inoculadas em placas de Petri contendo o meio de cultura Ágar Dicloran Glicerol 18% (DG18), com o auxílio de uma pinça esterilizada. A incubação foi realizada em estufa a 25°C por 5 dias. As placas foram incubadas sem inverter, e os resultados foram expressos em quantidade de grãos que apresentaram crescimento fúngico em porcentagem [17].

Para a análise por Plaqueamento Indireto, foi pesado assepticamente 25g da amostra e diluído em 225ml de água peptonada 0,1% (APT), homogeneizada e em seguida foram realizadas as diluições seriadas ( $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ). Posteriormente, foi retirado 0,1 ml de cada diluição e

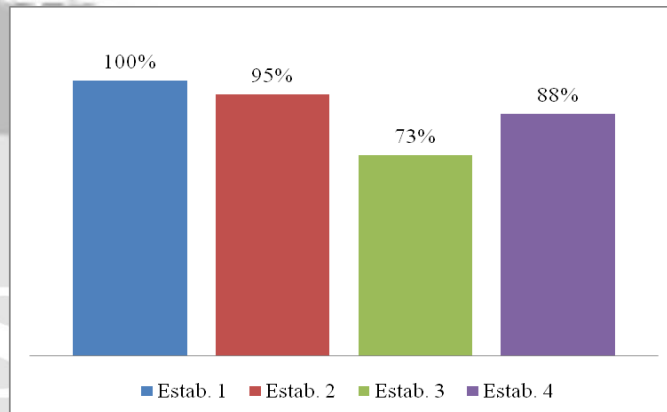
inoculado por plaqueamento superficial em placas contendo Ágar Dicloran Glicerol 18% (DG18), com o auxílio da alça de Drigalski. As placas foram encubadas entre 22-25°C por 5 dias sem inverter, e o relato dos resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama [20].

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nas amostras analisadas, foram detectados altos índices de crescimento fúngico em grãos de amendoim comercializado a granel utilizando a técnica de Plaqueamento Direto, conforme demonstrado na figura 1, que apresenta a porcentagem de crescimento fúngico nos grãos de amendoim *in natura*. As amostras analisadas que apresentaram as maiores porcentagens de contaminação, foram as dos Estabelecimentos 1 e 2, com resultados de 100% e 95% de contaminação respectivamente. De acordo com Zorzete [21] o amendoim pode ser contaminado por fungos no campo, nos estágios dos grãos maduros e grãos secos, principalmente no armazenamento.

Os fungos possuem uma imensa versatilidade de crescimento em atividade de água e pH reduzido, grande variedade de temperatura e substrato, capacidade de esporulação e disseminação em várias condições [7]. O crescimento dos fungos tanto altera a composição química quanto a estrutura do alimento, fazendo com que este seja desprezado, resultando na perda econômica e desperdício da matéria prima [7].

Nos Estabelecimentos 3 e 4, houve um resultado inferior aos demais, mas não é um resultado estatisticamente significativo, pois apresenta resultados muito próximos, como demonstrado na figura 1. O crescimento de fungos em grãos está relacionado ao teor de umidade, aeração, temperatura e tempo de armazenamento [22]. Portanto, em sementes armazenadas, os fungos podem provocar perda de germinação, redução de viabilidade e aumento da taxa de ácidos graxos, causando rancificação do óleo e produção de toxinas, que são prejudiciais aos homens e animais [23].



**Figura 1.** Porcentagem de crescimento fúngico em amostras de amendoim comercializado a granel no município de Ji-Paraná-RO.

Na tabela 1 está relacionada a quantidade de colônias que cresceram através da técnica de plaqueamento indireto, que visa obter a quantidade de colônias que crescem em 25g de amostra. Das amostras coletadas nos quatro estabelecimentos, as que demonstraram ter um maior crescimento de colônias, foram

as do estabelecimento 4 comparado aos outros estabelecimentos, mas mesmo tendo maior contaminação as amostras encontram-se dentro dos padrões da legislação vigente a qual é regido pela Portaria nº 451/97 [19] que estabelece um padrão de até  $5 \times 10^3$  UFC/g para grãos comestíveis crus, torrados e salgados.

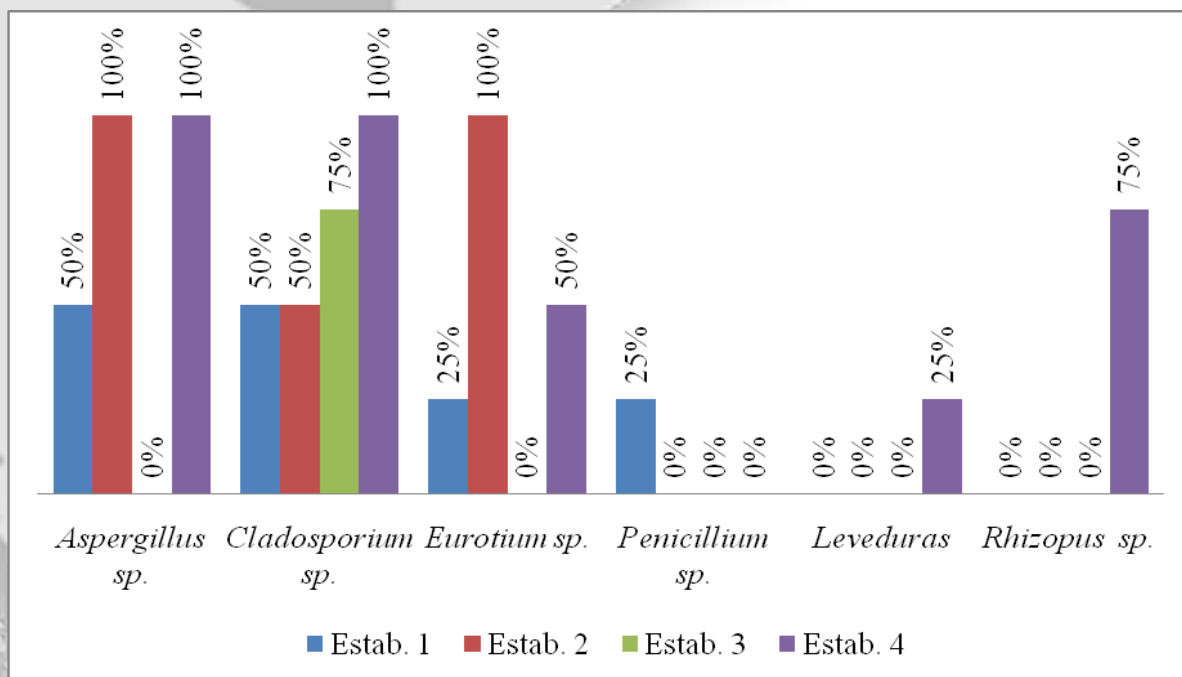
**Tabela 1.** Contagem de Bolores e Leveduras em amostras de amendoim comercializado a granel no município de Ji-Paraná-RO.

Local de Coleta	Amostra	Bolores e Leveduras
Estabelecimento 1	1	$6,0 \times 10^2$ UFC/g
	2	$2,0 \times 10^2$ UFC/g
	3	$5,0 \times 10^2$ UFC/g
	4	$3,0 \times 10^2$ UFC/g
Estabelecimento 2	1	$1,0 \times 10^2$ UFC/g
	2	$1,1 \times 10^3$ UFC/g
	3	$1,0 \times 10^2$ UFC/g
	4	$2,0 \times 10^2$ UFC/g
Estabelecimento 3	1	$1,0 \times 10^2$ UFC/g
	2	$< 1,0 \times 10^1$ UFC/g*
	3	$1,0 \times 10^2$ UFC/g
	4	$2,0 \times 10^2$ UFC/g
Estabelecimento 4	1	$1,9 \times 10^3$ UFC/g
	2	$6,0 \times 10^2$ UFC/g
	3	$4,0 \times 10^2$ UFC/g
	4	$8,0 \times 10^3$ UFC/g

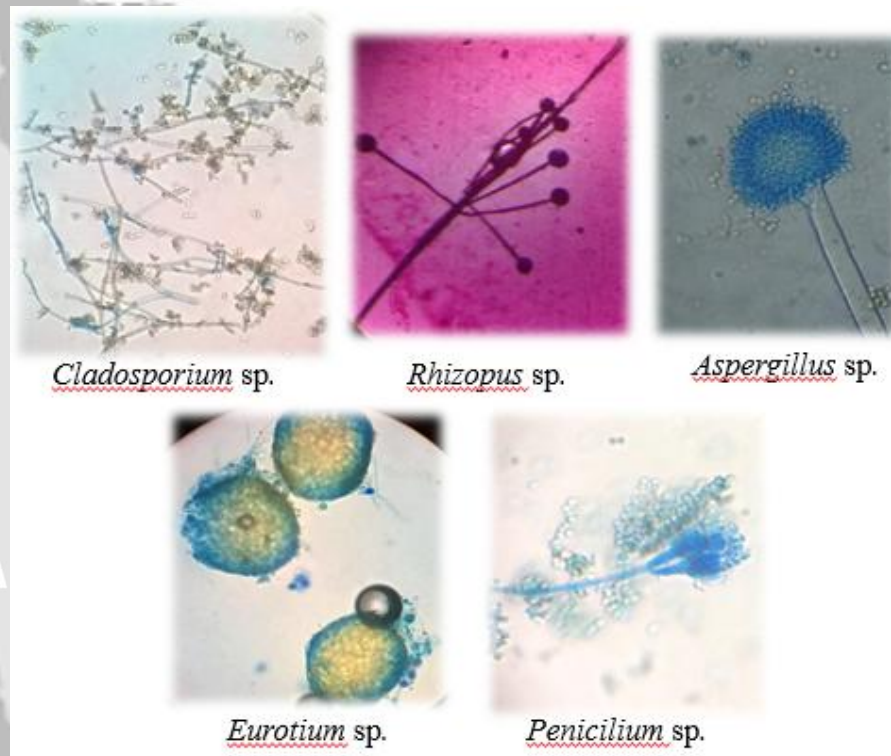
\* Não houve crescimento de colônias na menor diluição utilizada.

De acordo com Silva e colaboradores [24] que realizaram contagem de Bolores e Leveduras em grãos de arroz, alegaram que os fungos totais estão dentro dos limites aceitáveis para o consumo humano, comparados com os limites estabelecidos para outros cereais e farinhas. Costa e Zanella [25] que analisaram o crescimento fúngico em fubá de milho por contagem de Bolores e levedura, observaram que houve contaminação dos grãos em locais de armazenamento, mas o nível de contaminação encontrou-se dentro dos limites estabelecidos pelo órgão regulatório.

Na Figura 2 estão listados os gêneros dos fungos identificados por microscopia e a porcentagem em que apareceram nas amostras por estabelecimento, a qual os fungos identificados foram dos gêneros *Aspergillus*, *Eurotium*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus* (Figura 3) e Leveduras. Os fungos predominantes foram *Cladosporium sp.* onde houve ocorrência nos quatros estabelecimentos analisados e no estabelecimento 4 apresentaram ocorrência em 100% das amostras, o gênero *Aspergillus* foi confirmado em três estabelecimentos, e nos estabelecimentos 2 e 4 a sua ocorrência foi de 100% das amostras analisadas.



**Figura 2.** Identificação dos gêneros e/ou espécies de fungos encontrados nas amostras de amendoim comercializado a granel no município de Ji-Paraná-RO.



**Figura 3.** Fungos visualizados por microscopia óptica. Fotos: Tatiana Zorzanello Bonifácio

De acordo com Rosseto e colaboradores [26] o *Cladosporium* sp. apresentou menor incidência em grãos de amendoim em colheitas realizadas após semeadura. Mas Goldfarb e colaboradores [27], relatam que o gênero *Cladosporium* sp. ocorre sobre inúmeras espécies vegetais, especialmente como componente da microflora das sementes, ainda no campo e durante a estocagem e armazenamento. As espécies de *Cladosporium* raramente são patogênicos aos seres humanos, mas já foram relatados casos de infecções na pele, nas unhas dos pés, sinusite e infecções pulmonares [28].

Em estudos realizados por Vecchia e Castilhos-Fortes [21], apresentaram

resultados que indicam elevada ocorrência de *Aspergillus* sp. em amendoim *in natura*, e conseqüentemente a susceptibilidade desses grãos à contaminação por aflatoxinas que são altamente tóxicas e carcinogênicas para homens e animais. Em estudos realizados pela *Food and Drug Administration* (FDA), tanto em humanos quanto em animais, a aflatoxina ataca primeiro o fígado [3]. Além do fígado, pode afetar também o rim, baço e pâncreas [29]. De acordo com McGlynn e London [30], os principais fatores de riscos que contribuem para o desenvolvimento do Carcinoma Hepatocelular (HCC), são a infecção pelo vírus da Hepatite B e a exposição a aflatoxina B1 produzida por



espécies de *Aspergillus*. Outros autores como Goldfarb et al [27] afirmam também que os *Aspergillus sp.* são um dos fungos mais encontrados em grãos e sementes armazenadas.

O *Eurotium* esteve presente em diversas amostras do estabelecimento 2, em uma amostra do estabelecimento 1 e em duas amostras do estabelecimento 4. De acordo com Pitt e Hocking [31] o *Eurotium* é um dos vários estágios teleomorfos (sexuados) produzidos pelas espécies de *Aspergillus*, caracterizados pela produção de cleistotécios amarelos (ascos soltos que se rompem na maturação para liberar os ascósporos).

Verificou-se que o *Penicillium sp.*, esteve presente em apenas uma amostra do Estabelecimento 1, sendo considerado como um fungo de armazenamento e produtor de micotoxinas tóxicas ao homem [32]. Algumas espécies de *Penicillium* são responsáveis pela maior fonte de ocratoxina A, sendo suspeita por ser um dos causadores do câncer do trato urinário e dos danos aos rins que ocorrem no leste europeu. Praticamente todos os europeus apresentam alguma concentração de ocratoxina em seu sangue, e esta exposição do homem a ocratoxina ocorre a partir do pão integral [33]. A ocratoxina A, foi reclassificada pelo IARC [33] como um possível carcinógeno para humanos (classe 2B).

Para Lucca Filho [22] os fungos do gênero *Penicillium*, se desenvolvem durante o período de armazenamento devido as condições dos lotes de sementes e condições ambientais, principalmente em seu estado físico, grau de umidade, além do inoculo inicial.

O gênero *Rhizopus* aparece em apenas 1 estabelecimento, mas em 3 amostras foram confirmadas, entretanto, Grigoletto e colaboradores [34], afirmam que, o gênero *Rhizopus* é um dos principais fungos de armazenamento e também está associados ao processo de deterioração dos grãos de amendoim, o que demonstra que os outros estabelecimentos 2, 3 e 4 mesmo apresentando crescimento de outros gêneros de fungos estavam livres do gênero *Rhizopus*, sugerindo que os mesmo oferecem boas condições de armazenamento dos grãos. Santos [4] através de estudos afirma que o *Rhizopus* foi o fungo de armazenamento mais comumente associado as sementes de amendoim, sendo o mais frequente em 100% das safras analisadas.

Houve também crescimento de leveduras, mas não é um resultado significativo, pois cresceu apenas em uma amostra. As leveduras são consideradas gêneros oportunistas na contaminação de matérias-prima [35]. Segundo Costa [36], em experimento realizado com grãos de café estocados por 60 dias, observou-se um

aumento de fungos e leveduras até o final da estocagem, entretanto, esse valor está bem abaixo do permitido pela legislação.

A melhor técnica para relatar a contaminação fúngica em amendoim é a Técnica de Plaqueamento Direto, sendo considerada por Ismail [37], a técnica adequada para isolamento de fungos em grãos de amendoim.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O amendoim comercializado a granel no município de Ji-Paraná, apresentaram contaminação por fungos dos gêneros:

#### 5. REFERÊNCIAS

[1] GRACIANO, E. S. A. **Estudos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetidas à deficiência híbrida.** (Dissertação) Mestrado em Botânica. Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife), 2009.

[2] LIMA, T. M. **Cultivo do amendoim submetido a diferentes níveis de adubação e condições edofoclimáticas no sudeste de Goiás.** (Dissertação) Mestrado em Agronomia. Universidade Federal de Goiás (Jataí), 2011.

[3] FOOD AND ADMINISTRATION. FDA/CFSAN (2003), **Bad bug book: aflatoxins.** Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap41.html>>, [acesso em 1 nov de 2014].

[4] SANTOS, F. Levantamento da qualidade de sementes de amendoim

*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus* e Leveduras. Esses grãos estavam aparentemente sadios, mas apresentaram alta contaminação fúngica nos grãos individuais pela Técnica de Plaqueamento Direto. Mas quando analisados os grãos em conjunto por gramas na Técnica de Plaqueamento Indireto, as amostras apresentaram-se dentro dos padrões da legislação vigente. A presença desses fungos nos grãos provavelmente está associada a contaminação ainda no campo, durante a estocagem e no armazenamento.

armazenadas no Estado São Paulo. **Instituto Agrônomo**, Campinas, 2013.

[5] MACEDO, M. H. G. **Amendoim: Panorama Internacional**, Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em <<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/83e31b69fc4c1f45a1cee5eb53797f41..pdf>>, [acesso em 26 de mar de 2015].

[6] PRETTI, T. **Tecnologia para produção de extrato aquoso de amendoim e elaboração de produtos fermentados.** (Dissertação) Mestrado em Alimentos e Nutrição. Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP (Araraquara), 2010.

[7] SILVA, L. F. **Fungos: Um estudo sobre sua ocorrência nos alimentos.** (Dissertação) Especialização em Microbiologia. Universidade Federal de Minas Gerais (Belo Horizonte), 2008.

- [8] ATAYDE, D. D. **Microbiota fúngica e determinação de aflatoxinas em cultivo de amendoim plantado em diferentes regiões produtoras no Estado de São Paulo.** (Dissertação) Mestrado em Microbiologia. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (São Paulo), 2009.
- [9] DINIZ, S. P. S. S. **Micotoxinas.** Livraria e Editora Rural, 1 ed, Campinas, 2002.
- [10] FUNDER, S. **Practical Mycology-Manual for identification of fungi.** New York: Hafner Publishing Company INC, 1968.
- [11] SABINO, M.; INOMATA, E. I.; LAMARDO, L. C. A. **Variação dos níveis de aflatoxina B1 em pasta de amendoim e paçoca consumidas no estado de São Paulo.** Rev. Instituto Adolfo Lutz, v. 42, p. 39-44, 1982.
- [12] RITTER, A. C. **Potencial toxigênico de *Aspergillus flavus* testados em diferentes meios e condições.** (Dissertação) Mestrado em Microbiologia agrícola e do Ambiente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre), 2007.
- [13] MORAES, S.A. **Testes de sanidade de sementes de amendoim.** In: SOAVE, J., WETZEL, M.M.V. Patologia de sementes. Campinas: Fundação Cargill, p.347-357, 1987.
- [14] BRUNO, R. L. A; AZEREDO, G.A; QUEIROGA, V. P; ARAUJO, E; DINIZ, E. Qualidade fisiológica e micoflora de sementes de amendoim CV. BR-1 durante o armazenamento. **Rev Bras Olea e Fibras**, v.4, n.3, p.141-152, 2000.
- [15] REIS, G. M. **Variabilidade genética de cepas de *Aspergillus flavus* isoladas de amendoim.** (Dissertação) Mestrado em Microbiologia. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (São Paulo), 2009.
- [16] PITT, J. I. Food mycology - emerging discipline. **Jornal Applied Bacteriol Symp Suppl**, v. 67, p.1-9, 1989.
- [17] TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. **Fungos em alimentos: Ocorrência e Detecção.** Editora Ital, Campinas, 2008.
- [18] KONEMAN, E.W; ROBERTS, G.D. **Micologia Prática de Laboratório.** Editora Médica Panamericana, Buenos Aires, 1987.
- [19] BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Portaria no 451, de 19 set. 1997. **Estabelece critérios e padrões microbiológicos para alimentos.** Brasília, 22 set. 1997. Seção 1.
- [20] SILVA, N; JUNQUEIRA V.C.A; SILVEIRA N.F.A; TANIWAKI M.H; SANTOS R.F.S; GOMES R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 4º ed. Varela, São Paulo, 2010.
- [21] ZORZETE, P. **Fungos, micotoxina e fitoalexina em variedades de amendoim do plantio ao armazenamento.** (Dissertação) Doutorado em Microbiologia. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (São Paulo), 2010,
- [22] LUCCA FILHO, O. A. Importância da sanidade na produção de sementes de alta qualidade. **Rev. Bras. Sementes**, v. 7, n. 1, p. 113-123, 1985.
- [23] VECCHIA, A. D.; CASTILHOS-FORTES, R. Contaminação fúngica em granola comercial. **Ciência em Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 324-327, 2007.
- [24] SILVA, F. L; LOBO V.L.S; FILIPPI M.C.C; PRABHU A.S. Quantificação da carga microbiana em diferentes tipos de arroz comercial. **Embrapa Arroz e Feijão.** v.1, p. 452-455, 2009.

- [25] COSTA, J. A. A; ZANELLA G. N. Identificação de fungos filamentosos em derivados de milho comercializados em Primavera do Leste – MT, **Rev. Bras. Farmácia**. v.93, p. 109-113, 2012.
- [26] ROSSETO, C. A. V; LIMA T. M; VIEGAS E.C; SILVA O. F; BITTENCOURT A.M. Efeito da calagem, da colheita e da secagem na qualidade sanitária de amendoim na seca. **Pesq. agropec. bras.**, v. 38, n. 5, p. 567-573, 2003.
- [27] GOLDFARB, M; DUARTE M. E. M; MATA M. E. R. M. C; NASCIMENTO L. C; BRITO N. M; SOUTO F. M. Incidência de fungos e qualidade fisiológica de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) após o armazenamento criogênico. **Rev. Biotemas**, v.23, p. 19-26, 2010.
- [28] RIVAS, S. & TOMAS C. M. As interações Molecular entre o tomate e a folha moldam o pathogen: *Fulvum* do *Cladosporium*. **Revisão anual de Phytopathology**. v. 43, p. 395-436, 2005.
- [28] PHILLIPS, T. D.; CLEMENTE, B. A.; PARK, DL. **Approaches to reduction of aflatoxins in food and feeds**. In: EATON, O. L.; GROOMAN, J. D. (Ed.) *The toxicology: human*. San Diego: Academic Press, 1994, 544 p.
- [29] McGLYNN, K. A.; LONDON, W. T. Epidemiology and natural history of hepatocellular carcinoma: **best Practice e Research Clinical Gastroenterology**, London, v.19, n.1 p.3-23, 2005.
- [30] PITT, J. I.; HOCKING A. D. **Fungi and Food Spoilage**, 2nd ed. Blackie Academic & Professional, New York, 1997.
- [31] BELLETTINI, N. M. T; ENDO R. M.; MIGLIORANZA E.; SANTIAGO D. C. Patogenicidade de fungos associados às sementes e plântulas de amendoim cv. Tatu. **Rev. Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 167-172, 2005.
- [32] KUIPER-GOODMAN, T.; SCOTT, P. M. Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. **Biomed. Envir. Sci.**, v. 2, p. 179-248, 1989.
- [33] INTERNATIONAL AGENCY FOR RESERCH OF CANCER. Some Naturally Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. **Apresentado em: IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents**, Lyon, 1992.
- [34] GRIGOLETO, M. R. P.; MEDINA, P. F.; PARISI, J. D. Levantamento da germinação e de fungos e insetos em sementes de amendoim produzidas e armazenadas no estado de São Paulo. In: **VI Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC**, Jaguariúna, 2012.
- [35] SAVARD, T.; BEAULIEU C.; GARDNER, N. J.; CHAMPAGNE, C. P. Characterization of spoilage yeasts isolated from fermented vegetables and inhibition by lactic, acetic and propionic acids. **Food Microbiology**, v.19, p. 363-373, 2002.
- [36] COSTA, N. V.; TORRES M. C. L.; GERALDINE R. M.; SILVEIRA M. F. A.; CARVALHO D. M. Avaliação da vida de prateleira de grãos de café torrado e moído. 63º Reunião Anual da SBPC, Goiânia. 2011.
- [37] ISMAIL, M. A. Deterioration and spoilage of peanuts and desiccated coconuts from two sub-Saharan tropical East African Countries due to the associated mycobiota and their degradative enzymes. **Mycopathologia**, v. 150, n. 2, p. 67-84, 2000.