

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CAMPUS DE CAMPO MOURÃO

WALTER DA SILVA HALATENO

CONTAMINAÇÃO FÚNGICA EM SEMENTES DE LINHAÇA COMERCIALIZADAS
NO MUNICÍPIO DE CAMPO MOURÃO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2016

WALTER DA SILVA HALATENO

**CONTAMINAÇÃO FÚNGICA DE SEMENTES DE LINHAÇA COMERCIALIZADAS
NO MUNICÍPIO DE CAMPO MOURÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia de Alimentos do Departamento Acadêmico de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo de alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dra. Marcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini.

CAMPO MOURÃO

2016



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Departamento Acadêmico de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

CONTAMINAÇÃO FÚNGICA DE SEMENTES DE LINHAÇA COMERCIALIZADAS NO MUNICÍPIO DE CAMPO MOURÃO

POR

WALTER DA SILVA HALATENO

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 17 de junho de 2016 às 14:00 como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof^a. Dra. Macia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini.
Orientadora

Prof^a. Dra. Camila Ortiz Martinez
Membro da banca

Prof^a. Dra. Eliane Sloboda Rigobello
Membro da banca

Nota: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no Departamento Acadêmico de Alimentos da UTFPR Campus Campo Mourão.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, criador de todos nós. Ao meu pai (in memória), pelo grande esforço e incentivo em minha educação. Por minha Mãe, por ter feito o possível e o impossível juntamente com o meu irmão por me manter em meus estudos, trabalhando muito e apoiando as minhas decisões. Sem o auxílio deles seria impossível concluir esta etapa da vida.

Dedico também aos meus professores que me orientaram e me ajudaram a concluir este trabalho em especial a minha orientadora, aos meus amigos e amigas, companheiros desta jornada, onde passamos por problemas e alegrias ajudando uns aos outros. Enfim, dedico a todos que contribuíram de alguma forma para tornar possível esta caminhada árdua, mas que agora se finda com a conquista do resultado almejado.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus que me deu a vida, assim como a oportunidade de poder estudar.

A toda a minha família pela compreensão dos momentos ausentes e pelo apoio em minhas decisões.

Aos meus amigos que sempre me incentivaram e me ajudaram nesta etapa da vida.

A todos os mestres, que com dedicação e sabedoria contribuíram para a minha formação profissional.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Macia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini pela sua dedicação, apoio e, sobretudo pela sua paciência em estar sempre me corrigir, auxiliar nos trabalhos, desenvolvidos, e me conduzir para a realização deste árduo trabalho com muita competência, sabedoria e disponibilidade.

A todos os membros da banca examinadora, pelas correções e sugestões apresentadas.

Por fim, agradeço a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para realização deste trabalho.

Os meus mais sinceros agradecimentos.

Muito obrigado!

RESUMO

HALATENO, W. Contaminação Fúngica de Sementes de Linhaça Comercializadas no Município de Campo Mourão. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2016.

A semente de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) é reconhecidamente uma das maiores fontes dos ácidos graxos essenciais ômega 3 e ômega 6, além de fibras e compostos fenólicos, conhecidos por possuírem atividade antioxidante e devido a suas propriedades específicas contra o câncer. No entanto, esse alimento pode ser alvo da presença de fungos, que podem interferir em sua qualidade. O objetivo deste trabalho foi analisar a contaminação fúngica de sementes de linhaça comercializadas na cidade de Campo Mourão PR. Foram feitas análises em triplicata em 10 amostras da linhaça marrom, pela técnica do plaqueamento direto das sementes com desinfecção de superfície e sem desinfecção de superfície. Os resultados foram expressos em porcentagem de contaminação fúngica. Todas as amostras apresentaram contaminação fúngica e as amostras que passaram por tratamento de superfície tiveram crescimento fúngico reduzido. Foram identificados os gêneros predominantes de fungos, sendo eles *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Alternaria* e *Cladosporium*, evidenciando a necessidade de melhoria no controle de qualidade desse alimento.

Palavras-chave: sementes de linhaça, contaminação, fungos.

ABSTRACT

Fungal contamination in Linseed Marketed in Campo Mourão county

Linseed (*Linum usitatissimum* L.) is recognized as a major source of omega 3 and omega 6 essential fatty acids, in addition to fiber and phenolic compounds known by possess antioxidant activity and due to its specific properties against cancer. However, this food can be the target of the presence of fungi, that may interfere with their quality. The objective of this study was to analyze the fungal contamination of Linseed marketed in Campo Mourão PR. Analyzes were performed in triplicate in 10 brown linseed samples, by direct plating technique with seed surface disinfection and no surface disinfection. The results were expressed as percentage of fungal contamination. All samples showed fungal contamination and samples which have undergone surface treatment had reduced fungal growth. The predominant genera of fungi were identified, namely *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Alternaria* e *Cladosporium*, showing the need for improved quality control of these food.

Keywords: Linseeds , contamination, fungi.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Plaquetamento das amostras de sementes de linhaça sem desinfecção de superfície (A), amostras de sementes de linhaça em hipoclorito de sódio (B).....	20
Figura 2 – Plaquetamento das sementes.....	20
Figura 3 – Preparação das laminas e lamínulas e verificação das características morfológicas dos fungos através de microscópio óptico.	21
Figura 4 Comparação de sementes sanitizadas com hipoclorito de sódio.....	23
Figura 5 - Presença relativa de gêneros de fungos encontrados em 10 amostras de sementes de linhaça.	24
Figura 6 - Gênero <i>Rhizopus</i> (aumento de 400 X em microscópio luminoso)	25
Figura 7 - Gênero de <i>Aspergillus</i>	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1. OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 LINHAÇA.....	12
3.2 FUNGOS E ARMAZENAMENTO DOS GRÃOS	14
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
6 CONCLUSÃO.....	29
7 REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o consumo mundial de grãos e cereais tem se expandido e o Brasil vem se destacando na produção e exportação desses alimentos, porém, a falta das boas práticas na produção, transporte, armazenamento e manipulação pode resultar em grandes prejuízos para o consumidor (PELUQUE, 2014).

A linhaça (*Linum usitatissimum* L.) é a semente do linho e suas fibras foram primeiramente utilizadas para a produção de tecidos (CUI et. al. 1998). Possui características nutricionais e fisiológicas relevantes à saúde, muitas delas atribuídas à ação das fibras alimentares (CHINELATE, 2008), sendo também uma fonte abundante de ácido α -linolênico, e fito-químicos, ligninas e proteínas, componentes de grande interesse para a indústria alimentícia (OOMAH; MAZZA, 1999).

O grão de linhaça pode ser consumido in natura, inteiro ou moído, e acrescentado diretamente sobre alimentos tais como frutas, massas, leite ou iogurte, podendo ser utilizado como ingrediente na preparação de bolos, pães, biscoitos, barras de cereal e produtos cárneos (BOMBO, 2006).

A linhaça é considerada um alimento funcional que recentemente vem ganhando a atenção, entre outras situações, na prevenção do risco de doenças cardiovasculares. Existem dois tipos de linhaça, a marrom e a dourada. As duas praticamente não se diferem em sua composição, mas sim em relação ao local de plantio, ao cultivo e à utilização de agrotóxicos (COLPO et. al. 2006). A linhaça marrom é cultivada em regiões de clima úmido e quente, como o Brasil e a dourada é plantada em regiões frias, como o Canadá e o norte dos Estados Unidos. No cultivo da linhaça marrom são utilizados agrotóxicos, enquanto a dourada é cultivada de forma orgânica (CAMPOS, 2016).

Devido a falta de cuidados devidos na comercialização a granel e algumas vezes embalada, as sementes podem ser alvo de microrganismos deteriorantes, tais como fungos que além de degradar o alimento podem prejudicar a saúde humana. Ainda existe o risco de desenvolvimento de espécies fúngicas com risco potencial da produção de micotoxinas, que são produtos metabólicos tóxicos produzidos por fungos e que se ingeridos podem vir a causar doenças em seres humanos e animais

(KAWASHUMA; SOARES,2006). Como descreve Bento et. al. (2012) a infecção e a deterioração dos grãos podem ocorrer ainda no campo, agravando-se durante as operações de colheita, transporte, secagem, beneficiamento e armazenamento, resultando na redução da qualidade sanitária, física e nutricional dos grãos e seus derivados.

Entre os prejuízos causados pelos fungos está o emboloramento visível, a descoloração, o odor desagradável, a perda de matéria seca, o aquecimento, as mudanças químicas e nutricionais, além da produção das micotoxinas. Essa contaminação pode fazer com que grãos tornem-se impróprios para o consumo humano e animal, resultando em grandes perdas econômicas e para a saúde do consumidor (BENTO et. al. 2012).

A qualidade de um alimento é a segurança de que o seu consumo não irá causar danos ao consumidor quando preparado ou consumido de acordo com seu uso intencional (CODEX ALIMENTARIUS, 2015). Desta forma é importante saber o nível de contaminação fúngica dos grãos de linhaça comercializados para a alimentação humana.

Com isto o objetivo deste trabalho foi analisar a contaminação fúngica de sementes de linhaça sanitizadas e não sanitizadas por hipoclorito de sódio.

2 OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a porcentagem de contaminação fúngica de linhaça marrom comercializada no município de Campo Mourão/PR.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a porcentagem fúngica da linhaça com e sem desinfecção de superfície;
- Diferenciar os gêneros predominantes de fungos contaminantes da linhaça;
- Analisar os dados estatisticamente.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 LINHAÇA

Com a conscientização dos consumidores que almeja a melhoria da qualidade de suas vidas, optando por hábitos saudáveis, a busca por alimentos funcionais tem se tornado uma prática frequente. Neste cenário, o aumento do consumo de grãos como linhaça, na alimentação tem sido observado (TOMBINI, 2013).

A produção mundial de óleo de linhaça é da ordem de 2,3 a 2,5 milhões de toneladas anuais, sendo o Canadá o principal produtor. Na América do Sul, o maior produtor é a Argentina, com cerca de 80 toneladas por ano. O Brasil possui baixa produção com apenas 21 toneladas anual (MOURA, 2008).

O aumento das áreas está diretamente ligado ao incentivo das empresas de interesse nesta semente, conforme levantamento de estoques, demandas no ano, qualidade, importação, câmbio (dólar). O Brasil ainda importa linhaça do Canadá, USA, China e Argentina, tais importações são de grande importância para o balizamento de preços da linhaça nacional (TRUCOM 2006).

O Rio Grande do Sul se destaca no Brasil como o principal produtor de linhaça. Lavouras de linho já foram cultivadas no país para a extração de fibras para o uso têxtil, chegando a ocupar, na década de 60, uma área de 50 mil hectares. Hoje, porém, a área cultivada não passa de 650 hectares, e tem como finalidade as sementes e não mais as fibras atualmente importada (MARQUES, 2008).

A linhaça (*Linum usitatissimum* L.) é uma planta pertencente à família das *Linaceas*, caracterizada por apresentar uma altura de 30 e 130 cm, talos eretos, folhas estreitas lineares ou lanceoladas, alternando entre verde e verde-claro. Existem relatos do consumo de linhaça na Europa e Ásia desde 5000 e 8000 anos a.C. É uma planta originária da Ásia, possivelmente do Cáucaso, e cuja semente a humanidade tem consumido há milênios, incluindo, possivelmente, a Mesopotâmia

e, posteriormente Europa, África, Ásia e América do Norte (PINTO, 2007). O plantio do linho ocorre nos meses de maio e junho e a colheita se dá nos meses de novembro, dezembro e janeiro (MARQUES, 2008). Entre seus nomes populares destacam-se: a linhaça, linho e linheiro (FERREIRA, 2004).

A planta tem um talo principal do qual saem vários ramos onde nascem as folhas, as flores e as cápsulas. Da casca da planta (caule) é retirada a fibra do linho, matéria-prima para a fabricação de tecidos; e da cápsula se obtém a semente. Apesar de usada há milênios na alimentação humana, a maior parte do cultivo é destinada às indústrias de óleo de tintura e de ração animal (MARQUES, 2008).

O consumo mundial desta semente caiu com o tempo, mas nos últimos anos, a linhaça tem se destacado novamente entre a população, devido ao seus benefícios para a saúde (OOMAH; DER; GODFREY, 2006). A semente de linhaça é hoje considerada um alimento funcional, depois de séculos de uso na alimentação e na medicina natural. Os benefícios da linhaça são atribuídos ao seu óleo rico em ácido alfa linolênico, ao alto teor de lignanas e às fibras alimentares (LEE et. al. 1991).

Os alimentos funcionais surgiram no Japão, na década de 80, com a finalidade de prevenir doenças crônicas degenerativas e melhorar a qualidade de vida (SGARBIERI; PACHECO, 1999). Apesar de não haver uma definição universal para o termo alimento funcional, segundo Carrara et. al. (2009), são alimentos que, em virtude de componentes fisiologicamente ativos, provêm benefícios para saúde.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamentou os alimentos funcionais por meio das Resoluções 18/99 e 19/99. Entre os pontos abordados, destaca-se que nenhum alimento comercializado possa fazer referência à cura ou à prevenção de doenças, sendo aceitos somente os termos “redução de risco” e “benefícios à saúde” (BRASIL, 1999).

Existem dois tipos de linhaça, a marrom e a dourada. As duas praticamente não diferem em sua composição, mas sim em relação ao local de plantio, ao cultivo e à utilização de agrotóxicos (COLPO et. al., 2006). A linhaça marrom é cultivada em regiões de clima úmido e quente, como o Brasil, e a dourada é plantada em regiões frias, como o Canadá e o norte dos Estados Unidos. No cultivo da linhaça marrom são utilizados agrotóxicos, enquanto a dourada é cultivada de forma orgânica (CAMPOS, 2010).

A linhaça é uma importante fonte de ácidos graxos poliinsaturados. Os ácidos graxos poliinsaturados são representados pelas séries $\omega -3$ e $\omega -6$, dependendo do local onde a dupla ligação mais próxima da extremidade metila está posicionada. Como o organismo humano é incapaz de sintetizar esses ácidos graxos, eles são denominados essenciais e devem ser obtidos através da dieta (MOURA, 2008).

Além da considerável quantidade de lipídios 38%, apresentam em média 26% de proteína, 14% de fibras, 12% de mucilagem e 9% de umidade. Os principais elementos químicos encontrados são enxofre, ferro, zinco, alguma quantidade de potássio, magnésio, fósforo e cálcio (MOURA, 2008). Dentre as vitaminas encontradas nas sementes de linhaça destacam-se tiamina (B1), riboflavina (B2), ácido ascórbico e as lipossolúveis A, D, E e K. Sendo que esses teores podem variar de acordo com o cultivar, o meio ambiente, o processamento da semente, e os métodos de análise (JACINTO, 2007).

Neste cenário a linhaça é uma semente com grande potencial para a nutrição humana, além de ser uma das 6 plantas atualmente reconhecida pelo Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos, por suas propriedades específicas no combate ao câncer. Parte desse reconhecimento deve-se a notável característica de ser a fonte mais rica de precursores de lignina (esteróide vegetal de ação análoga ao estrógeno de mamíferos) na dieta humana (BOMBO, 2006).

3.2 FUNGOS E ARMAZENAMENTO DOS GRÃOS

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

Os principais fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos durante o armazenamento de grãos são umidade, temperatura, período de armazenamento,

nível inicial de contaminação, impurezas, insetos, concentração de CO₂ intergranular, condições físicas e sanitárias dos grãos (LAZZARI, 1997).

Nas condições ambientais favoráveis, de umidade e de temperatura, os esporos dos fungos germinam, desenvolvendo hifas, que infestam grãos, rações e outros substratos (PRADO et. al. 1991).

A contaminação dos alimentos pode causar sua deterioração, reduzindo seu valor nutricional, alterando suas qualidades organolépticas e tornando-se, em alguns casos, problema de saúde pública (RAVEN, 2001).

Os maiores problemas do desenvolvimento de fungos em grãos e sementes estão relacionados à produção de micotoxinas e à perda do poder germinativo e de matéria seca, alterando o valor nutricional (LIMA, et. al. 2000).

Aproximadamente duzentas espécies de fungos são consideradas toxigenicas, sendo que o tipo de substrato e as condições do ambiente são fatores determinantes para a produção de micotoxinas. (BOURGEOIS et. al. 1994)

Segundo Rupollo et. al. (2006), as micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por fungos filamentosos, que, quando ingeridos, são prejudiciais à saúde humana e animal, além de apresentarem elevada atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica. Prado et. al. (1991) relata que os piores efeitos das micotoxinas no homem tendem a ser os crônicos, de difícil associação com o consumo de alimentos contaminados, e os principais efeitos registrados são indução de câncer, lesão renal e depressão do sistema imune.

Alguns gêneros deste grupo de microrganismos são responsáveis pela produção de micotoxinas, entre as quais, destacam-se: a aflatoxina, ocratoxina A, zearalenona, patulina, fumonisina, tricoteceno e citrinina (RODRIGUEZ; SABINO 2002).

As espécies de *Fusarium* são patógenos de plantas, produzindo micotoxinas antes da colheita ou imediatamente após ela. Os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* são mais comumente encontrados como contaminantes de produtos durante a secagem e o armazenamento, sendo denominados de fungos de armazenamento (RUPOLLO et. al. 2006)

Com algumas condições favoráveis, várias espécies fúngicas podem produzir micotoxinas, ao homem e aos animais, quando as sementes contaminadas são destinadas à alimentação (ROSSETO et. al. 2015).

As micotoxinas costumam ser termoestáveis, por isso a abordagem

preventiva em relação a elas é de suma importância. Rosseto et. al. (2015) descreve que evitar a contaminação pelos fungos é freqüentemente impossível, visto que os principais bolores toxigênicos são bastante disseminados pelo ambiente. Portanto, restam estratégias ligadas à utilização de linhagens de plantas resistentes à colonização fúngica, colheita apropriada, estocagem adequada, controle de insetos e roedores, controle de temperatura e umidade, tempo de estocagem dentro dos limites de vitalidade dos grãos, e, eventualmente, irradiação dos grãos. Nos cultivos agrícolas, existem aproximadamente 100 fungos encontrados no próprio campo de produção ou em produtos alimentares armazenados, e que são capazes de produzir micotoxinas, sendo que 20 tipos de fungos são causadores de doenças em animais que podem levar a problemas de saúde e, inclusive, à morte.

Segundo a Embrapa (2015), na agricultura, já foram identificadas mais de quinhentas tipos de micotoxinas. Lembrando que, as de maior importância são responsáveis pelos maiores índices de contaminação de grãos, sementes e outros alimentos, como: as aflatoxinas produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, como *A. flavus* e *A. parasiticus*; as ocratoxinas produzidas por algumas espécies do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*; e as fusariotoxinas, que possuem como principais representantes os tricotecenos, a zearalenona e as fumonisinas, produzidas por diversas espécies do gênero *Fusarium*.

O processo de deterioração em sementes compreende uma sequência de alterações bioquímicas e fisiológicas iniciadas logo após a maturidade fisiológica, que acarretam redução de vigor, culminando na perda da capacidade de germinação (SÁL et. al. 2011).

Sementes já classificadas quanto ao tamanho, podem ser separadas quanto à sua densidade. Dentro de um lote de tamanho homogêneo, as sementes de menor densidade normalmente apresentam menor qualidade, essas injúrias podem ser causadas mecânicamente na colheita ou no beneficiamento que atuam na redução da qualidade fisiológica e sanitária das sementes (DELOUCHE, 1973).

Teor de umidade entre 4 e 8% é favorável ao armazenamento em embalagens impermeáveis. Assim, quanto maior o teor de umidade da semente armazenada, maior o número de fatores adversos à conservação da sua qualidade fisiológica (POPINIGIS, 1985).

Segundo Villela, et. al. (2009) reduzir a velocidade e os efeitos da deterioração nas sementes são metas prioritárias do armazenamento, entretanto, é

sabido que existe acentuada diversidade entre espécies com potencial de desenvolvimento durante ao armazenamento das sementes. Além disso, ocorre variabilidade entre lotes e entre sementes do lote, da mesma espécie e da mesma cultivar, submetidas a condições similares de armazenamento, visto que cada semente e cada lote possuem um histórico, determinado pelas condições de produção. A longevidade corresponde ao período máximo de tempo que as sementes permanecem vivas, quando armazenadas sob condições ambientais ideais, sendo que as espécies apresentam variabilidade natural.

Os fungos mais prejudiciais no armazenamento são *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor* encontrados em grande número em armazéns, moinhos, silos, moegas, elevadores, equipamentos e lugares onde os produtos agrícolas são armazenados, manuseados e processados. Causam danos ao produto somente se as condições de armazenagem forem impróprias à manutenção da qualidade do produto. Os fungos do gênero *Aspergillus* (*A. halophilicus*, *A. restrictus*, *A. glaucus*, *A. candidus*, *A. alutaceus* e *A. flavus*) e os do gênero *Penicillium* (*P. viridicatum*, *P. verrucosum*) são os indicadores de deterioração em sementes e grãos causando danos no germe, descoloração, alterações nutricionais, perda de matéria seca e os primeiros estágios da deterioração microbiológica (MALMANN et. al. 1994).

Existem pesquisas que demonstram que os fungos podem contaminar cereais desde o plantio, como a de Dilkin et. al. (2000), que identificaram a microbiota fúngica em híbridos de milho recém colhidos e a de Conková et. al. (2006), que pesquisaram fungos e micotoxinas em trigo antes do armazenamento, sendo que ambos estudos observaram contaminação fúngica por *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*.

Seguindo um guia da Embrapa (2015) que demonstra como principal objetivo o controle da proliferação de fungos em grãos armazenados e evitar a contaminação destes com os produtos da atividade metabólica daqueles. Para isto, é necessário que a armazenagem seja precedida de cuidados durante os processos. Pode-se utilizar as seguintes recomendações:

- Realizar a colheita tão logo seja atingido o teor de umidade recomendado para tal;
- Manter limpos e desinfetados os equipamentos de colheita, os silos e graneleiros;

- Os equipamentos mecânicos de colheita devem estar regulados de forma a manter a limpeza e evitar danos aos grãos;
- Remover impurezas, grãos danificados, finos e materiais estranhos, pois estes podem se constituir como forma de proliferação de fungos;
- Proceder de forma correta as operações de pré-limpeza e limpeza;
- As operações de secagem devem garantir a redução do teor de umidade e a uniformidade destas, a níveis que impeçam o desenvolvimento de patógenos;
- Monitorar a temperatura;
- Aerar a massa de grãos, sempre que possível, com objetivo de uniformizar a temperatura;
- Evitar a proliferação de insetos e roedores, já que os danos causados por estes proporcionam ambiente para o desenvolvimento de fungos.

Utilizando desse guia da Embrapa (2015) que são medidas simples, consegue-se evitar transtornos e perda de qualidade dos grãos produzidos e da reputação das entidades responsáveis pelo armazenamento.

4 MATERIAL E METÓDOS

Foram selecionadas dez amostras de semente de linhaça da variedade marrom, as quais foram coletadas em três mercados e quatro lojas de produtos naturais na cidade de Campo Mourão/PR, sendo cinco amostras de marcas embaladas industrialmente e as demais estava á granel e foi embaladas em pacotes de plástico. Todas as amostras estavam armazenadas em temperatura ambiente e dentro do prazo de validade.

As amostras foram analisadas nos laboratórios de Engenharia e Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão-PR, Brasil.

Para a realização dos ensaios foram utilizados os seguintes equipamentos: microscópio luminoso, autoclave vertical de chão com capacidade de 18 litros, balança analítica, laminas e lamínulas, béqueres, espátulas, bico de bunsen, papel filme, tela de amianto, pinça, bastão de vidro, placa de petri, papel Kraft, tesoura, fitas, pincéis para marcação, estufa e câmara de fluxo laminar, presentes no laboratório de microbiologia da UTFPR- Campus Campo Mourão.

O meio de cultura utilizado foi o agar Dichloran Medium Base Rose Bengal (DRBC). O meio de cultura DRBC foi preparado adicionando-se a quantidade necessária do meio em pó em água destilada, conforme instruções do fabricante e dissolvido por aquecimento sob agitação. Em seguida, o meio foi esterilizado em autoclave e vertido em placas de Petri estéreis.

Os ensaios foram conduzidos em duas etapas, onde na primeira as sementes foram inoculadas sem desinfecção de superfície e na segunda com desinfecção de superfície (Figura 1). Nesta, as sementes foram previamente tratadas em solução de hipoclorito de sódio a 0,4% por dois minutos e enxaguadas em água destilada estéril.

Para cada etapa, foram transferidas assepticamente 100 sementes de cada amostra para placas de Petri com meio DRBC (Figura 2). A avaliação foram realizada em triplicata. As placas foram incubadas a 25°C por cinco dias.

Foi feita a determinação da porcentagem fúngica das sementes de linhaça segundo o método descrito por Samson et. al. 2010. Foi realizado o plaqueamento direto das sementes no meio de cultura DRBC. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes com crescimento fúngico. A análise estatística foram realizados pelo teste T-Student.

Os gêneros dos fungos foram diferenciados pela verificação das características morfológicas e microscópicas das colônias (Figuras 3), segundo técnica descrita por Pitt e Hocking (2009), utilizando-se microscópio luminoso com aumento de 100 e 400 vezes. Os ensaios foram realizados em triplicata.

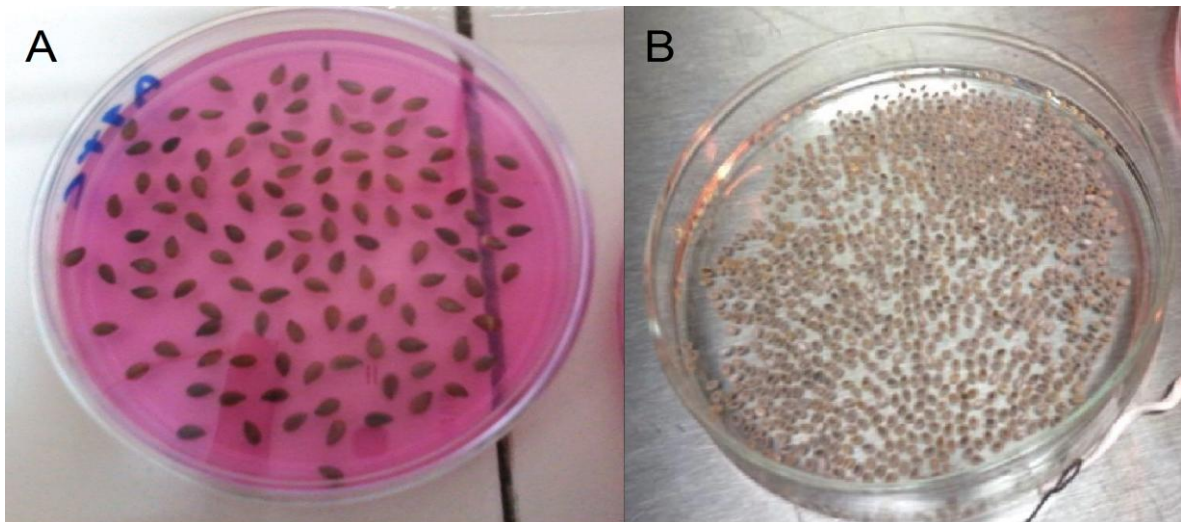


Figura 1 - Plaqueamento das amostras de sementes de linhaça sem desinfecção de superfície (A), amostras de sementes de linhaça em hipoclorito de sódio (B).



Figura 2 – Plaqueamento das sementes.



Figura 3 – Preparação das laminas e lamínulas e verificação das características morfológicas dos fungos através de microscópio óptico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Houve crescimento fúngico nas dez amostras de linhaça analisadas. Observou-se que, das amostras não sanitizadas, três apresentaram 100% de contaminação (amostras 6, 7 e 9), e nas demais amostras o crescimento fúngico foi menor. Porém, não houve diferença pela análise estatística para a mesma amostra.

Como esperado, houve redução de contaminação nas amostras com superfície desinfetadas em relação às demais, demonstrando o efeito inibitório do hipoclorito de sódio sobre a viabilidade dos esporos fúngicos (Tabela 1).

Tabela 1 – Porcentagem de inibição e contaminação fúngica em amostras de sementes de linhaça marrom sanitizadas e não sanitizadas com hipoclorito de sódio a 0,4%. ^{a, b} Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,10$) entre colunas, pelo teste t-Student.

Amostras	Não tratadas	Tratadas	% de inibição
1	84 ^a	57 ^b	27
2	75 ^b	93 ^a	18
3	69 ^a	38 ^b	31
4	90 ^a	59 ^b	31
5	89 ^a	97 ^a	8
6	100 ^a	93 ^a	7
7	100 ^a	77 ^b	23
8	47 ^b	32 ^b	15
9	100 ^a	100 ^a	0
10	97 ^a	90 ^a	7

Nas amostras 2, 5 e 9 predominou o crescimento do fungo *Rhizopus* predominou, onde o seu micélio cresceu por toda a placa e invadiu outras colônias fúngicas, onde apenas na amostra 9 se manteve esse crescimento com o tratamento, enquanto que nas amostras 2 e 5 tratadas, teve um aumento da

porcentagem do mesmo, mostrando desta forma uma resistência deste gênero ao tratamento pelo hipoclorito de sódio.

Na amostra 8 obteve o menor porcentagem de contaminação sem o tratamento e seguindo por uma diminuição com o tratamento, sendo na maioria tendo uma redução com o tratamento.

Nas amostras analisadas que não passaram por desinfecção de superfície, três apresentaram 100% de contaminação, enquanto que as demais tiveram uma taxa de inibição que variou entre 7 e 31 %, como pode ser observado na Tabela 1. A média de inibição entre as amostra sanitizadas e não sanitizadas foi de 16,7 %.

De modo geral observa-se que houve diferença entra as sementes tratadas e não tratadas, mostrando eficiência na inibição com hipoclorito de sódio. Sendo visível a olho nu, o efeito inibitório do hipoclorito de sódio quando em solução aquosa ocorre pela liberação do ácido hipocloroso em sua forma não dissociada, que apresenta capacidade de penetrar na célula microbiana, destruindo-a (DOMINGUES 2010). A Figura 6 vem demonstrando a comparação entre três amostras aleatórias não tratadas com as tratadas pelo hipoclorito de sódio.

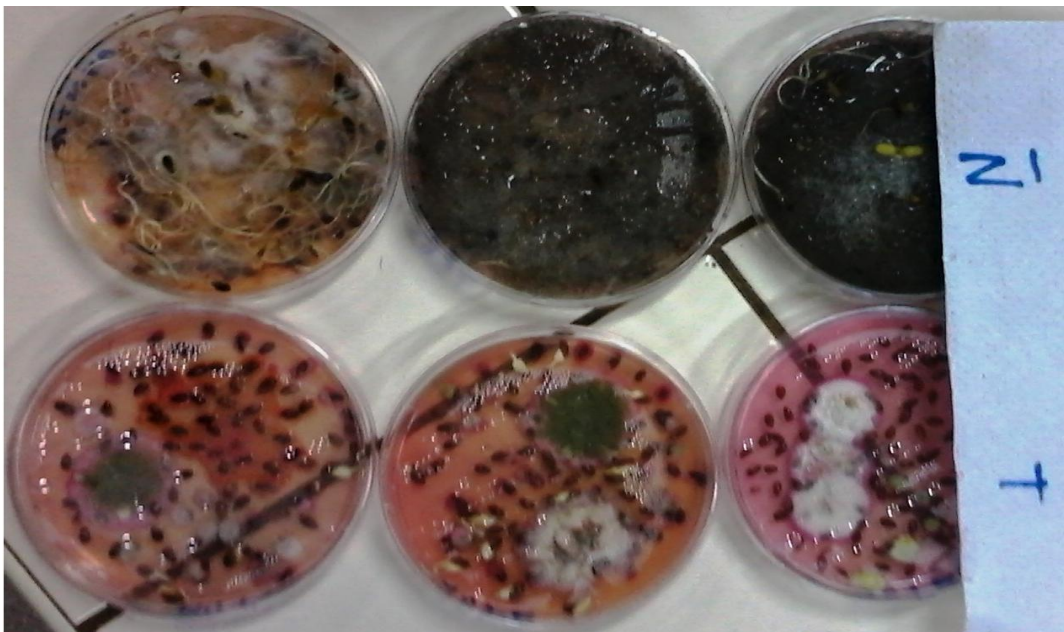


Figura 4 Comparação de sementes sanitizadas com hipoclorito de sódio.

Quanto à identificação dos gêneros contaminantes as amostras, foi identificados 6 diferentes gêneros de fungos, com presença predominante de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Rhizopus* e *Mucor* e em menor proporção de fungos dos gêneros *Penicillium*, *Alternaria* e *Cladosporium*, sendo dois deles *Penicillium* e *Aspergillus*, os quais dependendo da espécie, podem produzir micotoxinas.

. Resultados semelhantes foram encontrados por Silva e Junior (2009) onde uma elevada porcentagem de fungos em sementes de quinoa, foi observada, sendo o gênero *Aspergillus* o mais detectado. Em pesquisa realizada por Vecchia et. al. (2007), foi verificado que em amostras de granola adquiridas em Porto Alegre, houve desenvolvimento de fungos de vários gêneros, entre os quais *Mucor*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Aspergillus* e *Penicillium* se destacaram.

Como pode ser observado na Figura 5 o fungo do gênero *Rhizopus* com 0,9120%, predominou sobre os outros fungos. *Rhizopus* é um sapróbio que depende de matéria orgânica em decomposição para se desenvolver e apesar de ser um habitante de solo, pode ocorrer também em frutos, alimentos e outros materiais em decomposição. É um gênero que causa podridão em frutos nas fases de pós-colheita, durante o armazenamento, transporte e comercialização (PINHEIRO, 2004). Grigoletto (2012), afirma que *Rhizopus* é um dos principais fungos de armazenamento e está associado ao processo de deterioração dos grãos.

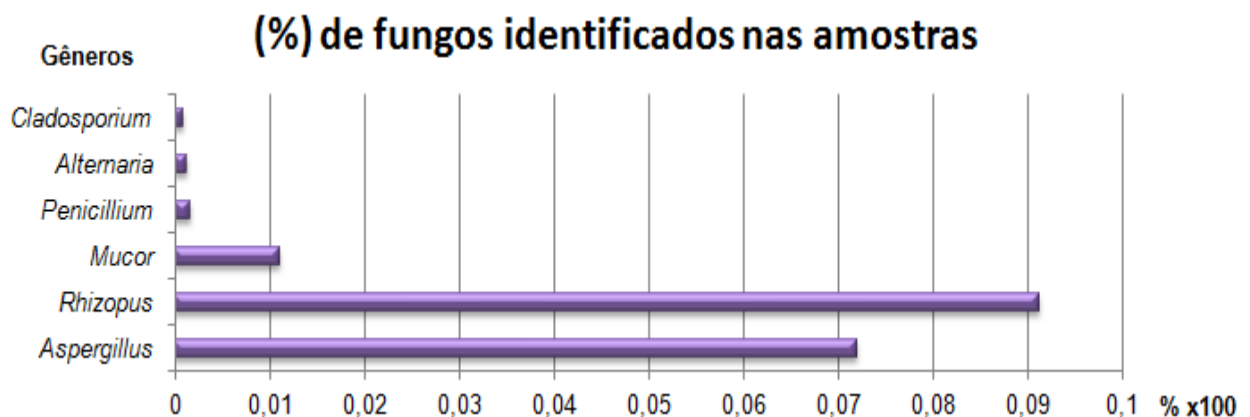


Figura 5 - Presença relativa de gêneros de fungos encontrados em 10 amostras de sementes de linhaça.

Vários pesquisadores destacaram os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus* como os principais fungos de armazenamento, como nos estudos de Ito et. al. (1992) e Fessel e Barreto (2000) em sementes de amendoim, de Lima et. al. (2000) em sementes de algodão e Berjak (1987) em sementes soja e de Phipps (1984) em sementes de amendoim. Esses gêneros destacam-se pela ação sobre as sementes, prejudicando a germinação e pode infectar raízes, ramos e vagens (SOARES 1996)

Segundo Marcia e Lazzari (1998), a presença de vários fungos, dentre eles *Mucor* e *Rhizopus*, foram identificados em monitoramento de contaminação em grãos de milho, grits e fubá. Segundo o autor, estes gêneros são normalmente

encontrados em solos, vegetais, frutos e grãos armazenados, e são considerados contaminantes comuns dos locais onde os produtos armazenados são processados.

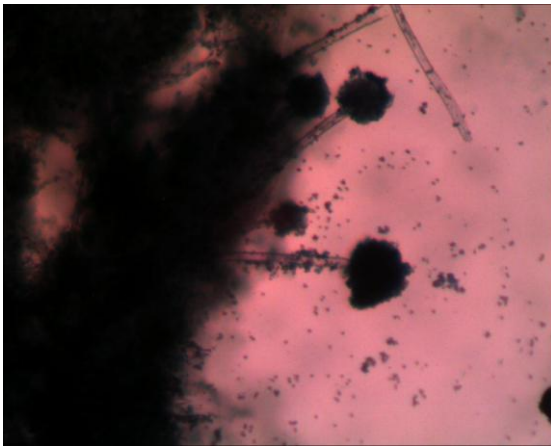


Figura 6 - Gênero *Rhizopus* (aumento de 400 X em microscópio luminoso)

O gênero *Mucor* teve um aparecimento de 0,0111% nas amostras de linhaça (Figura 5), é um gênero que possui cerca de 50 espécies reconhecidas, muitas das quais têm ocorrência generalizada e são de considerável importância econômica. No entanto, apenas algumas espécies termotolerantes são de importância médica e infecções em seres humanos raramente são relatadas (PEZZINI et. al. 2005).

Ainda não são conhecidas toxinas produzidas por fungos do gênero *Mucor*, entretanto este produz enzimas proteolíticas que são utilizadas na produção de queijo. Este fungo possui rápido crescimento, o que pode até inibir o desenvolvimento de outros fungos presentes no meio. Por outro lado, o gênero *Mucor* ganha destaque na biotecnologia sendo responsável pela produção de várias enzimas como: amilase, lipase, pectinase e protease (PINHEIRO, 2004).

Marcia e Lazzari (1998) mostram que o grupo de maior contaminação em grãos armazenados e subprodutos alimentícios constituem-se de espécies de *Aspergillus*, indicando uma concordância com os resultados obtidos neste trabalho, onde foi constatada a presença deste fungo na maioria das amostras com 0,0731% como pode ser visto na Figura 5.

Segundo Reis (2009) o gênero *Aspergillus* (Figura 7) é considerado iniciador da deterioração das sementes, dependendo às vezes de alguns fatores, como pequenas aberturas nas superfícies das sementes causadas por algumas espécies de insetos e choques mecânicos resultados de práticas agrícolas durante a colheita, transporte e armazenamento. Esses fatores somados as condições de umidade e

temperatura promovem uma porta de entrada e um ambiente favorável para o desenvolvimento e o crescimento do propágulo.

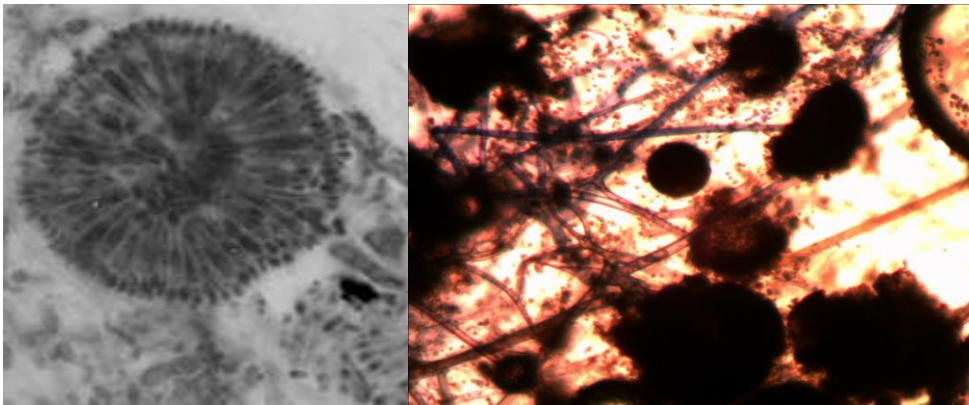


Figura 7 - Gênero de *Aspergillus*

Os resultados encontrados semelhantes encontrados por Rodrigues et. al. (2003), ao relacionar castanhas industrializadas e castanhas artesanalmente processadas, constataram que o gênero *Aspergillus* foi o mais prevalente, enfatizando a elevada contaminação fúngica e ressaltando que espécies desses fungos filamentosos podem produzir micotoxinas.

Fungo do gênero *Aspergillus* é importante produtor de aflatoxinas, sendo sua descoberta descrita em 1960, devido a um surto com alta letalidade em perus na Inglaterra (SANTURIO, 2000). Pequenas quantidades desta micotoxina são suficientes para causar atividade tóxica e aguda em vários animais, inclusive provocando danos hepáticos e hemorragias no trato gastrointestinal humano (FRANCO, 2002).

Aproximadamente 35% dos casos de câncer em humanos estão relacionados diretamente a dietas contaminadas por aflatoxinas, ocorrendo principalmente em países tropicais, sendo do câncer hepático. A redução da exposição da população a aflatoxinas e a diminuição dos riscos à saúde serão possíveis com um constante trabalho da vigilância sanitária, junto aos produtores de alimentos (CALDAS e SILVA, 2002).

As micotoxinas mais conhecidas são as aflatoxinas, ocratoxinas, zearolenona e toxinas de alternaria (alternariol, altenariol monometil éter, altenuéne (PITT; HOCKING, 2009). Porém existem mais de 100 espécies fúngicas micotoxigênicas, que podem produzir mais de 400 diferentes tipos de micotoxinas, sendo que dessas, mais de 250 já tiveram sua estrutura química definida. Os principais fungos produtores pertencem aos gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizoctonia* e

Stachybotrys, dentre eles destacam-se os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, que são considerados os de maior importância para alimentos, por serem os mais encontrados (PEREIRA, 2005).

O gênero *Cladosporium* também foi identificado nas amostras, com porcentagem de 0,0009% (Figura 5). Segundo Testing Laboratory for Mold (2016), este gênero é um frequente causador de alergias em humanos, sendo elas do Tipo I ou alergias comuns (febre do feno, asma) e Tipo III (pneumonite por hipersensibilidade). A presença do gênero *Cladosporium*, na semente não significa que a infecção ocorrerá, uma vez que as alterações podem ocorrer durante o armazenamento, o qual tem de sua baixa incidência. Estes podem ter seus esporos fúngicos presente no solo erva daninha ou capins, e são transportados pelo ar atingindo os grãos ainda no campo (BONIFÁCIO, et al. 2015; GAMBALE, 1998).

As espécies de *Cladosporium* ocorrem em inúmeras espécies vegetais, especialmente nas sementes. Além da perda de vigor, são passíveis de causar manchas, resultando em aspecto indesejável, e provocam a depreciação dos lotes. Este fungo tem sido relatado como agente patogênico, em diversas culturas, como maracujá (FISCHER et. al. 2005), tomate (SOARES, 1996) e mamão (SILVA, 2010).

A presença do gênero *Alternaria* que causa mancha nas sementes, encontrada em frutos secos e maduros, foi encontrada 0,0013% (Figura 5) nas amostras de linhaça. Este gênero pode produzir grandes prejuízos, pelo fato de causar infecções em sementes e ser por elas transmitido, além disto, este fungo causa redução na germinação, manchas foliares e queda prematura de folhas (FISCHER et. al. 2005).

O gênero *Penicillium* teve um aparecimento pequeno sendo de 0,0016% (Figura 5) nas amostras de linhaça, é disperso facilmente no ambiente e é responsável pelo comprometimento da saúde de humanos e animais, sendo o causador de severas micotoxinas, alergias e contaminações do ar (SAMSON; FRISVAD, 2004). Resultado parecido foi encontrado por Bonifácio, et. al. (2015), ao analisarem as amostras de amendoim comercializadas a granel, verificaram que o gênero *Penicillium* esteve presente em pequena quantidade das amostras.

Segundo Pinheiro (2004), *Penicillium* é conhecido como bolor verde ou azul. É um gênero considerado de extrema importância no que se refere à contaminação alimentar, sendo amplamente distribuídos no mundo todo, presentes no solo, ar, e vegetação em deterioração. Algumas espécies são produtoras de micotoxinas,

dentre elas a ocratoxina A, suspeita por causar câncer no trato urinário e danos aos rins na população do leste europeu (PITT; HOCKING, 2009).

Rupollo (2004) afirma que o gênero *Penicillium* está presente geralmente em produtos armazenados, sendo produtor de patulina, encontrada frequentemente em frutas e cereais. Estudos apontam que esta toxina provoca efeitos neurotóxicos, imunológicos e alterações gastrointestinais em animais (MEZZARI, et. al. 2002).

O desenvolvimento do *Penicillium* ocorre durante o período de armazenamento devido às condições dos lotes de sementes e condições ambientais, principalmente o seu estado físico, grau de umidade, além do inóculo inicial. (ATAYDE, 2009).

No geral observa-se que os gêneros encontrados precisam das condições favoráveis de umidade e temperatura para o seu desenvolvimento, podendo ser atribuído aos fatores de desenvolvimento de condições ideais nas diversas etapas de obtenção do produto, além da prática de comercialização à granel em mercados públicos, o que implica na vulnerabilidade e exposição dos alimentos às condições ambientais, sujidades e manipulação direta através das mãos dos consumidores. (SOARES 1996)

Com isto, constatou-se que é necessário melhorar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de linhaça, por meio do tratamento de sementes e do controle das condições ambientais durante o armazenamento, do aperfeiçoamento do processo de beneficiamento, seguindo o programa de manejo integrado de pragas tanto nos campos de produção como no ambiente de armazenamento, cujas injúrias favorecem a infecção por fungos.

Conseqüentemente estas informações podem ser utilizadas de alerta para o consumidor que faz a utilização de sementes de linhaça em sua alimentação, principalmente quando consumidas in natura. Estudos posteriores podem ser realizados com os gêneros isolados nessas amostras para verificar se são produtores de micotoxinas. Como a linhaça é um alimento frequentemente consumido pela população, torna-se necessária a realização de controle de qualidade microbiológico em toda a produção desse alimento.

6 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que, todas as amostras analisadas de sementes de linhaça apresentaram contaminação fúngica. As amostras que não passaram por desinfecção de superfície apresentam porcentagem de contaminação fúngica maior em relação àquelas que passaram por tratamento com sanitizante. Foi identificada a presença dos gêneros *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Aspergillus*, onde alguns gêneros como *Alternaria*, *Penicillium* e *Aspergillus*, possuem espécies potencialmente toxigênicas por meio da produção de micotoxinas que podem causar danos à saúde dos consumidores. Os gêneros *Aspergillus*, *Rhizopus* e *Mucor* foram os predominantes. Com tudo foram alcançados os objetivos esperados da avaliação da porcentagem de contaminação fúngica de linhaça marrom comercializada no município de Campo Mourão/PR, juntamente foram obtidos a diferenciação dos gêneros predominantes de fungos contaminantes e por meio das análises dos dados estatísticos foi determinado a porcentagem fúngica da linhaça com e sem desinfecção de superfície.

7 REFERÊNCIAS

AMADO, M. A. **Métodos Imunológicos na Detecção e Determinação de Aflatoxinas em Alimentos.** Disponível em: <http://www.ipv.pt/millennium/Millennium26/26_21.htm>. Acesso em: nov. 2015.

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.

BENTO, L. F.; CANEPPELE, M. A.B.; ALBUQUERQUE, M.C.F.; KOBAYASTI, L.; CANEPPELE, C.; ANDRADE, P.J.; Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. **Revista Instituto Adolfo Lutz.** São Paulo, 2012.

BERJAK, P. Stored seeds: the problems caused by microorganisms. **in: advanced international course on seed pathology**, Passo Fundo, p. 93-112, 1987.

BOMBO, A. J. **Obtenção e caracterização nutricional de snacks de milho (Zeamays L.) e linhaça (Linum usitatissimum L.).** Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BONIFACIO, T. Z.; MARTINELLI, T. C. A.; MARMITT, B. G.; ROMÃO, F. N.; SOBRAL, F. O. S. Avaliação da contaminação fúngica em amendoim comercializado a granel no município de Ji-Paraná/RO. **South American Journal of. Basic Education Technical and Technological.** Ji-Paraná, v.2, n. 1, p.17-29, 2015.

BOURGEOIS, C. M.; MESCLE, J. F.; ZUCCA, J. **Microbiología Alimentaria: Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria.** 1. ed. Zaragoza: Editorial ACRIBIA, S.A, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 1999. Disponível: <<http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=109&word=alimentosfuncionais>>. Acesso em: 7 abril 2016.

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

CAMPOS, V. M. C. **Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. SBRT – Serviço Brasileiro de Resposta**. Produção e beneficiamento de sementes de linhaça. Minas Gerais, 2010 .Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br> >. Acesso em: 15 maio 2016.

CARRARA, C. L., ESTEVES A. P., GOMES, R. T., GUERRA, L. L. Uso da semente de linhaça como nutracêutico para prevenção e tratamento da arterosclerose. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v.4, 1- 9, 2009.

CHINELATE, GERLA CASTELLO BRANCO. **Gelado comestível à base de leite de búfala com ingredientes funcionais: aplicação de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e quitosana**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias/ Departamento de Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2008.

CODEX ALIMENTARIUS. **About CODEX: Welcome**. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp>. Acesso em: 30 set. 2015.

COLPO, E.; FRIEDRICH, L.; ROSA, C.S.; OLIVEIRA, V.R. Benefícios do uso da semente de linhaça. **Revista Nutrição em Pauta**. p.25-28, 2006.

CONKOVÁ E, LACIANKOVA A, STIRIAK I, CZERWIECKI L, WILCZINSKA, G. Fungal contaminations and the levels of micotoxins (DON and OTA) in cereal sample from Poland and East Slovakia. **Czech J Food Sci**. p.15-25, 2006.

CUI , et al . **Linhaça: um alimento funcional para o século 21** . Canad Chem News50 p.19.1998

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

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 3, p. 427-452, 1973.

DILKIN P, MALLMANN AC, SANTUARIO JM, HICKMANN JL. Classificação macroscópica, identificação da microbiota fúngica e produção de aflatoxinas em híbridos de milho. **Revista Ciência Rural**. v.120, p.18-19, 2000.

DOMINGUES, F. P.; **Departamento de higiene veterinária e saúde pública FMVZ-UNESP- HIGIENE ZOOTÉCNICA – Botucatu**, 2010.

EMBRAPA. Arvore de Conhecimento - Perigos Químicos. **Souza, J. M. L**, Rio Branco, AC, abr 2015.

FERREIRA, A. B. H. **Novo dicionário eletrônico Aurélio**, versão 5.0. Positivo Software, 2004.

FESSEL, S.A.; BARRETO, M. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de amendoim durante o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 126-130, 2000.

FISCHER, I. H.; KIMATI, H.; REZENDE, J. A. M. Doenças do maracujazeiro. In: KIMATI, H. et al. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 4. ed. p. 468-474, 2005.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**, 1. ed. São Paulo: ATHENEU, 2002

GAMBALE W. Fungos contaminantes. In: XAITZ, C., CAMPBELL, I., MARQUES, S. A. RUIZ, LR, SOUZA, V. M. **Compêndio de Micologia Médica**. São Paulo: Medsi Editora Medica e Científica Ltda., p 113-121, 1998.

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.

ITO, M.F.; BACCHI, L.M.A.; MARINGONI, A.C.; MENTEN, J.O.M. Comparação de métodos para detecção de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3, p. 262-268, 1992.

JACINTO, K. A. **Efeito do consumo de farinha de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) no crescimento de ratos wistar e sua relação com a digestibilidade de globulinas e fatores antinutricionais protéicos nas albuminas.** Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, p.17-19, 2007

KAWASHUMA, LUCIANE M, SOARES, LUCIA M. Incidência de fumonisina B1, aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, ocratoxina Ae zearalenona em produtos de milho. **Ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, 2006

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações.** Curitiba, 1997.

LEE, H.P.; GOURLEY, L.; DUFFY, S.W.; ESTÉVE, J.; LEE, J.; DAY, N.E. Dietary effects on breast cancer risk in Singapore. **The Lancet**. v.337, p.1197-1200, 1991.

LIMA, I. P. M.; PORTELLA, J. A.; ARIAS, G. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **In: Comunicado Técnico Embrapa Trigo nº 56**, Passo Fundo, 2000.

MALMANN CA, SANTURIO JM, WENTZ I. Aflatoxinas – Aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. **Revista Ciência Rural**. 1994.

MARCIA, B. A.; LAZZARI, F. A. Monitoramento de Fungos em milho em grão, grits e fubá. **Ciência Tecnologia Alimento**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 363-367, 1998.

MARQUES, A. C. **Propriedades funcionais da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) em diferentes condições de preparo e de uso em alimentos 2008.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, RS, p.17-20, 2008.

MEZZARI, A. et al. Fungos anemófilos na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 44, p. 269-272, 2002.

MOURA, C.M. **Características físico-químicas, nutricionais e sensoriais de pão de forma com adição de grão de linhaça.** Tese de Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos. São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

OOMAH, B.D; DER, T.J; GODFREY, D.V. Características térmicas de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) proteínas. **Food Chemistry**, Viçosa – MG, 2006.

OOMAH, B.D. & MAZZA, G. **Produtos de linhaça para a prevenção da doença. Alimentos Funcionais**. Bioquímica em : Aspectos Processamento. Cap.4, São Paulo, 1999.

PELUQUE, ERIKA. **Isolamento, Identificação molecular e potencial toxigênico de fungos e ocorrência de micotoxinas em misturas de cereais denominadas "ração humana" comercializadas no Brasil**. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

PEREIRA, M. M. G. Aflatoxinas em alimentos destinados a bovinos e em amostras de leite da região de Lavras, **Ciência. Agrotec.**, Minas Gerais – Brasil, 2005.

PEZZINI, V.; VALDUGA, E.; CANSIANI, L. R. **Incidência de fungos e micotoxinas em grãos de milho armazenados sob diferentes condições**. RIALA 6/1022, 2005.

PHIPPS, P.M. **Soybean and peanut seed treatment: new developments and needs**. **Plant Disease**, Saint. Paul, v. 68, n. 1, p. 76-77, 1984.

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

PINTO FST; SENAI/RS. SBRT – **Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas: Produção de farinha. 2007**. Disponível em: < <http://www.sbrt.ibict.br> >. Acesso em 20 março 2016.

PITT, J I, HOCKING A, D. **Fungi and Food Spoilage**. 3 ed. Springer. Dordrecht. 2009.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2.ed. Brasília: AGIPLAN, 1985.

PRADO, G.; MATTOS, S. V. M.; PEREIRA, E. C. Efeito da umidade relativa na contaminação microbiana e produção de aflatoxinas em amendoim em grão.

Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 11, n. 2, p. 264-273, 1991.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN S.A., 2001.

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.

RODRIGUES K. L., GOMES J. P., CONCEIÇÃO R.C.S., BROD C.S., CARVALHAL J.B., ALEIXO J.A.G. Condições higiênico-sanitárias no Comércio Ambulante de Alimentos em Pelotas-RS. **Revista Ciência Tecnologia Alimentos**. 2003.

RODRIGUEZ, D. B.; SABINO, M. Pesquisa em micotoxinas no Brasil: a última década em foco. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, 2002.

ROSSETO, V. A. C.; SILVA, F. O., ARAUJO, S. E. A.; Influência da calagem, da época de colheita e da secagem na incidência de fungos e aflatoxinas em grãos de amendoim armazenados – **Ciencia Rural**, Santa Maria, v 35, n.2, 2015.

RUPOLLO, G. et al. Sistemas de armazenamentos hermético e convencional na conservabilidade de grãos de aveia. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria – Rio Grande do sul, 2004.

RUPOLLO, G.; GUTKOSKI, C.; MARTINS, R. L.; ELIAS, C.M.; Efeito da umidade e do período de armazenamento hermético na contaminação natural por fungos e a produção de micotoxinas em grãos de aveia. **Ciência agrotecnica**. Lavras - MG, 2006.

SÁL, D. A. C.; FURTADO, SANTOS G. R.; FURTADO G. Q.; ERASMO E. A. L., E. A. L.; NASCIMENTO, I. R. Patogenicidade e transmissibilidade de fungos associados às sementes de pinhão manso. **Revista Brasileira de Sementes Transporte**, Londrina - PR, 2011.

SAMSON, R. A.; HOUBRAKEN, J.; THRANE, U.; FRISVAD, J. C.; ANDERSEN, B. Food and Indoor Fungi. **CBS-KNAW**. Netherlands. 2010.

SAMSON, R.A; FRISVAD, J.C. **Penicillium subgenus Penicillium: new taxonomic schemes and mycotoxins and other extrolites**. Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures. p.201-241, 2004.

SANTOS, P.R.V.; OLIVEIRA, A.C.V; TOMASSINI, T.C.B. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. **Rev. Farm. Bioquim. Univ. S Paulo**. São Paulo, 1995.

SANTURIO, J.M. Micotoxinas e Micotoxicoses na Avicultura. **Revista Brasileira Ciencia Avicula**, Campinas, 2000

SGARBIERI, V.C.; PACHECO, M.T. **Alimentos Funcionais Fisiológicos**. Brazilian Journal of food technology, 1999.

SILVA LC. **Fungos e Micotoxinas em Grãos Armazenado**. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 12 jun 2000. Disponível em: <http://www.unioeste.br/agais/fungos.html>. Acesso 09 maio 2016.

SILVA, A. P.; JÚNIOR, V. L. **Ocorrência de fungos em sementes de cinco linhagens brasileiras de quinoa**. Campo Digital, Campo mourão, v.4, n.1, p.137-141,2009.

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**. São Paulo: Livraria Varela, ed. 4, p.624, 2010.

SOARES L, FURLANI R. Survey of Aflatoxins, Ocratoxins A, Zearalenone and Sterigmatocystin in health foods and breakfast cereals commercialized in city of Campinas, **Cienc Tecnol Aliment**. Sao Paulo. 1996.

TESTING LABORATORY FOR MOLD. **Cladosporium sp**. Disponível em:<<http://www.emLab.com/app/fungi/Fungi.po?event=fungi&type=primary&species=13&name=Cladosporium> >, acessado em 9 de maio de 2016.

TOMBINI, J. **Aproveitamento Tecnológico da Semente de Chia (Salvia hispanica L.) na Formulação de Barra Alimentícia**. Trabalho de Conclusão de curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Pato Branco – UTFPR, 2013

TRUCOM, C. **A importância da linhaça na saúde**. São Paulo: Alaúde, p.152, 2006.

VECCHIA, A. D.; CASTILHOS-FORTES, R. **Contaminação fúngica em granola comercial**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27 n.2 p. 324-327, 2007.

VILLELA, A. F.; MENEZES, L. N.; O potencial de armazenamento de cada semente – SEED NEWS **Revista internacional de sementes**. Pelotas – Rio Grande do Sul. 2009.